

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 573 523**

51 Int. Cl.:

C07D 401/14 (2006.01)

C07D 403/14 (2006.01)

A61P 31/12 (2006.01)

A61K 31/4025 (2006.01)

A61K 31/4178 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.08.2007 E 14168065 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.03.2016 EP 2784075**

54 Título: **Inhibidores del virus de la hepatitis C**

30 Prioridad:

11.08.2006 US 836996 P

08.08.2007 US 835462

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

08.06.2016

73 Titular/es:

**BRISTOL-MYERS SQUIBB HOLDINGS IRELAND
(100.0%)**

**Hinterbergstrasse 16
6312 Steinhausen, CH**

72 Inventor/es:

**BACHAND, CAROL;
BELEMA, MAKONEN;
DEON, DANIEL H.;
GOOD, ANDREW C.;
GOODRICH, JASON;
JAMES, CLINT A.;
LAVOIE, RICO;
LOPEZ, OMAR D.;
MARTEL, ALAIN;
MEANWELL, NICHOLAS A.;
NGUYEN, VAN N.;
ROMINE, JEFFREY LEE;
RUEDIGER, EDWARD H.;
SNYDER, LAWRENCE B.;
ST. LAURENT, DENIS R.;
YANG, FUKANG;
LANGLEY, DAVID R.;
WANG, GAN y
HAMANN, LAWRENCE G.**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 573 523 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 del virus de la hepatitis C

5 **Referencia cruzada con solicitudes relacionadas**

La presente solicitud reivindica el beneficio de la solicitud provisional de EE.UU. con número de serie 60/836.996 presentada el 11 de agosto de 2006.

10 La presente divulgación se refiere generalmente a un compuesto antiviral para su uso en terapia. El compuesto puede inhibir la función de la proteína NS5A codificada por el virus de la hepatitis C (VHC). El VHC es un patógeno humano principal que infecta a aproximadamente 170 millones de personas en todo el mundo, aproximadamente cinco veces el número infectado por el virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1.
15 Una fracción sustancial de estos individuos infectados por el VHC desarrolla una hepatopatía progresiva grave, incluyendo cirrosis y carcinoma hepatocelular.

Actualmente, la terapia más efectiva del VHC emplea una combinación del interferón alfa y ribavirina, que conduce a una eficacia sostenida en el 40 % de los pacientes. Recientes resultados clínicos demuestran que, como monoterapia, el interferón alfa pegilado es superior al interferón alfa sin modificar. Sin embargo, aún con los
20 regímenes terapéuticos experimentales con combinaciones del interferón alfa pegilado y ribavirina, en una fracción sustancial de los pacientes no se produce una reducción sostenida de la carga viral. Por tanto, existe una necesidad clara y prolongada de desarrollar compuestos terapéuticos que sean eficaces para el tratamiento de infección por VHC.

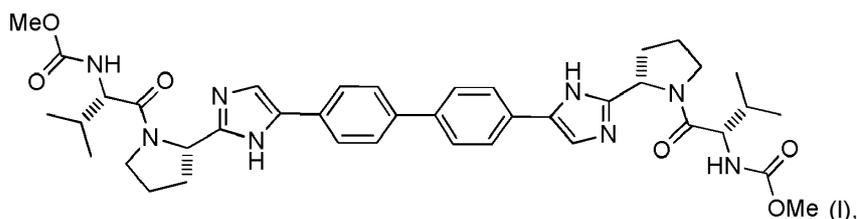
25 El VHC es un virus de ARN de cadena positiva. Basándose en una comparación de la secuencia de aminoácidos deducida y en la amplia similitud en la región 5' no traducida, el VHC se ha clasificado como un género distinto en la familia *Flaviviridae*. Todos los miembros de la familia *Flaviviridae* presentan viriones encapsulados que contienen un genoma de ARN de cadena positiva que codifica todas las proteínas conocidas específicas del virus por medio de la traducción de un único marco de lectura abierta, no interrumpido.
30

Dentro de la secuencia de nucleótidos y de aminoácidos codificada a través del genoma del VHC se encuentra una heterogeneidad considerable. Al menos se han caracterizado seis genotipos principales y se han descrito más de 50 subtipos. Los genotipos principales del VHC difieren en su distribución a nivel mundial y la importancia clínica en la heterogeneidad genética del VHC sigue siendo esquivada a pesar de los numerosos estudios existentes sobre el
35 posible efecto de los genotipos en la patogenia y la terapia.

El genoma del ARN monocatenario del VHC tiene una longitud de aproximadamente 9.500 nucleótidos y tiene un solo marco de lectura abierta (ORF, *Open Reading Frame*) que codifica una sola poliproteína grande de aproximadamente 3.000 aminoácidos. En las células infectadas, esta poliproteína se escinde en múltiples sitios mediante proteasas celulares y virales, para producir las proteínas estructurales y no estructurales (NS). En el caso del VHC, la generación de proteínas maduras no estructurales (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, y NS5B) se efectúa por dos proteasas virales. Se cree que la primera de ellas es una metaloproteasa y que escinde la unión de NS2-NS3; la segunda es una serina proteasa contenida dentro de la región N terminal de NS3 (también denominada en el presente documento NS3 proteasa) y participa en todas las escisiones cadena abajo de NS3, tanto en posición cis, en el sitio de escisión NS3-NS4A, como en trans, para el resto de los sitios NS4A-NS4B, NS4B-NS5A, NS5A-NS5B.
45 La proteína NS4A parece realizar funciones múltiples, actuando como cofactor para la proteasa NS3 y ayudando posiblemente a la localización en la membrana de NS3 y de otros componentes virales de la replicasa. La formación del complejo de la proteína NS3 con NS4A parece ser necesaria para los acontecimientos de procesamiento, incrementando la eficiencia proteolítica en todos los sitios. La proteína NS3 también muestra actividades de nucleósido trifosfatasa y de ARN helicasa. La NS5B (también denominada en el presente documento VHC polimerasa) es una ARN polimerasa dependiente de ARN que está implicada en la replicación del VHC.
50

Se desean compuestos útiles para tratar pacientes infectados por el VHC que inhiban de forma selectiva la replicación viral del VHC. En particular, se desean compuestos que sean efectivos para inhibir la función de la proteína NS5A. La proteína NS5A del VHC se describe por ejemplo, en Tan, S.-L., Katzel, M.G. *Virology* 2001, 284, 1-12; y en Park, K.-J.; Choi, S.-H, *J. Biological Chemistry* 2003.
55

En un primer aspecto la presente divulgación proporciona un compuesto



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en terapia.

5 En una primera realización de este aspecto la sal farmacéuticamente aceptable es una sal diclorhidrato.

En otra realización de este aspecto el uso en terapia comprende además el uso de uno o dos compuestos adicionales que tiene actividad anti-VHC. En otra realización al menos uno de los compuestos adicionales es un interferón o una ribavirina. En otra realización el interferón se selecciona de interferón alfa 2B, interferón alfa pegilado, interferón consenso, interferón alfa 2A, e interferón tau linfoblastoide.

10

En otra realización de este aspecto el uso en terapia comprende además el uso de uno o dos compuestos adicionales que tienen actividad anti-VHC en la que al menos uno de los compuestos adicionales se selecciona de interleucina 2, interleucina 6, interleucina 12, un compuesto que aumenta el desarrollo de una respuesta de linfocitos T auxiliares de tipo 1, ARN de interferencia, ARN antisentido, Imiqimod, ribavirina, un inhibidor de 5'-monofosfato deshidrogenasa inosina, amantadina, y rimantadina.

15

En otra realización de este aspecto el uso en terapia comprende además el uso de uno o dos compuestos adicionales que tiene actividad anti-VHC en la que al menos uno de los compuestos adicionales es efectivo para inhibir la función de una diana seleccionada de metaloproteasa de VHC, serina proteasa de VHC, polimerasa de VHC, helicasa de VHC, proteína NS4B de VHC, entrada de VHC, ensamble de VHC, salida de VHC, proteína NS5A de VHC, e IMPDH para el tratamiento de una infección por VHC.

20

En otra realización de este aspecto el uso en terapia comprende adicionalmente administrar uno o dos compuestos adicionales que tienen actividad anti-VHC antes, después o simultáneamente con el compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

25

Otras realizaciones de la presente divulgación pueden comprender combinaciones apropiadas de dos o más de las realizaciones desveladas en el presente documento.

30

Aún otras realizaciones y aspectos de la divulgación serán aparentes de acuerdo con la descripción proporcionada a continuación.

Los compuestos de la presente divulgación también existen como tautómeros; por lo tanto la presente divulgación también abarca todas las formas tautoméricas.

35

La descripción de la presente divulgación en el presente documento deberá interpretarse conforme a las leyes y principios del enlace químico.

Se deberá entender que los compuestos abarcados por la presente divulgación son aquellos que son adecuadamente estables para uso como agente farmacéutico.

40

Todas las patentes, solicitudes de patente y referencia de bibliografía citadas en la memoria descriptiva se incorporan en el presente documento por referencia en su totalidad. En el caso de inconsistencias, la presente divulgación, incluyendo las definiciones, se revisaran.

45

Como se usa en la presente memoria descriptiva, los siguientes términos tienen los significados indicados:

Como se usa en la presente memoria, las formas en singular "un", "uno/una" y "el/la" incluye referencias en plural a menos que el contexto dictamine claramente lo contrario.

50

A menos que se establezca de otra manera, todos los grupos arilo, cicloalquilo y heterociclilo de la presente divulgación pueden sustituirse como se describe en cada una de sus definiciones respectivas. Por ejemplo, la parte arilo de un grupo arilalquilo puede sustituirse como se describe en la definición del término 'arilo'.

55

En los compuestos de la presente divulgación existen centros asimétricos. Estos centros se designan por los símbolos "R" o "S", dependiendo de la configuración de los sustituyentes alrededor del átomo de carbono quiral. Deberá entenderse que la divulgación abarca todas las formas isoméricas estereoquímicas, o mezclas de las mismas, que poseen la capacidad de inhibir la proteína NS5A. Los estereoisómeros individuales de los compuestos

pueden prepararse sintéticamente a partir de materiales de partida disponibles en el comercio, que contienen centros quirales o por la preparación de mezclas de productos enantioméricos seguido de separación, tal como la conversión de una mezcla de diaestereómeros seguido de separación o recristalización, técnicas cromatográficas, o separación directa de enantiómeros en columnas cromatográficas quirales. Los compuestos de partida de la estereoquímica particular están disponibles en el comercio o fabricarse hacer y resolverse por técnicas conocidas en el materia

Ciertos compuestos de la presente divulgación también pueden existir en diferentes formas conformacionales estables que pueden separarse. La asimetría torsional debido a la rotación restringida alrededor de un enlace sencillo asimétrico, por ejemplo debido al impedimento estérico o a la cadena del anillo, puede permitir la separación de conformadores diferentes. La presente divulgación incluye cada isómero conformacional de estos compuestos y mezclas de los mismos.

La expresión "compuestos de la presente divulgación", y expresiones equivalentes, significa que abarca compuestos de Fórmula (I), y enantiómeros, diaestereómeros y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. De un modo similar, las referencias a productos intermedios significan que abarcan sus sales donde el contexto así lo permita.

Los compuestos de la presente divulgación pueden existir como sales farmacéuticamente aceptables. La expresión "sal farmacéuticamente aceptable", como se usa en la presente memoria, representa sales o formas zwitteriónicas de los compuestos de la presente divulgación que son solubles o dispersables en agua o aceite, que son, dentro del alcance del buen criterio médico, apropiadas para su uso en contacto con los tejidos de los pacientes sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, u otro problema o complicación acorde con una relación de beneficio/riesgo razonable, y son efectivos para su uso al cual están destinados. Las sales pueden prepararse durante el aislamiento y la purificación final de los compuestos o individualmente haciendo reaccionar un átomo de nitrógeno apropiado con un ácido apropiado. Las sales de adición de ácidos representativas incluyen acetato, adipato, alginato, citrato, aspartato, benzoato, bencensulfonato, bisulfato, butirato, camforato, camforsulfonato; digluconato, dibromhidrato, diclorhidrato, diyodhidrato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, formato, fumarato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietansulfonato, lactato, maleato, mesitilensulfonato, metansulfonato, naftilensulfonato, nicotinato, 2-naftalensulfonato, oxalato, palmoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, picrato, pivalato, propionato, succinato, tartrato, tricloroacetato, trifluoroacetato, fosfato, glutamato, bicarbonato, para-toluensulfonato, y undecanoato. Ejemplos de ácidos que pueden emplearse para formar sales de adición farmacéuticamente aceptables incluyen ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, y fosfórico, y ácidos orgánicos tales como oxálico, maleico, succínico y cítrico.

Las sales de adición de bases pueden prepararse durante el aislamiento y la purificación final de los compuestos o individualmente haciendo reaccionar un grupo carboxi con una base apropiada tal como el hidróxido, carbonato, o bicarbonato de un catión de metal o con amoniaco o una amina primaria, secundaria, o terciaria orgánica. Los cationes de sales farmacéuticamente aceptables incluyen litio, sodio, potasio, calcio, magnesio, y aluminio, así como cationes de amina cuaternaria no tóxica tales como amonio, tetrametilamonio, tetraetilamonio, metilamina, dimetilamina, trimetilamina, trietilamina, dietilamina, etilamina, tributilamina, piridina, N,N-dimetilanilina, N-metilpiperidina, N-metilmorfolina, dicitohexilamina, procaina, dibencilamina, N,N-dibencilfenetilamina, y N,N'-dibenciletildiamina. Otras aminas orgánicas representativas útiles para la formación de sales de adición de bases incluyen etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperidina y piperazina.

Cuando es posible que, para su uso en terapia, puedan administrarse cantidades terapéuticamente efectivas de un compuesto de fórmula (I), así como sus sales farmacéuticamente aceptables, como producto químico sin procesar, es posible que presente el principio activo como una composición farmacéutica. Dichas composiciones farmacéuticas incluyen cantidades terapéuticamente efectivas del compuesto de fórmula (I) o sus sales farmacéuticamente aceptables, y uno o más vehículos, diluyentes, o excipientes farmacéuticamente aceptables. La expresión "cantidad terapéuticamente efectiva" como se usa en la presente memoria, se refiere a la cantidad total de cada componente activo que es suficiente para mostrar un beneficio significativo en el paciente, por ejemplo, una reducción en la carga viral. Cuando se aplica a un principio activo individual, administrado solo, la expresión se refiere sólo al principio. Cuando se aplica a una combinación, la expresión se refiere a cantidades combinadas de los principios activos que producen el efecto terapéutico, ya sea administrado en combinación, sucesivamente o simultáneamente. El compuesto de fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables son como se describen anteriormente. El vehículo(s), diluyente(s) o excipiente(s) debe ser aceptable en el sentido de que sea compatible con el resto de los ingredientes de la formulación y no resulte perjudicial para su receptor. La preparación de una formulación farmacéutica incluye mezclar un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. La expresión "farmacéuticamente aceptable", como se usa en la presente memoria, se refiere a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que son, dentro del alcance del buen criterio médico, apropiados para su uso en contacto con los tejidos de los pacientes sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, u otro problema o complicación acorde con una relación razonable de beneficio/riesgo, y que son efectivos para el uso al cual están destinados.

Las formulaciones farmacéuticas pueden estar presentes en forma de dosificación unitaria que contienen una cantidad predeterminada del principio activo por dosis unitaria. Los niveles de dosificación de entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 250 miligramos por kilogramo ("mg/kg") de peso corporal por día, preferiblemente entre aproximadamente 0,05 y aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal por día de los compuestos de la presente divulgación, son típicos en una monoterapia para la prevención y el tratamiento de enfermedades mediadas por el VHC. Normalmente, las composiciones farmacéuticas de la divulgación se administrarán de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 veces al día o, como alternativa, como una infusión continua. Dicha administración puede utilizarse como una terapia intensa o crónica. La cantidad de principio activo que puede combinarse con los materiales vehículo para producir una forma de dosificación sencilla, variará dependiendo de la afección que vaya a tratarse, de la gravedad de la misma, del tiempo de administración, de la vía de administración, de la velocidad de excreción del compuesto empleado, de la duración del tratamiento y de la edad, sexo, peso y estado del paciente. Las formulaciones de dosificación unitaria preferidas son las que contienen una dosis o sub-dosis diaria, como se mencionó anteriormente, o una fracción apropiada de la misma, de un principio activo. El tratamiento puede iniciarse con pequeñas dosificaciones, sustancialmente menores que la dosis óptima del compuesto. Posteriormente, la dosificación se incrementa mediante pequeños incrementos hasta que se alcanza el efecto óptimo dependiendo de las circunstancias. En general, el compuesto se administra, más deseablemente, a un nivel de concentración que produzca resultados antivirales efectivos sin causar ningún efecto secundario adverso o dañino.

Cuando las composiciones de la presente divulgación comprenden una combinación de un compuesto de la divulgación y uno o más agentes profilácticos o terapéuticos adicionales, tanto el compuesto como el agente adicional se presentan normalmente a niveles de dosificación de entre aproximadamente del 10 al 150 %, y más preferentemente entre aproximadamente el 10 y el 80 % de la dosificación normalmente administrada en un régimen de monoterapia.

Las formulaciones farmacéuticas pueden adaptarse para su administración mediante cualquier vía apropiada, por ejemplo, por vía oral (que incluye bucal o sublingual), rectal, nasal, tópica (que incluye bucal, sublingual o transdérmica), vaginal o parenteral (que incluye subcutánea, intercutánea, intramuscular, intra-articular, intrasinovial, intraesternal, intratecal, intralesional, intravenosa o inyecciones o infusiones intradérmicas). Dichas formulaciones pueden prepararse mediante cualquier procedimiento conocido en la técnica farmacéutica, por ejemplo, asociando el principio activo con uno o más vehículos o excipientes. Se prefiere la administración oral o por inyección.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración oral pueden presentarse como unidades distintas tales como cápsulas o comprimidos, polvos o gránulos, soluciones o suspensiones en líquidos acuosos o no acuosos, espumas o batidos comestibles, o en emulsiones líquidas de aceite en agua o emulsiones de agua en aceite.

Por ejemplo, para administración oral en forma de un comprimido o cápsula, el componente farmacológico activo puede combinarse con un vehículo inerte, no tóxico, farmacéuticamente aceptable, tal como etanol, glicerol, agua y similar. Los polvos se preparan desmenuzando el compuesto hasta un tamaño fino adecuado y mezclando con un vehículo farmacéutico desmenuzado de un modo similar, tal como un carbohidrato comestible, como por ejemplo, almidón o manitol. También puede haber un agente saborizante, conservante, dispersante y colorante.

Las cápsulas se elaboran preparando una mezcla de polvos, como se describe anteriormente, y se llenan con vainas formadas de gelatina. A la mezcla de polvos pueden añadirse emolientes y lubricantes, tales como sílice coloidal, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio o polietilenglicol sólido, antes de realizar la operación de relleno. También puede añadirse un agente disgregante o solubilizante, tal como agar-agar, carbonato de calcio, o carbonato de sodio, para mejorar la disponibilidad del medicamento cuando se ingiere la cápsula.

Por otra parte, cuando se desee o sea necesario, en la mezcla también pueden incorporarse agentes aglutinantes, lubricantes, disgregantes y colorantes adecuados. Los aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales, tales como glucosa o betalactosa, edulcorantes de maíz, gomas sintéticas y naturales tales como acacia, tragacanto, o alginato de sodio, carboximetilcelulosa, polietilenglicol y similares. Los lubricantes usados en estas formas de dosificación incluyen oleato de sodio, cloruro de sodio y similares. Los disgregantes incluyen, sin limitación, almidón, metil celulosa, agar, bentonita, goma xantana y similares. Los comprimidos se formulan, por ejemplo, preparando una mezcla de polvos, granulando o granulando en seco, añadiendo un lubricante y disgregante, y comprimiendo en comprimidos. Una mezcla de polvos se prepara mezclando el compuesto, desmenuzado adecuado, con un diluyente o una base, como se describe anteriormente, y opcionalmente con un aglutinante tal como carboximetilcelulosa, un alginato, un agente gelificante, o polivinilpirrolidona, una solución retardante, tal como una parafina, un acelerador de la reabsorción, tal como una sal cuaternaria y/o un agente de absorción, tal como bentonita, caolín o fosfato dicálcico. La mezcla de polvos puede granularse humedeciendo con un aglutinante, tal como, un jarabe, una pasta de almidón, mucílago de acacia, o soluciones de materiales poliméricos o celulósicos y pasándola a través de un tamiz. Como una alternativa a la granulación, la mezcla de polvos puede procesarse en una compresora produciendo lingotes imperfectos fragmentados en gránulos. Los gránulos pueden lubricarse para impedir la adherencia a los troqueles que forman el comprimido mediante la adición de ácido esteárico, de una sal de estearato, de talco o de aceite mineral. La mezcla lubricada se comprime después

5 en comprimidos. Los compuestos de la presente divulgación también pueden combinarse con un vehículo inerte de flujo libre y comprimirse en comprimidos directamente sin pasar por las etapas de granulación o de granulación seca. Puede proporcionarse una capa protectora opaca o transparente que consiste en una capa de sellado de goma laca, una capa de azúcar o de material polimérico y una capa de cera pulida. A estas capas pueden añadirse pigmentos para diferenciar diferentes dosificaciones unitarias.

10 Los fluidos orales, tales como una solución, un jarabe y elixires pueden prepararse en forma de dosificación unitaria, de tal manera que una cantidad dada contenga una cantidad predeterminada del compuesto. Los jarabes pueden prepararse disolviendo el compuesto en una solución acuosa saborizada adecuadamente, mientras que los elixires se preparan usando un vehículo no tóxico. También pueden añadirse solubilizantes y emulsionantes, tales como alcoholes isoestearílicos etoxilados y éteres de polioxietileno sorbitol, conservantes, aditivos de sabor, tales como edulcorantes naturales o aceite de menta, o sacarina u otros edulcorantes artificiales y similares.

15 Cuando sea apropiado, las formulaciones de dosificación unitaria para la administración oral pueden microencapsularse. La formulación también puede prepararse para prolongar o mantener la liberación, por ejemplo, recubriendo o embebiendo material particulado en polímeros, ceras o similares.

20 El compuesto de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, también pueden administrarse en forma de sistemas de suministro de liposomas, tales como vesículas unilaminares pequeñas, vesículas unilaminares grandes y vesículas multilaminares. Los liposomas pueden formarse a partir de varios fosfolípidos, tales como colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas.

25 El compuesto de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables del mismo también pueden suministrarse usando anticuerpos monoclonales como vehículos individuales a los que se acoplan las moléculas del compuesto. El compuesto también puede acoplarse con polímeros solubles como vehículos farmacológicos dirigibles. Dichos polímeros pueden incluir polivinilpirrolidona, copolímero de pirano, polihidroxipropilmetacrilamidafenol, polihidroxietilaspártamidafenol, o polietileno xidopoliisina sustituida con residuos de palitoilo. Además, el compuesto pueden acoplarse con una clase de polímeros biodegradables útiles para obtener una liberación controlada de un fármaco, por ejemplo, ácido poliláctico, poliépsilon caprolactona, ácido polihidroxibutírico, poliortoésteres, poliacetales, polidihidropiranos, policianoacrilatos y copolímeros de bloque anfipáticos o reticulados de hidrogeles.

30 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración transdérmica pueden presentarse como parches distintos que permanecen en contacto íntimo con la epidermis del receptor durante un periodo de tiempo prolongado. Por ejemplo, el principio activo puede suministrarse desde el parche por iontoforesis, como se describe en general en *Pharmaceutical Research* 1986, 3(6), 318.

35 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración tópica pueden formularse como pomadas, cremas, suspensiones, lociones, polvos, soluciones, pastas, geles, pulverizaciones, aerosoles o aceites.

40 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración rectal pueden presentarse como supositorios o como enemas.

45 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración nasal, en donde el vehículo es un sólido, incluyen un polvo grueso que tiene un tamaño de partícula, por ejemplo, en el intervalo de 20 a 500 micras, que se administra de la manera en la que se toma el rapé, es decir, mediante inhalación rápida a través de las fosas nasales desde un envase que se sujeta cerca de la nariz. Las formulaciones adecuadas en las que el vehículo es un líquido, para la administración como un pulverizador nasal o gotas nasales, incluyen soluciones acuosas u oleaginosas del principio activo.

50 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración por inhalación incluyen polvos o nebulizaciones de partículas finas que pueden generarse mediante varios tipos de aerosoles, nebulizadores o insufladores presurizados de dosis medidas.

55 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración vaginal pueden presentarse como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones pulverizadoras.

60 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración parenteral incluyen soluciones para inyección estériles acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostatos y solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor objeto de la formulación; y las suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las formulaciones pueden estar presentes en envases de dosis unitarias o de dosis múltiples, por ejemplo, ampollas y viales herméticos, y pueden conservarse en estado deshidratado por congelación (liofilizado) que solo requiere la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo, agua para inyecciones, inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y suspensiones para inyección improvisada pueden prepararse a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles.

65

Se entenderá que, además de los ingredientes mencionados anteriormente en particular, las formulaciones pueden incluir otros agentes convencionales en la materia, haciendo referencia al tipo de formulación en cuestión, por ejemplo, aquellas adecuadas para la administración oral pueden incluir agentes saborizantes.

5 El término "paciente" incluye tanto a seres humanos como a otros mamíferos.

El término "tratar" se refiere a: (i) prevenir una enfermedad, un trastorno o una afección que se presente en un paciente que puede estar predispuesto a la enfermedad, al trastorno y/o a la afección pero que aún no se ha diagnosticado que la tenga; (ii) inhibir la enfermedad, el trastorno o la afección, es decir, detener su desarrollo, y (iii) aliviar la enfermedad, el trastorno o la afección, es decir, provocar la regresión de la enfermedad, del trastorno y/o de la afección.

Los compuestos de la presente divulgación también pueden administrarse con una ciclosporina, por ejemplo, ciclosporina A. La ciclosporina A ha demostrado ser activa contra el VHC en ensayos clínicos (*Hepatology* 2003, 38, 1282; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004, 313, 42; *J. Gastroenterol.* 2003, 38, 567).

La tabla 1 siguiente enumera algunos ejemplos ilustrativos de compuestos que pueden administrarse con los compuestos de la presente divulgación. Los compuestos de la presente divulgación pueden administrarse con otros compuestos con actividad anti-VHC en terapia de combinación, ya sea conjuntamente o por separado, o combinando los compuestos en una composición.

Tabla 1

Nombre comercial	Clase fisiológica	Tipo de inhibidor o diana	Compañía de origen
NIM811		Inhibidor de Ciclofilina	Novartis
Zadaxin		Inmunomodulador	Sciclone
Suvus		Azul de metileno	Bioenvision
Actilon (CPG10101)		Agonista de TLR9	Coley
Batabulin (T67)	Anticancerígeno	Inhibidor de β -tubulina	Tularik Inc., South San Francisco, APROX
ISIS 14803	Antiviral	antisentido	ISIS Pharmaceuticals Inc, Carlsbad, APROX/Elan Pharmaceuticals Inc., New York, NY
Summetrel	Antiviral	antiviral	Endo Pharmaceuticals Holdings Inc., Chadds Ford, PA
GS-9132 (ACH-806)	Antiviral	Inhibidor del VHC	Achillion / Gilead
Compuestos y sales de pirazolopirimidina del documento WO-2005047288 del 26 de mayo de 2005	Antiviral	Inhibidores del VHC	Arrow Therapeutics Ltd.
Levovirin	Antiviral	Inhibidor del IMPDH	Ribapharm Inc., Costa Mesa, APROX
Merimepodib (VX-497)	Antiviral	Inhibidor del IMPDH	Vertex Pharmaceuticals Inc., Cambridge, MA
XTL-6865 (XTL-002)	Antiviral	anticuerpo monoclonal	XTL Biopharmaceuticals Ltd., Rehovot, Isreal
Telaprevir (VX-950, 570310)	LY- Antiviral	Inhibidor de serina proteasa NS3	Vertex Pharmaceuticals Inc., Cambridge, MA/ Eli Lilly and Co. Inc., Indianapolis, IN
VHC-796	Antiviral	Inhibidor de Replicasa NS5B	Wyeth / Viropharma
NM-283	Antiviral	Inhibidor de Replicasa NS5B	Idenix / Novartis

ES 2 573 523 T3

GL-59728	Antiviral	Inhibidor de Replicasa NS5B	Gene Labs / Novartis
GL-60667	Antiviral	Inhibidor de Replicasa NS5B	Gene Labs / Novartis
2'C MeA	Antiviral	Inhibidor de Replicasa NS5B	Gilead
PSI 6130	Antiviral	Inhibidor de Replicasa NS5B	Roche
R1626	Antiviral	Inhibidor de Replicasa NS5B	Roche
2'C Metil adenosina	Antiviral	Inhibidor de Replicasa NS5B	Merck
JTK-003	Antiviral	Inhibidor de RdRp	Japan Tobacco Inc., Tokio, Japón
Levovirin	Antiviral	ribavirina	ICN Pharmaceuticals, Costa Mesa, APROX
Ribavirina	Antiviral	ribavirina	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
Viramidine	Antiviral	Profármaco de Ribavirina	Ribapharm Inc., Costa Mesa, APROX
Heptazyme	Antiviral	ribozima	Ribozima Pharmaceuticals Inc., Boulder, CO
BILN-2061	Antiviral	Inhibidor de serina proteasa	Boehringer Ingelheim Pharma KG, Ingelheim, Alemania
SCH 503034	Antiviral	Inhibidor de serina proteasa	Schering Plough
Zadazim	Modulador inmune	Inmunomodulador	SciClone Pharmaceuticals Inc., San Mateo, APROX
Ceplene	Inmunomodulador	Inmunomodulador	Maxim Pharmaceuticals Inc., San Diego, APROX
CellCept	Inmunodepresor	Inmunosupresor IgG de VHC	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basilea, Suiza
Civacir	Inmunodepresor	Inmunodepresor IgG del VHC	Nabi Biopharmaceuticals Inc., Boca Raton, FL
Albuferon - α	Interferón	albúmina IFN- α 2b	Human Genome Sciences Inc., Rockville, MD
Infergen A	Interferón	IFN alfacon-1	InterMune Pharmaceuticals Inc., Brisbane, APROX
Omega IFN	Interferón	IFN- ω	Intarcia Therapeutics
IFN- β y EMZ701	Interferón	IFN- β y EMZ701	Transition Therapeutics Inc., Ontario, Canadá
Rebif	Interferón	IFN- β 1a	Serono, Ginebra, Suiza
Roferon A	Interferón	IFN- α 2a	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basilea, Suiza
Intron A	Interferón	IFN- α 2b	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
Intron A y Zadaxin	Interferón	IFN- α 2b/ α 1-timosina	RegeneRx Biopharmaceuticals Inc., Bethesda, MD/ SciClone Pharmaceuticals Inc, San Mateo, APROX
Rebetron	Interferón	IFN- α 2b/ribavirina	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
Actimmune	Interferón	INF- γ	InterMune Inc., Brisbane, APROX

Interferón-β	Interferón	Interferón-β-1a	Serono
Multiferon	Interferón	IFN de larga duración IFN	Viragen/Valentis
Wellferon	Interferón	IFN-α1 linfoblastoide	GlaxoSmithKline plc, Uxbridge, RU
Omniferon	Interferón	IFN-α natural	Viragen Inc., Plantation, FL
Pegasys	Interferón	IFN-α2a PEGilado	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basilea, Suiza
Pegasys y Ceplene	Interferón	IFN-α2a PEGilado/ inmunomodulador	Maxim Pharmaceuticals Inc., San Diego, APROX
Pegasys y Ribavirina	Interferón	IFN-α2a PEGilado/ ribavirina	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basilea, Suiza
PEG-Intron	Interferón	IFN-α2b PEGilado	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
PEG-Intron/ Ribavirina	Interferón	IFN-α2b PEGilado/ribavirina	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
IP-501	Protección de hígado	antifibrótico	Indevus Pharmaceuticals Inc., Lexington, MA
IDN-6556	Protección de hígado	Inhibidor de caspasa	Idun Pharmaceuticals Inc., San Diego, APROX
ITMN-191 (R-7227)	Antiviral	Inhibidor de serina proteasa	InterMune Pharmaceuticals Inc., Brisbane, APROX
GL-59728	Antiviral	Inhibidor de Replicasa NS5B	Genelabs
ANA-971	Antiviral	agonista de TLR-7	Anadys

Los compuestos de la presente divulgación también pueden usarse como reactivos de laboratorio. Los compuestos pueden ser instrumentos que proporcionen herramientas de investigación para diseñar ensayos de replicación viral, validación de sistemas de ensayo en animales y estudios de biología estructural para perfeccionar el conocimiento de los mecanismos de la enfermedad del VHC. Además, los compuestos de la presente divulgación son útiles para establecer o determinar el sitio de unión de otros compuestos antivirales, por ejemplo, por inhibición competitiva.

Los compuestos de la presente divulgación también pueden usarse para tratar o prevenir la contaminación viral de materiales y por lo tanto reducir el riesgo de infección viral del personal médico o de laboratorio, o de pacientes que están en contacto con dichos materiales, por ejemplo, sangre, tejido, instrumentos y vestimenta quirúrgicos, instrumentos y vestimenta de laboratorio, y aparatos y materiales de extracción o transfusión de sangre.

La presente divulgación pretende abarcar el compuesto que tiene la fórmula (I) cuando se prepara por procesos sintéticos o por procesos metabólicos incluyendo aquellos que se presentan en el cuerpo humano o animal (*in vivo*) o procesos que se presentan *in vitro*.

Las abreviaturas usadas en la presente solicitud, incluyendo particularmente las de los siguientes esquemas y ejemplos ilustrativos, son muy conocidas para los expertos en la técnica. Algunas de las abreviaturas que se utilizan son las siguientes: HATU para hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio; Boc o BOC para terc-butoxicarbonilo; NBS para N-bromosuccinimida; tBu o t-Bu para terc-butilo; SEM para (trimetilsilil)etoximetilo; DMSO para dimetilsulfóxido; MeOH para metanol; TFA para ácido trifluoroacético; TA para temperatura ambiente, TR o t_R para tiempo de retención; EDCI para clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida; DMAP para 4-dimetilaminopiridina; THF para tetrahidrofurano; DBU para 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno; t-Bu; DEA para dietilamina; HMDS para hexametildisilazida; DMF para N,N-dimetilformamida; Bzl para bencilo; EtOH para etanol; iPrOH o i-PrOH para isopropanol; Me₂S para dimetilsulfuro; Et₃N o TEA para trietilamina; Ph para fenilo; OAc para acetato; EtOAc para acetato de etilo; dppf para 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno; iPr₂EtN o DIPEA para diisopropiletilamina; Cbz para carbobenciloxi; n-BuLi para n-butilitio; ACN para acetonitrilo; h o hr para horas; m o min para minutos; s para segundos; LiHMDS para hexametildisilazida de litio; DIBAL para hidruro diisobutil aluminio; TBDMSCl para cloruro de terc-butildimetilsililo; Me para metilo; aprox. para aproximadamente; OAc para acetato; iPr para isopropilo; Et para etilo; Bn para bencilo; y HOAT para 1-hidroxi-7-azabenzotriazol.

Las abreviaturas usadas en la presente solicitud, incluyendo particularmente las de los siguientes esquemas y ejemplos ilustrativos, son muy conocidas para los expertos en la técnica.

Ejemplos

La presente divulgación se describirá ahora en conexión con ciertas realizaciones que no pretenden limitar su alcance. Por el contrario, la presente divulgación cubre todas las alternativas, modificaciones y equivalentes que puedan incluirse dentro del alcance de las reivindicaciones. Así, los siguientes ejemplos, que incluyen realizaciones específicas, ilustrarán una práctica de la presente divulgación, entendiéndose que los ejemplos se dan con fines ilustrativos de ciertas realizaciones y que se presentan para proporcionar lo que se cree que es la descripción más útil y fácil de entender de sus procedimientos y aspectos conceptuales.

Los porcentajes de las soluciones expresan una relación de peso con respecto a volumen y las relaciones de las soluciones expresan una relación de volumen con respecto a volumen, al menos de que se indique de otra manera. Los espectros de resonancia magnética nuclear (NMR) se registraron en cualquiera de un espectrómetro Bruker de 300, 400, o 500 MHz; los cambios químicos (δ) se dieron en partes por millón. La cromatografía instantánea se llevó a cabo en gel de sílice (SiO_2) según la técnica de cromatografía instantánea de Still (*J. Org. Chem.* 1978, 43, 2923).

El análisis de masas de baja resolución y la evaluación de la pureza se llevaron a cabo en un sistema Shimadzu LC acoplado con el sistema Waters Micromass ZQ MS. Deberá observarse que los tiempos de retención pueden variar ligeramente de un instrumento a otro. Las condiciones de la CL empleadas en la determinación del tiempo de retención (TR) fueron:

Condición 1

	Columna	= Phenomenex-Luna 3,0X 50 mm S10
	% B de Inicio	= 0
25	% B final	= 100
	Tiempo de gradiente	= 2 min
	Tiempo de detención	= 3 min
	Caudal	= 4 ml/min
	Longitud de onda	= 220 nm
30	Disolvente A	= TFA al 0,1 % en metanol al 10 % /H ₂ O al 90 %
	Disolvente B	= TFA al 0,1 % en metanol al 90 % /H ₂ O al 10 %

Condición 2

35	Columna	= Phenomenex-Luna 4,6X50 mm S10
	% B de Inicio	= 0
	% B final	= 100
	Tiempo de gradiente	= 2 min
	Tiempo de detención	= 3 min
40	Caudal	= 5 ml/min
	Longitud de onda	= 220 nm
	Disolvente A	= TFA al 0,1 % en metanol al 10 % /H ₂ O al 90 %
	Disolvente B	= TFA al 0,1 % en metanol al 90 % /H ₂ O al 10 %

Condición 3

	Columna	= HPLC XTERRA C18 3,0 x 50 mm S7
	% B de Inicio	= 0
	% B final	= 100
50	Tiempo de gradiente	= 3 min
	Tiempo de detención	= 4 min
	Caudal	= 4 ml/min
	Longitud de onda	= 220 nm
	Disolvente A	= TFA al 0,1 % en metanol al 10 % /H ₂ O al 90 %
55	Disolvente B	= TFA al 0,1 % en metanol al 90 % /H ₂ O al 10 %

Procedimiento A: CLEM –Xterra MS C-18 3,0 x 50 mm, 0 hasta 100 % B durante 30,0 minutos de gradiente, 1 minuto tiempo de retención, A = 5 % acetonitrilo, 95 % agua, 10 mm acetato de amonio, B = 95 % acetonitrilo, 5 % agua, 10 mm acetato de amonio.

Procedimiento B: HPLC – X-Terra C-18 4,6 x 50 mm, 0 hasta 100 % B durante 10,0 minutos de gradiente, 1 minuto tiempo de retención, A = 10 % de metanol 90 % de agua 0,1 % de TFA, B = 90 % de metanol 10 % agua 0,1 % de TFA.

Procedimiento C: HPLC – YMC C-18 4,6 x 50 mm, 0 hasta 100 % B durante 10,0 minutos de gradiente, 1 minuto tiempo de retención, A = 10 % de metanol 90 % de agua 0,2 % H₃PO₄, B = 90 % de metanol 10 % agua 0,2 %

H₃PO₄.

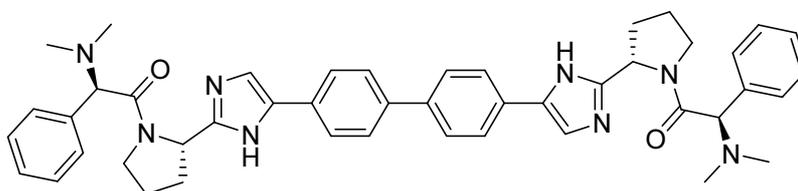
Procedimiento D: HPLC – Phenomenex C-18 4,6 x 150 mm, 0 hasta 100 % B durante 10,0 minutos de gradiente, 1 minuto tiempo de retención, A = 10 % de metanol 90 % de agua 0,2 % H₃PO₄, B = 90 % de metanol 10 % agua 0,2 % H₃PO₄.

Procedimiento E: CLEM – Gemini C-18 4,6 x 50 mm, 0 hasta 100 % B durante 10,0 minutos de gradiente, 1 minuto tiempo de retención, A = 5 % acetonitrilo, 95 % agua, 10 mm acetato de amonio, B = 95 % acetonitrilo, 5 % agua, 10 mm acetato de amonio.

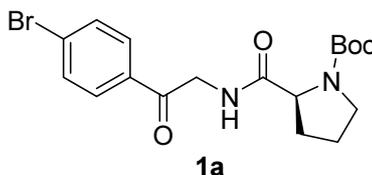
Procedimiento F: CLEM-Luna C-18 3,0 x 50 mm, 0 hasta 100 % B durante 7,0 minutos de gradiente, 1 minuto tiempo de retención, A = 5 % acetonitrilo, 95 % agua, 10 mm acetato de amonio, B = 95 % acetonitrilo, 5 % agua, 10 mm acetato de amonio.

Ejemplo 1 (Ejemplo de referencia)

(1*R*, 1'*R*)-2,2'-(4,4'-bifenildiol)bis(1*H*-imidazol-5,2-diil(2*S*)-2,1-pirrolidindiol)bis(*N,N*-dimetil-2-oxo-1-feniletanamina)

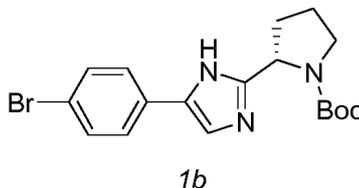


Ejemplo 1, Etapa a



La *N,N*-Diisopropiletilamina (18 ml, 103,3 mmoles) se añadió gota a gota, durante 15 minutos, a una mezcla heterogénea de *N*-Boc-L-prolina (7,139 g, 33,17 mmoles), HATU (13,324 g, 35,04 mmoles), la sal HCl de la 2-amino-1-(4-bromofenil)etanona (8,127 g, 32,44 mmoles), y DMF (105 ml), y se agitó en condiciones ambientales durante 55 minutos. La mayor parte del componente volátil se eliminó *al vacío*, y el residuo resultante se dividió entre acetato de etilo (300 ml) y agua (200 ml). La capa orgánica se lavó con agua (200 ml) y salmuera, se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró *al vacío*. Se preparó una malla de gel de sílice a partir del residuo y se sometió a cromatografía instantánea (gel de sílice; 50-60 % acetato de etilo/hexanos) para proporcionar la cetoamida 1a como un sólido blanco (12,8 g). RMN de ¹H (DMSO-d₆, δ = 2,5 ppm, 400 MHz): δ 8,25-8,14 (m, 1H), 7,92 (d a, *J* = 8,0, 2H), 7,75 (d a, *J* = 8,6, 2H), 4,61 (dd, *J* = 18,3, 5,7, 1H), 4,53 (dd, *J* = 18,1, 5,6, 1H), 4,22-4,12 (m, 1H), 3,43-3,35 (m, 1H), 3,30-3,23 (m, 1H), 2,18-2,20 (m, 1H), 1,90-1,70 (m, 3H), 1,40/1,34 (dos app s a, 9H). CL (Cond.): TR = 1,70 min; CL/EM: Análisis calculado para [M+Na]⁺ C₁₈H₂₃BrN₂NaO₄: 433,07; encontrado 433,09.

Ejemplo 1, Etapa b



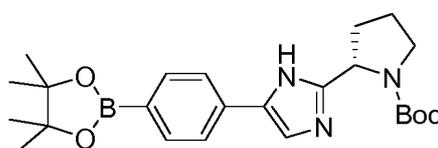
En un tubo sellado una mezcla de cetoamida 1a (12,8 g, 31,12 mmoles) y NH₄OAc (12,0 g, 155,7 mmoles) en xilenos (155 ml) se calentó a 140 °C durante 2 horas. El componente volátil se eliminó *al vacío*, y el residuo se dividió cuidadosamente entre acetato de etilo y agua, por lo cual se añadió una solución de NaHCO₃ suficientemente saturada para hacer el pH de la fase acuosa ligeramente básico después de la agitación del sistema bifásico. Las capas se separaron, y la capa acuosa se extrajo con un acetato de etilo adicional. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró *al vacío*. El material resultante se recrystalizó a partir del acetato de etilo/hexanos para proporcionar dos cultivos de Imidazol 1b como un sólido denso amarillo ligero, con un peso de 5,85 g. El licor madre se concentró *al vacío* y se sometió a una cromatografía instantánea (gel de sílice; 30

% acetato de etilo/hexanos) para proporcionar 2,23 g adicionales de Imidazol 1b. RMN de ^1H (DMSO- d_6 , $\delta = 2,5$ ppm, 400 MHz): δ 12,17/11,92/11,86 (m, 1H), 7,72-7,46/7,28 (m, 5H), 4,86-4,70 (m, 1H), 3,52 (app s a, 1H), 3,36 (m, 1H), 2,30-1,75 (m, 4H), 1,40/1,15 (app s a, 9H). CL (Cond.)1b): TR = 1,71 min; >98 % índice de homogeneidad; CL/EM: Análisis calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$ $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{BrN}_3\text{O}_2$: 392,10; encontrado 391,96; HMRS: Análisis calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$ $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{BrN}_3\text{O}_2$: 392,0974; encontrado 392,0959.

La pureza óptica de las dos muestras de 1b se evaluó usando las condiciones HPLC quiral indicadas a continuación (ee > 99 % para los cultivos combinados; ee = 96,7 % por la muestra de cromatografía instantánea):

Columna: Chiralpak AD, 10 μm , 4,6 x 50 mm
 Disolvente: etanol/heptano al 2% (isocrático)
 Caudal: 1 ml/min
 Longitud de onda: 220 o 254 nm
 Tiempo de retención relativo: 2,83 minutos (R), 5,34 minutos (S)

Ejemplo 1, Etapa c

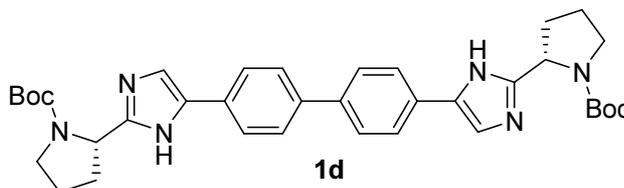


1c

El $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ (469 mg, 0,406 mmoles) se añadió a un tubo a presión que contenía una mezcla de bromuro 1b (4,008 g, 10,22 mmoles), bis(pinacolato)diboro (5,422 g, 21,35 mmoles), acetato de potasio (2,573g, 26,21 mmoles) y 1,4-dioxano (80 ml). El matraz de reacción se purgo con nitrógeno, se tapó y se calentó con un baño de aceite a 80 °C durante 16,5 horas. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró *al vacío*. El material bruto se dividió cuidadosamente entre CH_2Cl_2 (150 ml) y un medio acuoso (50 ml agua + 10 ml solución de NaHCO_3 saturada). La capa acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 , y la fase orgánica combinada se secó (MgSO_4), se filtró y se concentró *al vacío*. El material resultante se purificó con cromatografía instantánea (la muestra se cargó con disolvente eluido; 20-35 % acetato de etilo/ CH_2Cl_2) para proporcionar el boronato 1c, contaminado con pinacol, como un sólido denso blanco opaco; la proporción relativa de moles de 1c para el pinacol fue de aproximadamente 10:1 (RMN de ^1H). La muestra pesó 3,925 g después de ~2,5 días de exposición a alto vacío. RMN de ^1H (DMSO- d_6 , $\delta = 2,5$ ppm, 400 MHz): 12,22/11,94/ 11,87 (m, 1H), 7,79-7,50/ 7,34-7,27 (m, 5H), 4,86-4,70 (m, 1H), 3,52 (app s a, 1H), 3,36 (m, 1H), 2,27-1,77 (m, 4H), 1,45-1,10 (m, 21H). CL (Cond.): TR = 1,64 min; CL/EM: Análisis calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$ $\text{C}_{24}\text{H}_{35}\text{BN}_3\text{O}_4$: 440,27; encontrado 440,23.

Ejemplo 1, Etapa d

(2S,2'S)-2,2'-(4,4'-bifenil)diilbis(1H-imidazol-5,2-diil)di(1-pirrolidincarboxilato) de di-terc-butilo

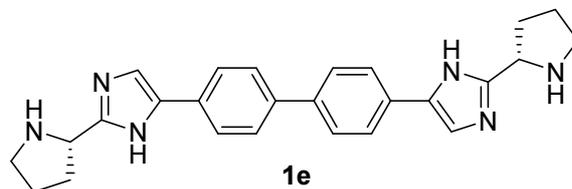


1d

El $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ (59,9 mg, 0,0518 mmoles) se añadió a una mezcla de bromuro 1b (576,1 mg, 1,469 mmoles), boronato 1c (621,8 mg, 1,415 mmoles), NaHCO_3 (400,4 mg, 4,766 mmoles) en 1,2-dimetoxietano (12 ml) y agua (4 ml). La mezcla de reacción se lavó abundantemente con nitrógeno, se calentó con un baño de aceite a 80 °C durante 5,75 horas, y después el componente volátil se eliminó *al vacío*. El residuo se dividió entre 20 % de metanol/ CHCl_3 (60 ml) y agua (30 ml), y la fase acuosa se extrajo con 20 % de metanol/ CHCl_3 (30 ml). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó (MgSO_4), se filtró y se concentró *al vacío*. Se preparó una malla de gel de sílice a partir del material bruto resultante y se sometió a cromatografía instantánea (acetato de etilo) para proporcionar el dímero 1d, contaminado con Ph_3PO , como un sólido blanco opaco (563 mg). RMN de ^1H (DMSO- d_6 , $\delta = 2,5$ ppm, 400 MHz): δ 12,21-12-16/11,95-11,78 (m, 2H), 7,85-7,48/ 7,32-7,25 (m, 10H), 4,90-4,71 (m, 2H), 3,60-3,32 (m, 4H), 2,30-1,79 (m, 8H), 1,46-1,10 (m, 18H). CL (Cond.)1b): TR = 1,77 min; CL/EM: Análisis calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$ $\text{C}_{36}\text{H}_{45}\text{BN}_6\text{O}_4$: 625,35; encontrado 625,48.

Ejemplo 1, Etapa e

5,5'-(4,4'-bifenildiil)bis(2-((2S)-2-pirrolidinil)-1H-imidazol)

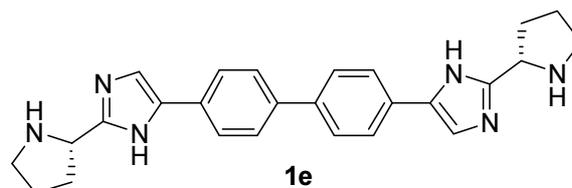


5

Una mezcla de carbamato 1d (560 mg) y 25 % TFA/CH₂Cl₂ (9,0 ml) se agitó a condiciones ambientales durante 3,2 horas. El componente volátil se eliminó *al vacío*, y el material resultante se congeló usando una columna MCX (lavada con metanol; 2,0 M NH₃/elución de metanol) para proporcionar pirrolidina 1e como un sólido amarillo opaco (340 mg). RMN de ¹H (DMSO-d₆, δ = 2,5 ppm, 400 MHz): δ 11,83 (s a, 2H), 7,80 (d, J = 8,1, 4H), 7,66 (d, J = 8,3, 4H), 7,46 (s a, 2H), 4,16 (app t, J = 7,2, 2H), 2,99-2,69 (m, 6H), 2,09-2,00 (m, 2H), 1,94-1,66 (m, 6H). CL (Cond.)Ib): TR = 1,27 min; > 98 % índice de homogeneidad; CL/EM: Análisis calculado para [M+H]⁺ C₂₆H₂₉N₆: 425,25; encontrado 425,25; HMRS: Análisis calculado para [M+H]⁺ C₂₆H₂₉N₆: 425,2454; encontrado 425,2448

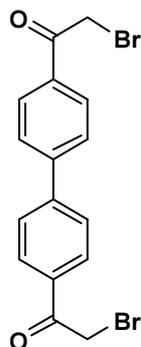
15 Síntesis Alternativa del Ejemplo 1, Etapa e

5,5'-(4,4'-bifenildiil)bis(2-((2S)-2-pirrolidinil)-1H-imidazol)



20

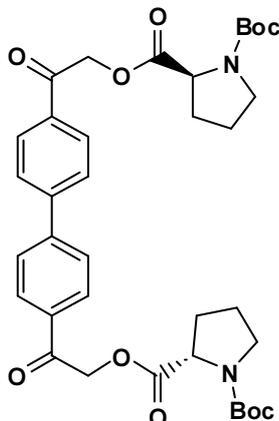
Ejemplo A-1e-1



Un matraz de 1 l de fondo redondo de 3 cuellos, equipado con una línea de nitrógeno, agitador aéreo y termopar se cargó con 20 g (83,9 mmoles, 1 equiv.) de 1,1'-(bifenil-4,4'-diil)diacetona bromo, 200 ml CH₂Cl₂ y 8,7 ml (27,1g, 169,3 mmoles, 2,02 equiv.) bromo. La mezcla se dejó agitar con nitrógeno durante aproximadamente 20 h en condiciones ambientales. La mezcla espesa resultante se cargó con 200 ml CH₂Cl₂ y se concentró hasta aproximadamente 150 ml por medio de destilación al vacío. Después, la mezcla espesa se intercambió en disolvente en THF a un volumen diana de 200 ml mediante destilación al vacío. La mezcla espesa se enfrió a 20-25 °C durante 1 h y se dejó agitar a 20-25 °C durante una hora más. Los sólidos cristalinos blancos opacos se filtraron y lavaron con 150 ml CH₂Cl₂. El producto se secó al vacío a 60 °C para proporcionar 27,4 g (69,2 mmoles, 82 %) del producto deseado: RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,95-7,85 (m, 4H), 7,60-7,50 (m, 4H), 4,26 (s, 4H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 191,0, 145,1, 133,8, 129,9, 127,9, 30,8; IR (KBr, cm⁻¹) 3007, 2950, 1691, 1599, 1199; Análisis calculado para C₁₆H₁₂Br₂O₂: C, 48,52; H, 3,05; Br, 40,34. Encontrado: C, 48,53; H, 3,03; Br, 40,53. HMRS calculado para C₁₆H₁₃Br₂O₂ (M + H; DCl⁺): 394,9282. Encontrado: 394,9292. pf 224-226 °C.

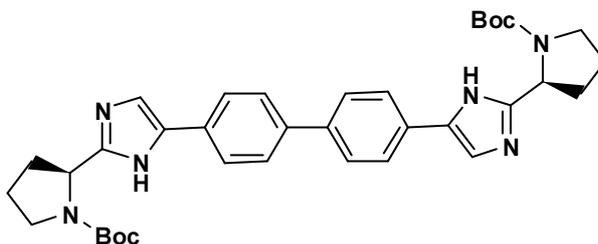
35

Ejemplo A-1e-2



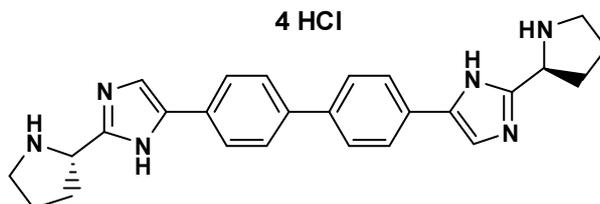
- 5 Un matraz con camisa de 500 ml, equipado con una línea de nitrógeno, termopar y agitador aéreo, se cargó con 20 g (50,5 mmoles, 1 equiv.) del Ejemplo A-1e-1, 22,8 g (105,9 mmoles, 2,10 equiv.) de 1-(terc-butoxicarbonil)-L-prolina, y 200 ml de acetonitrilo. La mezcla espesa se enfrió a 20 °C seguido de la adición de 18,2 ml (13,5 g, 104,4 mmoles, 2,07 equiv.) de DIPEA. La mezcla espesa se templó a 25 °C y se dejó agitar durante 3 h. La solución orgánica, transparente resultante se lavó con 3 x 100 ml de NaCl acuoso al 13 % en peso. La solución rica en acetonitrilo se
- 10 intercambió en disolvente en tolueno (volumen diana = 215 ml) por destilación al vacío hasta que había menos de 0,5 % volumen de acetonitrilo.

Ejemplo A-1e-3



- 15 La solución de tolueno anterior del Ejemplo A-1e-2 se cargó con 78 g (1,011 moles, 20 equiv.) de acetato de amonio y se calentó a 95-100 °C. La mezcla se dejó agitar a 95-100 °C durante 15 h. Después de finalizar la reacción, la mezcla se enfrió a 70-80 °C y se cargó con 7 ml de ácido acético, 40 ml de n-butanol y 80 ml de ácido acético acuoso al 5 % vol. La solución bifásica resultante se dividió manteniendo al mismo tiempo una temperatura > 50 °C. La fase orgánica rica se cargó con 80 ml de ácido acético acuoso al 5 % vol, 30 ml de ácido acético y 20 ml de n-butanol manteniendo al mismo tiempo una temperatura > 50 °C. La solución bifásica resultante se dividió manteniendo al mismo tiempo una temperatura > 50 °C y la fase orgánica rica se lavó con 80 ml adicionales de ácido acético acuoso al 5 % vol. Después, la fase orgánica rica se intercambió en disolvente en tolueno a un volumen diana de 215 ml por destilación al vacío. Mientras se mantenía una temperatura >60 °C, se cargaron 64 ml de MeOH. La mezcla espesa resultante se calentó a 70-75 °C y se envejeció durante 1 h. La mezcla espesa se enfrió a 20-25 °C durante 1 h y se envejeció a esa temperatura durante una hora más. La mezcla espesa se filtró y la
- 20 torta se lavó con 200 ml 10:3 tolueno: MeOH. El producto se secó al vacío a 70 °C, produciendo 19,8 g (31,7 mmoles, 63 %) del producto deseado: RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13,00-11,00 (s, 2H), 7,90-7,75 (m, 4H), 7,75-7,60 (m, 4H), 7,60-7,30 (s, 2H), 4,92-4,72 (m, 2H), 3,65-3,49 (m, 2H), 3,49-3,28 (m, 2H), 2,39-2,1 (m, 2H), 2,10-1,87 (m, 6H), 1,60-1,33 (s, 8H), 1,33-1,07 (s, 10H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 154,1, 153,8, 137,5, 126,6, 125,0, 78,9, 78,5, 55,6, 55,0, 47,0, 46,7, 33,7, 32,2, 28,5, 28,2, 24,2, 23,5; IR (KBr, cm⁻¹) 2975, 2876, 1663, 1407, 1156, 1125; HMRS calculado para C₃₆H₄₅N₆O₄ (M + H; ESI⁺): 625,3502. Encontrado: 625,3502. pf 190-195 °C
- 25 (descompuesto).
- 30
- 35

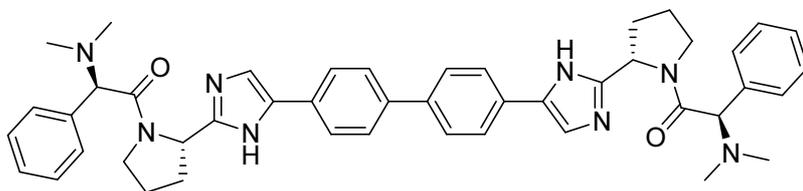
Ejemplo A-1e-4



- 5 A un reactor 250 ml equipado con una línea de nitrógeno y agitador aéreo, se cargaron 25,0 g del Ejemplo A-1e-3 (40,01 mmoles, 1 equiv.) seguido de 250 ml de metanol y 32,85 ml (400,1 mmoles, 10 equiv.) de cloruro de hidrógeno acuoso 6M. La temperatura se incrementó a 50 °C y se agitó a 50 °C durante 5 h. La mezcla espesa resultante se enfrió a 20-25 °C y se mantuvo con agitación durante aprox. 18 h. La filtración de la mezcla espesa proporcionó un sólido que se lavó sucesivamente con 100 ml de metanol/agua al 90 % (p/p) y 2 x 100 ml de metanol.
- 10 La torta húmeda se secó en un horno al vacío a 50 °C durante la noche para dar 18,12 g (31,8 mmoles, 79,4 %) del producto deseado.

Recristalización del Ejemplo A-1e-4

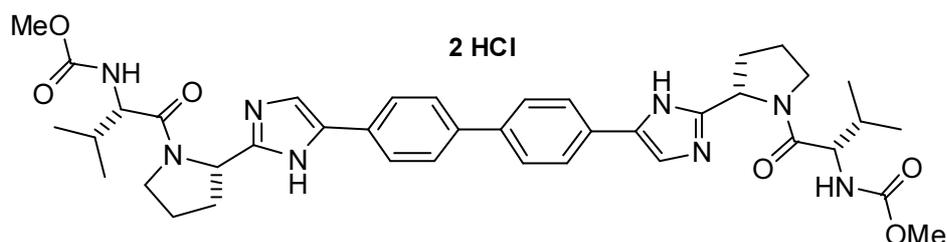
- 15 A un reactor de 250 ml equipado con una línea de nitrógeno y un agitador aéreo, se cargaron 17,8 g del Ejemplo A-1e-4 bruto se cargó seguido de 72 ml de metanol. La mezcla espesa resultante se agitó a 50 °C durante 4 h, se enfrió a 20-25 °C y se mantuvo con agitación a 20-25 °C durante 1 h. La filtración de la mezcla espesa proporcionó un sólido cristalino que se lavó con 60 ml de metanol. La torta húmeda resultante se secó en un horno al vacío a 50 °C durante 4 días para proporcionar 14,7 g (25,7 mmoles, 82,6 %) del producto deseado: RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,5-10,25 (br, 2H), 10,1-9,75 (a, 2H), 8,19 (s, 2H), 7,05 (d, J = 8,4, 4H), 7,92 (d, J = 8,5, 4H), 5,06 (m, 2H), 3,5-3,35 (m, 4H), 2,6-2,3 (m, 4H), 2,25-2,15 (m, 2H), 2,18-1,96 (m, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 156,6, 142,5, 139,3, 128,1, 127,5, 126,1, 116,9, 53,2, 45,8, 29,8, 24,3; IR (KBr, cm⁻¹) 3429, 2627, 1636, 1567, 1493, 1428, 1028. Análisis calculado para C₂₆H₃₂N₆Cl₄: C, 54,75; H, 5,65; LC, 24,86; Ajustado para 1,9 % de agua: C, 53,71; H, 5,76; N, 14,46; LC, 24,39. Encontrado: C, 53,74; H, 5,72; N, 14,50; LC, 24,49; KF = 1,9. pf 240 °C (descompuesto)
- 25



(1R,1'R)-2,2'-(4,4'-bifenil)diilbis(1H-imidazol-5,2-diil)bis(2S)-2,1-pirrolidindiil)bis(N,N-dimetil-2-oxo-1-feniletanamina)

- 30 Se añadió HATU (44,6 mg, 0,117 mmoles) a una mezcla de pirrolidina 1e (22,9 mg, 0,054 mmoles), diisopropiletamina (45 μL, 0,259 mmoles) y Límite 1 (28,1 mg, 0,13 mmoles) en DMF (1,5 ml), y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 90 minutos. El componente volátil se eliminó *al vacío*, y el residuo se purificó primero por MCX (lavado con metanol; 2,0 M NH₃/elución de metanol) y después mediante un sistema HPLC de fase inversa (H₂O/metanol/TFA) para proporcionar la sal TFA del Ejemplo 1 como una espuma blanca opaca (44,1 mg). RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, δ = 2,5 ppm, 400 MHz): δ 10,25 (s a, 2H), 8,20-7,10 (m, 20H), 5,79-5,12 (m, 4H), 4,05-2,98 (m, 4H), 2,98-2,62 (m, 6H), 2,50-1,70 (m, 14H), [Nota: la señal del NH imidazol fue muy amplia para generar un cambio químico]; CL (Cond.Ib): TR = 1,40 min; > 98 % índice de homogeneidad; CL/EM: Análisis calculado para [M+H]⁺ C₄₆H₅₁N₈O₂: 747,41; encontrado 747,58.
- 35 Disolvente B = 0,1 % de TFA en 90 % de metanol/10 % H₂O
- 40

Ejemplo 2



45

((1S)-1-(((2S)-2-(5-(4'-(2-(2S)-1-((2S)-2-((metoxicarbonil)amino)-3-metilbutanoil)-2-pirrolidinil)-1H-imidazol-5-il)-4-bifenilil)-1H-imidazol-2-il)-1-pirrolidinil)carbonil)-2-metilpropil)carbamato de metilo

Un matraz de 50 ml equipado con una barra de agitación se cargó secuencialmente con 2,5 ml de acetonitrilo, 0,344 g (2,25 mmoles, 2,5 equiv.) de hidrato de hidroxibenzotriazol, 0,374 g (2,13 mmoles, 2,4 equiv.) de N-(metoxicarbonil)-L-valina, 0,400 g (2,09 mmoles, 2,4 equiv.) de clorhidrato de 1-(3-dimetaminopropil)-3-etilcarbodiimida y 2,5 ml más de acetonitrilo. La solución resultante se agitó a 20 °C durante 1 hora y se cargó con 0,501 g (0,88 mmoles, 1 equiv.) del ejemplo A-1e-4. La mezcla espesa se enfrió a aprox. 0 °C y se añadieron 0,45 g (3,48 mmoles, 4 equiv.) de diisopropiletilamina durante 30 min mientras se mantenía una temperatura por debajo de 10 °C. La solución se calentó lentamente a 15 °C durante 3 h y se mantuvo a 15 °C durante 16 h. La temperatura se incrementó a 20 °C y se agitó durante 3,25 horas. La solución resultante se cargó con 3,3 g de NaCl acuoso al 13 % en peso y se calentó a 50 °C durante 1 h. Después de enfriar a 20 °C, se añadieron 2,5 ml de acetato de isopropilo. La fase orgánica rica se lavó con 2 x 6,9 g de una solución de NaOH 0,5 N que contenía NaCl al 13 % en peso seguido de 3,3 g de NaCl acuoso al 13 % en peso. Después, la mezcla se intercambió en el disolvente en acetato de isopropilo por destilación al vacío a un volumen diana de 10 ml. La solución turbia resultante se enfrió a 20 °C y se filtró a través de un filtro de 0,45 µm. Después, se cambió el disolvente de la solución transparente en etanol por destilación al vacío con un volumen diana de 3 ml. Se añadieron 1,67 ml (2,02 mmoles, 2,3 equiv.) de HCl 1,21 M en etanol. Después, la mezcla agitó a 25 °C durante 15 h. La mezcla espesa resultante se filtró después y la torta húmeda se lavó con 2,5 ml de acetona:etanol 2:1. Los sólidos se secaron en un horno de vacío a 50 °C para dar 0,550 g (0,68 mmoles, 77 %) del producto deseado.

Recristalización del compuesto del Ejemplo 2

Una solución del compuesto del Ejemplo 2 preparada anteriormente se preparó disolviendo 0,520 g del producto anterior en 3,65 ml de metanol. La solución se cargó después con 0,078 g de carbono libre Cuno Zeta de tipo 3 y se dejó agitar durante 0,25 h. Después, la mezcla se filtró y se lavó con 6 ml de metanol. La solución rica en producto se concentró hasta 2,6 ml por destilación al vacío. Se añadieron 7,8 ml de acetona y se dejó agitar a 25 °C durante 15 h. Los sólidos se filtraron, se lavaron con 2,5 ml de acetona:etanol 2:1 y se secaron en un horno de vacío a 70 °C para dar 0,406 g (57 %) del producto deseado como cristales blancos: RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, 80 °C): 8,02 (d, J=8,34 Hz, 4 H), 7,97 (s, 2 H), 7,86 (d, J=8,34 Hz, 4 H), 6,75 (s, 2 H), 5,27 (t, J=6,44 Hz, 2 H), 4,17 (t, J=6,95 Hz, 2 H), 3,97 - 4,11 (m, 2 H), 3,74 - 3,90 (m, 2 H), 3,57 (s, 6 H), 2,32 - 2,46 (m, 2 H), 2,09 - 2,31 (m, 6 H), 1,91 - 2,07 (m, 2 H), 0,88 (d, J=6,57 Hz, 6 H), 0,79 (d, J=6,32 Hz, 6 H); ¹³C RMN (75 MHz, DMSO-d₆): δ 170,9, 156,9, 149,3, 139,1, 131,7, 127,1, 126,5, 125,9, 115,0, 57,9, 52,8, 51,5, 47,2, 31,1, 28,9, 24,9, 19,6, 17,7; IR (puro, cm⁻¹): 3385, 2971, 2873, 2669, 1731, 1650. Anal. Calculado para C₄₀H₅₂N₈O₆Cl₂: C, 59,18; H, 6,45; N, 13,80; Cl, 8,73. Encontrado C, 59,98; H, 6,80; N, 13,68; Cl, 8,77. pf 267 °C (descompuesto). Las posiciones pico de difracción características (grados 2θ ± 0,1) a TA, se basan en un patrón de alta calidad recogido con un difractor (CuKα) con una capilaridad de giro de calibre 2θ con un NIST, otros patrones apropiados son los siguientes: 10,3, 12,4, 12,8, 13,3, 13,6, 15,5, 20,3, 21,2, 22,4, 22,7, 23,7.

40 ACTIVIDAD BIOLÓGICA

En la presente divulgación se utilizó un ensayo de replicón del VHC y se preparó, realizó y validó como se describe en la solicitud PCT/US2006/022197 de propiedad conjunta y en O'Boyle y col., *Antimicrob Agents Chemother.* Abril de 2005; 49(4):1346-53.

Se utilizaron células de replicón 1b-377-neo del VHC para ensayar las series de los compuestos descritos actualmente, así como células resistentes al compuesto A debido a una mutación Y2065H en la proteína NS5A (descrita en la solicitud PCT/US2006/022197). Se determinó que los compuestos ensayados tenían una actividad inhibitoria de más de 10 veces menos en células resistentes al compuesto A en comparación con las células tipo silvestre, lo que indicaba un mecanismo de acción relacionado entre las dos series de compuestos. De esta manera, los compuestos de la presente divulgación pueden ser efectivos para inhibir la función de la proteína NS5A del VHC y se entiende que son efectivos en combinaciones como las descritas previamente en la solicitud PCT/US2006/022197 y en el documento WO/O4014852 de propiedad conjunta. Además, los compuestos de la presente divulgación pueden ser efectivos contra el genotipo 1b del VHC. Deberá también entenderse que los compuestos de la presente divulgación pueden inhibir múltiples genotipos del VHC. La tabla 2 muestra los valores de CE50 de los compuestos representativos de la presente divulgación contra el genotipo 1b del VHC. En una realización, los compuestos de la presente divulgación son activos contra los genotipos 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4a, y 5a. Los intervalos de la CE50 contra el genotipo 1b del VHC son los siguientes: A = 1-10 µM; B = 100-999 nM; C = 1-99 nM; y D = 10-999 pM.

Los compuestos de la presente divulgación pueden inhibir el VHC por mecanismos además de o distintos de la inhibición de la proteína NS5A. En una realización los compuestos de la presente divulgación inhiben el replicón del VHC y en otra realización los compuestos de la presente divulgación inhiben la proteína NS5A.

65

Tabla 2

Ejemplo	Intervalo
1	D
2	D

Se desea que los ejemplos se consideren en todos los aspectos como ilustrativos y no restrictivos, haciendo referencia a las reivindicaciones adjuntas, en vez de a los ejemplos anteriores.

5

Los compuestos de la presente divulgación pueden inhibir el VHC por mecanismos además de o distintos de la inhibición de la proteína NS5A. En una realización, los compuestos de la presente divulgación inhiben la proteína NS5A. Los compuestos de la presente divulgación pueden inhibir múltiples genotipos del VHC.

10

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un compuesto que es ((1S)-1-(((2S)-2-(5-(4'-(2-((2S)-1-((2S)-2-((metoxicarbonil)amino)-3-metilbutanoil)-2-pirrolidinil)-1H-imidazol-5-il)-4-bifenilil)-1H-imidazol-2-il)-1-pirrolidinil)carbonil)-2-metilpropil)carbamato de metilo; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en terapia.
- 10 2. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, que es diclorhidrato de ((1S)-1-(((2S)-2-(5-(4'-(2-((2S)-1-((2S)-2-((metoxicarbonil)amino)-3-metilbutanoil)-2-pirrolidinil)-1H-imidazol-5-il)-4-bifenilil)-1H-imidazol-2-il)-1-pirrolidinil)carbonil)-2-metilpropil)carbamato de metilo.
- 15 3. El compuesto para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, que además comprende el uso de uno o dos compuestos adicionales que tienen actividad anti-VHC antes, después o de forma simultánea con el compuesto de la reivindicación 1, o con una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o con el compuesto de la reivindicación 2.
- 20 4. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde al menos uno de los compuestos adicionales es un interferón o una ribavirina.
- 25 5. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 4, en el que el interferón se selecciona de interferón alfa 2B, interferón alfa pegilado, interferón consenso, interferón alfa 2A e interferón tau linfoblastoide.
6. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde al menos uno de los compuestos adicionales se selecciona de interleucina 2, interleucina 6, interleucina 12, un compuesto que aumenta el desarrollo de una respuesta de linfocitos T auxiliares de tipo 1, ARN de interferencia, ARN anti-sentido, Imiqimod, ribavirina, un inhibidor de deshidrogenasa inosina 5'-monofosfato, amantadina y rimantadina.
7. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde al menos uno de los compuestos adicionales es eficaz inhibiendo la función de una diana seleccionada de metaloproteasa del VHC, serina proteasa del VHC, polimerasa del VHC, helicasa del VHC, proteína NS4B del HVC, entrada del VHC, ensamblaje del VHC, salida del VHC, proteína NS5A del VHC e IMPDH, para el tratamiento de una infección por VHC.