

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 686 352**

51 Int. Cl.:

**C07D 493/06** (2006.01)

**A61K 31/4178** (2006.01)

**A61P 31/14** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.06.2015 PCT/US2015/034823**

87 Fecha y número de publicación internacional: **17.12.2015 WO15191526**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.06.2015 E 15745599 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.06.2018 EP 3154985**

54 Título: **Compuestos antiviricos**

30 Prioridad:

**12.06.2014 US 201462011155 P**

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

**17.10.2018**

73 Titular/es:

**GILEAD SCIENCES, INC. (100.0%)  
333 Lakeside Drive  
Foster City, CA 94404, US**

72 Inventor/es:

**BACON, ELIZABETH M.;  
COTTELL, JEROMY J.;  
LINK, JOHN O.;  
TREJO MARTIN, TERESA ALEJANDRA y  
ZIPFEL, SHEILA**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

### Observaciones :

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 686 352 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

Compuestos antivíricos

## 5 Antecedentes

La hepatitis C es considerada una enfermedad vírica crónica del hígado que se caracteriza por una hepatopatía. Aunque los fármacos dirigidos al hígado están en amplio uso y se ha demostrado su eficacia, la toxicidad y otros efectos secundarios han limitado su utilidad. Los inhibidores del virus de la hepatitis C (VHC) son útiles para limitar el establecimiento y la progresión de la infección por VHC así como en ensayos de diagnóstico para VHC.

Existe la necesidad de nuevos agentes terapéuticos de VHC. En particular, existe la necesidad de agentes terapéuticos de VHC que tienen una amplia actividad frente a genotipos de VHC (por ejemplo, genotipos 1, 2, 3, 4, 5, 6, etc.). También existe una necesidad particular de agentes que son menos susceptibles a la resistencia del virus. Las mutaciones de resistencia a inhibidores se han descrito para NS5A de VHC para los genotipos 1a y 1b en Antimicrobial Agents and Chemotherapy, septiembre de 2010, Volumen 54, páginas 3641-3650.

## Sumario

La presente divulgación proporciona compuestos para su uso en composiciones farmacéuticas y métodos para tratar la hepatitis C (VHC).

En una realización, la divulgación proporciona los tres compuestos tal como se representan en la reivindicación 1, en lo sucesivo también denominados compuestos de fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

La divulgación también proporciona compuestos isotópicamente enriquecidos que son compuestos tal como se describe en el presente documento que comprenden un isótopo enriquecido en una o más posiciones en el compuesto.

La presente divulgación también proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto tal como se describe en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La presente divulgación también proporciona una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de hepatitis C (VHC) o un trastorno asociado con hepatitis C. En una realización, la composición comprende al menos un agente terapéutico adicional para el tratamiento del VHC. En una realización, el agente terapéutico se selecciona de ribavirina, un inhibidor de proteasa NS3, un inhibidor de polimerasa NS5B del VHC (por ejemplo, inhibidor de nucleósidos o nucleótidos de la polimerasa NS5B del VHC), un inhibidor de la alfa-glucosidasa 1, un hepatoprotector, un inhibidor no nucleósido de polimerasa de VHC o combinaciones de los mismos. En una realización, la composición comprende adicionalmente un inhibidor de polimerasa NS5B del VHC. En una realización, el inhibidor de la polimerasa NS5B del VHC se selecciona de ribavirina, viramidina, levovirina, un L-nucleósido o isatoribina. En una realización, el inhibidor de la polimerasa NS5B del VHC es sofosbuvir.

En una realización, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto tal como se describe en el presente documento y al menos un inhibidor de polimerasa NS5B del VHC, y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable. En una realización, la composición comprende adicionalmente un interferón, un interferón pegilado, ribavirina o combinaciones de los mismos. En una realización, el inhibidor de la polimerasa NS5B del VHC es sofosbuvir.

En una realización, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto tal como se describe en el presente documento y al menos un inhibido de proteasa NS3, y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable. En una realización, la composición comprende adicionalmente un inhibidor de polimerasa NS5B del VHC.

La presente divulgación también proporciona una composición farmacéutica que además comprende un interferón o un interferón pegilado.

La presente divulgación también proporciona una composición farmacéutica que además comprende análogo de nucleósido.

La presente divulgación también proporciona una composición farmacéutica en donde dicho análogo de nucleósido se selecciona de ribavirina, viramidina, levovirina, un L-nucleósido e isatoribina y dicho interferón es  $\alpha$ -interferón o  $\alpha$ -interferón pegilado.

La presente divulgación también proporciona un método de tratamiento de un paciente infectado por el virus de la hepatitis C, comprendiendo dicho método la administración a un paciente humano de un compuesto descrito en el

presente documento o una composición farmacéutica tal como se describe en el presente documento.

La presente divulgación también proporciona un método de inhibición de VHC, que comprende la administración a un mamífero afligido con una afección asociada con la actividad del VHC, una cantidad de un compuesto tal como se describe en el presente documento, eficaz para inhibir el VHC.

La presente divulgación también proporciona un compuesto tal como se describe en el presente documento para su uso en terapia médica (por ejemplo, para su uso en la inhibición de la actividad de VHC o el tratamiento de una afección asociada con la actividad de VHC), así como el uso de un compuesto tal como se describe en el presente documento para la fabricación de un medicamento útil para inhibir VHC o el tratamiento de una afección asociada con la actividad de VHC en un mamífero.

La presente divulgación también proporciona procesos sintéticos y nuevos intermediarios desvelados en el presente documento, que son útiles para preparar compuestos tal como se describe en el presente documento. Algunos de los compuestos son útiles para preparar otros compuestos tal como se describe en el presente documento.

En otro aspecto, la divulgación proporciona un compuesto tal como se describe en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento profiláctico o terapéutico de hepatitis C o un trastorno asociado con hepatitis C.

En otro aspecto, la divulgación proporciona un método de inhibición de la actividad de VHC en una muestra que comprende tratar la muestra con un compuesto tal como se describe en el presente documento.

Se ha descubierto que los compuestos de fórmula (I) poseen actividad útil frente a varios genotipos de VHC. Adicionalmente, determinados compuestos de fórmula (I) presentan una potencia significativa frente a variantes resistentes en, por ejemplo, GT1.

#### Descripción detallada

El término "tratamiento" o "tratar", en la medida en que se relaciona con una enfermedad o afección incluye prevenir la aparición de la enfermedad o afección, inhibir la enfermedad o afección, eliminar la enfermedad o afección y/o aliviar uno o más síntomas de la enfermedad o afección.

Los compuestos descritos en el presente documento también pueden existir como isómeros tautoméricos en determinados casos. Aunque solo puede representarse un tautómero, todas estas formas están contempladas dentro del alcance de la divulgación. Por ejemplo, pueden existir tautómeros de ene-amina para purina, pirimidina, imidazol, guanidina, amidina y sistemas de tetrazol, y todas sus posibles formas tautoméricas están dentro del alcance de la divulgación.

#### **Sales e Hidratos**

Los ejemplos de sales fisiológica o farmacéuticamente aceptables de los compuestos descritos en el presente documento incluyen sales derivadas de una base apropiada, tal como, por ejemplo, un metal alcalino (por ejemplo, sodio), un metal alcalino térreo (por ejemplo, magnesio), amonio y  $NX_4^+$  (en donde X es alquilo  $C_1$ - $C_4$ ). Las sales fisiológicamente aceptables de un átomo de hidrógeno o un grupo amino incluyen sales de ácidos carboxílicos orgánicos, tales como, por ejemplo, ácidos acético, benzoico, láctico, fumárico, tartárico, maleico, malónico, málico, isetiónico, lactobiónico y succínicos; ácidos sulfónicos orgánicos, tal como, por ejemplo, ácidos metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico y p-toluenosulfónicos; y ácidos inorgánicos, tal como, por ejemplo, ácidos clorhídrico, sulfúrico, fosfórico y sulfámico. Las sales fisiológicamente aceptables de un compuesto de un grupo hidroxil incluyen el anión de dicho compuesto en combinación con un catión adecuado, tal como, por ejemplo,  $Na^+$  y  $NX_4^+$  (en donde X se selecciona independientemente entre H o un grupo alquilo  $C_1$ - $C_4$ ).

Para uso terapéutico, las sales de los principios activos de los compuestos descritos en el presente documento serán fisiológicamente aceptables, es decir serán sales derivadas de un ácido o base fisiológicamente aceptable. Sin embargo, las sales de ácidos o bases que no sean fisiológicamente aceptables también pueden encontrar uso, por ejemplo, en la preparación o purificación de un compuesto fisiológicamente aceptable. Todas las sales, se obtengan o no de un ácido o base fisiológicamente aceptable, están dentro del alcance de la presente divulgación.

Las sales de metales se preparan normalmente haciendo reaccionar el hidróxido metálico con un compuesto de la presente divulgación. Los ejemplos de sales metálicas que se preparan de este modo son sales que contienen  $Li^+$ ,  $Na^+$  y  $K^+$ . Puede precipitarse una sal metálica menos soluble de la solución de una sal más soluble mediante la adición del compuesto metálico adecuado.

Además, pueden formarse sales a partir de la adición de ácido de determinados ácidos orgánicos e inorgánicos, por ejemplo, HCl, HBr,  $H_2SO_4$ ,  $H_3PO_4$  o ácidos sulfónicos orgánicos, a centros básicos, normalmente aminas, o a grupos ácidos. Finalmente, debe entenderse que las composiciones de la presente invención comprenden compuestos

descritos en el presente documento en su estado no ionizado, así como también forma zwitteriónica, y combinaciones con cantidades estequiométricas de agua como en hidratos.

También se incluyen dentro del ámbito de esta divulgación las sales de los compuestos parentales con uno o más aminoácidos. Cualquiera de los aminoácidos naturales o no naturales son adecuados, especialmente los aminoácidos de origen natural hallados como componentes de las proteínas, aunque el aminoácido es normalmente uno que porte una cadena lateral con un grupo básico o ácido, *por ejemplo*, lisina, arginina o ácido glutámico, o un grupo neutral tal como, por ejemplo, glicina, serina, treonina, alanina, isoleucina o leucina.

## 10 Métodos de inhibición de VHC

La solicitud describe métodos de inhibición de la actividad de VHC que comprenden la etapa de tratar una muestra de la que se sospecha que contiene VHC con un compuesto o composición tal como se describe en el presente documento.

La etapa de tratamiento comprende la adición del compuesto descrito en el presente documento a la muestra o comprende la adición de un precursor de la composición a la muestra. La etapa de adición comprende cualquier método de administración tal como se describe anteriormente.

Si se desea, la actividad de VHC tras la aplicación del compuesto se puede observar mediante cualquier método, incluyendo métodos directos e indirectos de detección de la actividad de VHC. Se contemplan todos los métodos cuantitativos, cualitativos y semicuantitativos para determinar la actividad del VHC. Normalmente, se aplica uno de los métodos de exploración descritos anteriormente, sin embargo, cualquier otro método tal como, por ejemplo, la observación de las propiedades fisiológicas de un organismo vivo también es aplicable.

Muchos organismos contienen VHC. Los compuestos de la presente divulgación son útiles en el tratamiento o profilaxis de afecciones asociadas con la activación del VHC en animales o en el hombre.

Sin embargo, en la exploración de compuestos capaces de inhibir la actividad de VHC se debería tener en mente que los resultados de los ensayos enzimáticos no siempre se pueden correlacionar con los ensayos en cultivos celulares. Por tanto, un ensayo basado en células debería ser normalmente la herramienta de exploración primaria.

## Formulaciones farmacéuticas

Los compuestos de la presente divulgación se formulan con vehículos y excipientes convencionales, que se seleccionarán de acuerdo con la práctica habitual. Los comprimidos contendrán excipientes, emolientes, cargas, aglutinantes y similares. Las formulaciones acuosas se preparan en forma estéril y cuando están destinadas al suministro por una administración que no sea la administración oral, generalmente serán isotónicas. Todas las formulaciones contendrán opcionalmente excipientes, tales como, por ejemplo, las mostradas en el Handbook of Pharmaceutical Excipients (1986). Los excipientes incluyen ácido ascórbico y otros antioxidantes, agentes quelantes, tales como, por ejemplo, EDTA, carbohidratos, tales como, por ejemplo, dextrina, hidroxialquilcelulosa, hidroxialquilmeltilcelulosa, ácido esteárico, y similares. El pH de las formulaciones varía de aproximadamente 3 a aproximadamente 11, pero habitualmente es de aproximadamente 7 a 10. Normalmente, el compuesto se administrará en una dosis de 0,01 miligramos a 2 gramos. En una realización, la dosis será de aproximadamente 10 miligramos a 450 miligramos. Se contempla que el compuesto puede administrarse una vez, dos veces o tres veces al día.

Aunque es posible administrar los principios activos solos, puede ser preferente presentarlos como formulaciones farmacéuticas. Las formulaciones, para su uso tanto humano como veterinario, descritas en el presente documento comprenden al menos un principio activo, tal como se ha definido anteriormente, junto con uno o más vehículos aceptables y por lo tanto, opcionalmente otros ingredientes terapéuticos. El(los) vehículo(s) debe(n) ser "aceptable(s)" en el sentido de ser compatible(s) con los otros ingredientes de la formulación y fisiológicamente inocuo(s) para el receptor del(los) mismo(s).

Las formulaciones incluyen las adecuadas para las vías de administración precedentes. Las formulaciones pueden presentarse convenientemente en una forma farmacéutica unitaria y se pueden preparar por cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de farmacia. Las técnicas y formulaciones se encuentran en general en Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co., Easton, PA). Tales métodos incluyen la etapa de poner en asociación el principio activo con el vehículo que constituye uno o más ingredientes auxiliares. En general, las formulaciones se preparan asociando de forma uniforme y estrecha el principio activo con vehículos líquidos o transportadores sólidos finamente divididos, o ambos, y después, en caso necesario, dando forma al producto.

Las formulaciones de la presente divulgación, adecuadas para administración oral, pueden presentarse como unidades discretas tales como, por ejemplo, cápsulas, obleas o comprimidos conteniendo cada una, una cantidad predeterminada del principio activo; como polvo o gránulos; como una solución o suspensión en un líquido acuoso o no acuoso; o como una emulsión líquida de aceite en agua o una emulsión líquida de agua en aceite. El principio

activo también puede administrarse como un bolo, electuario o pasta.

Un comprimido se fabrica mediante compresión o moldeado, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos prensados pueden prepararse prensando en una máquina adecuada el principio activo en una forma suelta, tal como, por ejemplo, polvo o gránulos, mezclados de forma opcional con un aglutinante, lubricante, diluyente inerte, conservante, tensioactivo o dispersante. Los comprimidos moldeados pueden prepararse moldeando en una máquina adecuada una mezcla del principio activo en polvo humedecida con un diluyente líquido inerte. Los comprimidos pueden revestirse o marcarse y, de forma opcional, se formulan de forma que se proporcione una liberación lenta o controlada del principio activo de estos.

Para la administración al ojo u otros tejidos externos, por ejemplo, la boca y la piel, las formulaciones se aplican preferentemente como una pomada o crema tópica que contiene el principio activo (o principios activos) en una cantidad de, por ejemplo, del 0,075 al 20 % p/p (que incluyen el o los principios activos) en un intervalo entre el 0,1 % y el 20 % en incrementos de 0,1 % p/p, tales como, por ejemplo, 0,6 % p/p, 0,7 % p/p, etc.), preferentemente del 0,2 al 15 % p/p, y muy preferentemente del 0,5 al 10 % p/p. Cuando se formulan en una pomada, los principios activos pueden emplearse con una base de pomada parafínica o miscible en agua. Como alternativa, los principios activos pueden formularse en una crema con una base de crema de aceite en agua.

Si se desea, la fase acuosa de la base de crema puede incluir, por ejemplo, al menos el 30 % p/p de un alcohol polihídrico, es decir, un alcohol que tiene dos o más grupos hidroxilo, tales como, por ejemplo, propilenglicol, butano 1,3-diol, manitol, sorbitol, glicerol y polietilenglicol (incluyendo PEG 400), y mezclas de los mismos. Las formulaciones tópicas pueden incluir, a ser posible, un compuesto que potencie la absorción o la penetración del principio activo a través de la piel u otras zonas afectadas. Los ejemplos de tales potenciadores de la penetración cutánea incluyen dimetilsulfóxido y análogos relacionados.

La fase oleosa de las emulsiones de la presente divulgación puede estar constituida a partir de ingredientes conocidos de una manera conocida. Aunque la fase puede comprender simplemente un emulsionante (conocido también como emulgente), comprende a ser posible una mezcla de al menos un emulsionante con una grasa o un aceite, o con tanto una grasa como un aceite. Preferentemente, se incluye un emulsionante hidrófilo junto con un emulsionante lipófilo que actúa como estabilizante. También se prefiere incluir tanto un aceite como una grasa. Conjuntamente, el emulsionante (o emulsionantes) con o sin el estabilizador (o estabilizadores) constituyen la denominada cera emulsionante y la cera junto con el aceite y la grasa constituyen la denominada base de pomada emulsionante que forma la fase oleosa dispersa de las formulaciones de crema.

Los emulgentes y estabilizantes de emulsión adecuados para su uso en la formulación descrita en el presente documento incluyen Tween® 60, Span® 80, alcohol cetosteárico, alcohol bencílico, alcohol miristílico, monoestearato de glicerilo y laurilsulfato de sodio.

La elección de los aceites o grasas adecuados para la formulación es a base de lograr las propiedades cosméticas deseadas. La crema debería ser preferentemente un producto no graso, que no manche y lavable, con la consistencia adecuada para evitar la filtración desde tubos u otros contenedores. Pueden usarse ésteres de alquilo de cadena lineal o ramificada, alquilésteres mono o dibásicos, tales como, por ejemplo, di-isoadipato, estearato de isocetilo, propilenglicol diéster de ácidos grasos de coco, miristato de isopropilo, oleato de decilo, palmitato de isopropilo, estearato de butilo, palmitato de 2-etilhexilo o una mezcla de ésteres de cadena ramificada conocida como Crodamol CAP, siendo los tres últimos los ésteres preferentes. Estos pueden usarse solos o en combinación, dependiendo de las propiedades requeridas. Como alternativa, lípidos de alto punto de fusión, tales como, por ejemplo, parafina blanca blanda y/o parafina líquida u otros aceites minerales.

Las formulaciones farmacéuticas de acuerdo con la presente divulgación comprenden uno o más compuestos descritos en el presente documento junto con uno o más vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables y opcionalmente otros agentes terapéuticos. Las formulaciones farmacéuticas que contienen el principio activo pueden estar en cualquier forma adecuada para el método de administración pretendido. Cuando se usan para uso oral, por ejemplo, comprimidos, trociscos, pastillas para chupar, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras o blandas, jarabes y elixires. Las composiciones destinadas a uso oral pueden prepararse de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas, y tales composiciones pueden contener uno o más agentes, incluyendo agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes y agentes conservantes, con el fin de proporcionar una preparación sabrosa. Son aceptables los comprimidos que contienen el principio activo en combinación con un excipiente no tóxico farmacéuticamente aceptable que son adecuados para la fabricación de comprimidos. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes, tal como, por ejemplo, carbonato cálcico o sódico, lactosa, lactosa monohidrato, croscarmelosa de sodio, povidona, fosfato cálcico o sódico; agentes de granulación y desintegración, tal como, por ejemplo, almidón de maíz o ácido algínico; agentes aglutinantes, tal como, por ejemplo, celulosa, celulosa microcristalina, almidón, gelatina o goma arábiga; y agentes lubricantes, tal como, por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Los comprimidos pueden ser no recubiertos o pueden estar recubiertos mediante técnicas conocidas, incluyendo microencapsulación, para retrasar la disgregación y la adsorción en el tracto gastrointestinal y proporcionar así una acción sostenida durante un período más largo. Por ejemplo, se puede

emplear un material de retraso temporal tal como, por ejemplo, monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo, solo o con una cera.

Las formulaciones para uso oral también pueden presentarse como cápsulas de gelatina dura, donde el principio activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda, en las que el principio activo se mezcla con agua o un medio oleoso, tal como, por ejemplo, aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

Las suspensiones acuosas descritas en el presente documento contienen los principios activos en premezcla con excipientes adecuados para fabricar suspensiones acuosas. Dichos excipientes incluyen un agente de suspensión, tal como, por ejemplo, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma tragacanto y goma acacia, y agentes dispersantes o humectantes tales como, por ejemplo, un fosfátido de origen natural (por ejemplo, lecitina), un producto de condensación de un óxido de alquileno con un ácido graso (por ejemplo, estearato de polioxietileno), un producto de condensación de óxido de etileno con un alcohol alifático de cadena larga (por ejemplo, heptadecaetilenoxietanol), un producto de condensación de óxido de etileno con un éster parcial derivado de un ácido graso y un hexitol anhidro (por ejemplo, monooleato de polioxietilensorbitán). La suspensión acuosa también puede contener uno o más conservantes, tales como, por ejemplo, p-hidroxibenzoato de etilo o n-propilo, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes aromatizantes y uno o más agentes edulcorantes, tal como, por ejemplo, sacarosa o sacarina.

Las suspensiones oleosas pueden formularse suspendiendo al principio activo en un aceite vegetal, tal como, por ejemplo, aceite de maní, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco, o en un aceite mineral tal como, por ejemplo, parafina líquida. Las suspensiones orales pueden contener un agente espesante, tal como, por ejemplo, cera de abejas, parafina dura o alcohol cetílico. Agentes edulcorantes, tal como, por ejemplo, los mostrados anteriormente y agentes saborizantes para proporcionar una preparación oral más sabrosa. Estas composiciones pueden conservarse mediante la adición de un antioxidante tal como, por ejemplo, ácido ascórbico.

Los polvos y gránulos dispersables descritos en el presente documento, adecuados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua proporcionan el principio activo mezclado con un agente dispersante o humectante, un agente de suspensión y uno o más conservantes. Los agentes de dispersión o humectantes adecuados y los agentes de suspensión se ejemplifican mediante los divulgados anteriormente. Excipientes adicionales, por ejemplo, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes y colorantes, también pueden estar presentes.

Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento también pueden estar en forma de emulsiones de aceite en agua. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal, tal como, por ejemplo, aceite de oliva o aceite de maní, un aceite mineral, tal como, por ejemplo, parafina líquida o una mezcla de estos. Los agentes emulsionantes adecuados incluyen gomas de origen natural, tal como, por ejemplo, goma arábiga y goma de tragacanto, fosfátidos de origen natural, tal como, por ejemplo, lecitina de haba de soja, ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, tal como, por ejemplo, monooleato de sorbitano y productos de condensación de estos ésteres parciales con óxido de etileno, tal como, por ejemplo, monooleato de polioxietilensorbitán. La emulsión también puede contener agentes edulcorantes y saborizantes. Los jarabes y elixires pueden formularse con agentes edulcorantes, tal como, por ejemplo, glicerol, sorbitol o sacarosa. Tales formulaciones también pueden contener un demulcente, un conservante, un saborizante o un agente colorante.

Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden estar en la forma de una preparación inyectable estéril, tal como, por ejemplo, una suspensión acuosa u oleaginosa inyectable estéril. Esta suspensión puede formularse de acuerdo con la técnica conocida usando los agentes dispersantes o humectantes adecuados y los agentes de suspensión que se han mencionado anteriormente. La preparación inyectable estéril puede ser también una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable, tal como, por ejemplo, una solución en 1,3-butanodiol o prepararse como polvo liofilizado. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse están el agua, solución de Ringer y solución isotónica de cloruro de sodio. Además, pueden emplearse de manera convencional aceites no volátiles estériles como disolvente o medio de suspensión. Para este fin, puede emplearse cualquier aceite suave no volátil, incluyendo mono- o diglicéridos sintéticos. Además, en la preparación de inyectables pueden usarse asimismo ácidos grasos, tales como ácido oleico.

La cantidad de principio activo que puede combinarse con el material transportador para producir una forma farmacéutica unitaria variará dependiendo del hospedador tratado y del modo de administración particular. Por ejemplo, una formulación de liberación temporal prevista para la administración oral a seres humanos puede contener aproximadamente 1 a 1000 mg de material activo compuesto con una cantidad apropiada y conveniente de material transportador, que puede variar de aproximadamente el 5 a aproximadamente el 95 % de las composiciones totales (peso:peso). La composición farmacéutica puede prepararse para proporcionar cantidades fácilmente medibles para su administración. Por ejemplo, una solución acuosa prevista para la infusión intravenosa puede contener de aproximadamente 3 a 500 µg del principio activo por mililitro de solución, para que se pueda producir la infusión de un volumen adecuado a una velocidad de aproximadamente 30 ml/h.

Las formulaciones adecuadas para administración al ojo, incluyen gotas oculares, en las que el principio activo se disuelve o suspende en un transportador adecuado, en especial un disolvente acuoso para el principio activo. El principio activo está presente preferentemente en tales formulaciones en una concentración del 0,5 al 20 % p/p, ventajosamente del 0,5 al 10 %, particularmente aproximadamente el 1,5 % p/p.

5 Las formulaciones adecuadas para administración tópica en la boca incluyen pastillas para chupar que comprenden al principio activo en una base saborizada, normalmente sacarosa y goma arábica o tragacanto; pastillas que comprenden el principio activo en una base inerte, tal como, por ejemplo, gelatina y glicerina o sacarosa y goma arábica; y enjuagues bucales que comprenden el principio activo en un vehículo líquido adecuado.

10 Las formulaciones para administración rectal pueden presentarse como un supositorio con una base adecuada que comprenda, por ejemplo, manteca de cacao o un salicilato.

15 Las formulaciones adecuadas para administración intrapulmonar o nasal tienen un tamaño de partícula por ejemplo en el intervalo de 0,1 a 500 micrómetros (incluyendo tamaños de partícula en un intervalo entre 0,1 y 500 micrómetros en incrementos de micrómetros, tales como, por ejemplo, 0,5, 1, 30 micrómetros, 35 micrómetros, etc.), que se administran por inhalación rápida a través de las fosas nasales o mediante inhalación a través de la boca, de forma que alcance los sacos alveolares. Las formulaciones adecuadas incluyen soluciones acuosas u oleosas del principio activo. Las formulaciones adecuadas para la administración de aerosol o de polvo seco pueden prepararse de acuerdo con métodos convencionales y pueden administrarse con otros agentes terapéuticos tales como, por ejemplo, Compuestos hasta ahora utilizados en el tratamiento o profilaxis de afecciones asociadas con la actividad de HCV.

25 Las formulaciones adecuadas para administración vaginal se pueden presentar como pesarios, agentes tamponantes, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones en pulverización que contienen, además del principio activo, los transportadores que en la técnica se sabe que son apropiados.

30 Las formulaciones adecuadas para administración parenteral incluyen soluciones para inyección estéril acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hagan que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor previsto; y suspensiones acuosas y no acuosas estériles que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes.

35 Las formulaciones se presentan en envases de dosis individual o de multidosis, por ejemplo, ampollas selladas y viales, y pueden almacenarse en estado criodesecado (lío filizado) que requiere únicamente la adición del transportador líquido estéril, por ejemplo agua para inyección, inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y suspensiones de inyección extemporánea se preparan a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos del tipo descrito anteriormente. Las formulaciones de dosificación individual preferentes son las que contienen una dosis diaria o una subdosis diaria unitaria, tal como se ha citado anteriormente en el presente documento o una fracción adecuada de la misma, del principio activo.

40 Debe entenderse que además de los ingredientes mencionados concretamente con anterioridad, las formulaciones de esta divulgación pueden incluir otros agentes que, en la técnica, se relacionan convencionalmente con el tipo de formulación en cuestión, por ejemplo, los adecuados para la administración oral pueden incluir agentes saborizantes.

45 La divulgación proporciona además composiciones veterinarias que comprenden al menos un principio activo como se ha definido anteriormente junto con un portador, debido a ello.

50 Vehículos veterinarios son materiales útiles para el fin de administrar la composición y pueden ser materiales sólidos, líquidos o gaseosos que, de otro modo, son inertes o aceptables en la técnica veterinaria y son compatibles con el ingrediente activo. Estas composiciones veterinarias pueden administrarse por vía oral, parenteral o mediante cualquier otra vía deseada.

55 Los compuestos descritos en el presente documento también pueden formularse para proporcionar una liberación controlada del principio activo, para permitir una dosificación menos frecuente, o para mejorar el perfil farmacocinético o de toxicidad del principio activo. Por consiguiente, la divulgación también proporciona composiciones que comprenden uno o más compuestos descritos en el presente documento formulados para liberación sostenida o controlada.

60 La dosis eficaz de un principio activo depende al menos de la naturaleza de la afección que se está tratando, la toxicidad, de si los compuestos están o no usándose de forma profiláctica (dosis menores), el método de suministro y la formulación farmacéutica, y la determinará el médico clínico usando estudios convencionales de escalado de dosis.

65 En una realización, el principio activo (es decir, uno o más compuestos tal como se describen en el presente documento) o la composición farmacéutica que comprende el principio activo son eficaces en el tratamiento de uno o más de sujetos infectados por el genotipo 1 del VHC, sujetos infectados por el genotipo 2 del VHC, sujetos

- infectados por el genotipo 3 del VHC, sujetos infectados por el genotipo 4 del VHC, sujetos infectados por el genotipo 5 del VHC y/o sujetos infectados por el genotipo 6 del VHC. En una realización, el principio activo o la composición farmacéutica que comprende el principio activo son eficaces en el tratamiento de sujetos infectados por el genotipo 1 del VHC, incluyendo el genotipo 1a y/o el genotipo 1b. En otra realización, el principio activo o la composición farmacéutica que comprende el principio activo son eficaces en el tratamiento de sujetos infectados por el genotipo 2 del VHC, incluyendo el genotipo 2a, el genotipo 2b, el genotipo 2c y/o el genotipo 2d. En otra realización, el principio activo o la composición farmacéutica que comprende el principio activo son eficaces en el tratamiento de sujetos infectados por el genotipo 3 del VHC, incluyendo el genotipo 3a, el genotipo 3b, el genotipo 3c, el genotipo 3d, el genotipo 3e y/o el genotipo 3f. En otra realización, el principio activo o la composición farmacéutica que comprende el principio activo son eficaces en el tratamiento de sujetos infectados por el genotipo 4 del VHC, incluyendo el genotipo 4a, el genotipo 4b, el genotipo 4c, el genotipo 4d, el genotipo 4e, el genotipo 4f, el genotipo 4g, el genotipo 4h, el genotipo 4i y/o el genotipo 4j. En otra realización, el principio activo o la composición farmacéutica que comprende el principio activo son eficaces en el tratamiento de sujetos infectados por el genotipo 5 del VHC, incluyendo el genotipo 5a. En otra realización, el principio activo o la composición farmacéutica que comprende el principio activo son eficaces en el tratamiento de sujetos infectados por el genotipo 6 del VHC, incluyendo el genotipo 6a. En una realización, el principio activo o la composición farmacéutica que comprende el principio activo son pangenotípicos, lo que significa que son útiles en todos los genotipos y mutantes farmacorresistentes de los mismos.
- En algunas realizaciones, el principio activo o la composición farmacéutica que comprende el principio activo se administra, bien por separado o en combinación con uno o más agentes terapéuticos para el tratamiento del VHC (tal como un inhibidor de la proteasa NS3 del VHC o un inhibidor de la polimerasa NS5B del VHC), durante aproximadamente 24 semanas, durante aproximadamente 16 semanas o durante aproximadamente 12 semanas o menos. En realizaciones adicionales, el principio activo o la composición farmacéutica que comprende el principio activo se administra, bien por separado o en combinación con uno o más agentes terapéuticos para el tratamiento del VHC (tal como un inhibidor de la proteasa NS3 del VHC o un inhibidor de la polimerasa NS5B del VHC), durante aproximadamente 24 semanas o menos, aproximadamente 22 semanas o menos, aproximadamente 20 semanas o menos, aproximadamente 18 semanas o menos, aproximadamente 16 semanas o menos, aproximadamente 12 semanas o menos, aproximadamente 10 semanas o menos, aproximadamente 8 semanas o menos, o aproximadamente 6 semanas o menos o aproximadamente 4 semanas o menos. El principio activo o la composición farmacéutica que comprende el principio activo se puede administrar una vez al día, dos veces al día, una vez cada dos días, dos veces a la semana, tres veces a la semana, cuatro veces a la semana o cinco veces a la semana.
- En realizaciones adicionales, se logra una respuesta virológica sostenida a aproximadamente 4 semanas, 6 semanas, 8 semanas, 12 semanas, o 16 semanas, o a aproximadamente 20 semanas, o a aproximadamente 24 semanas, o a aproximadamente 4 meses, o a aproximadamente 5 meses, o a aproximadamente 6 meses, o a aproximadamente 1 año o a aproximadamente 2 años.
- En algunas realizaciones, el principio activo o la composición farmacéutica que comprende el principio activo se administra, bien solo o en combinación con uno o más agentes terapéuticos para el tratamiento del VHC, una vez al día durante aproximadamente 12 semanas o menos a un paciente infectado por un virus de la hepatitis C de genotipo 1, 2, 3, 4, 5 o 6. En algunas realizaciones, el principio activo o la composición farmacéutica que comprende el principio activo se administra, bien solo o en combinación con uno o más agentes terapéuticos para el tratamiento del VHC, una vez al día durante aproximadamente 12 semanas o menos a un paciente infectado por un virus de la hepatitis C de genotipo 1a, 1b, 2a, 2b, 2c, 2d, 3a, 3b, 3c, 3d, 3e, 3f, 4a, 4b, 4c, 4d, 4e, 4f, 4g, 4h, 4i, 5a o 6a.
- En algunas realizaciones, el principio activo o la composición farmacéutica que comprende el principio activo se administra, bien solo o en combinación con uno o más agentes terapéuticos para el tratamiento del VHC, una vez al día durante aproximadamente 8 semanas o menos a un paciente infectado por un virus de la hepatitis C de genotipo 1, 2, 3, 4, 5 o 6. En algunas realizaciones, el principio activo o la composición farmacéutica que comprende el principio activo se administra, bien solo o en combinación con uno o más agentes terapéuticos para el tratamiento del VHC, una vez al día durante aproximadamente 8 semanas o menos a un paciente infectado por un virus de la hepatitis C de genotipo 1a, 1b, 2a, 2b, 2c, 2d, 3a, 3b, 3c, 3d, 3e, 3f, 4a, 4b, 4c, 4d, 4e, 4f, 4g, 4h, 4i, 5a o 6a.
- En algunas realizaciones, el principio activo o la composición farmacéutica que comprende el principio activo se administra, bien solo o en combinación con uno o más agentes terapéuticos para el tratamiento del VHC, una vez al día durante aproximadamente 6 semanas o menos a un paciente infectado por un virus de la hepatitis C de genotipo 1, 2, 3, 4, 5 o 6. En algunas realizaciones, el principio activo o la composición farmacéutica que comprende el principio activo se administra, bien solo o en combinación con uno o más agentes terapéuticos para el tratamiento del VHC, una vez al día durante aproximadamente 6 semanas o menos a un paciente infectado por un virus de la hepatitis C de genotipo 1a, 1b, 2a, 2b, 2c, 2d, 3a, 3b, 3c, 3d, 3e, 3f, 4a, 4b, 4c, 4d, 4e, 4f, 4g, 4h, 4i, 5a o 6a.

#### Vías de administración

- Uno o más compuestos descritos en el presente documento (denominados en el presente documento como los principios activos) se administran mediante cualquier vía apropiada para la afección que se va a tratar. Las rutas

adecuadas incluyen oral, rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal y sublingual), vaginal y parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa, intradérmica, intratecal y epidural), y similares. Se apreciará que la ruta preferida puede variar, por ejemplo, con la afección del receptor. Una ventaja de los compuestos de la presente divulgación es que son biodisponibles por vía oral y que pueden dosificarse por vía oral.

5

### Terapia combinada para VHC

En otra realización, los ejemplos no limitativos de combinaciones adecuadas incluyen combinaciones de uno o más compuestos de fórmula (I), (II), y (A1-A6) con uno o más interferones, ribavirina o sus análogos, inhibidores de la proteasa NS3 del VHC, inhibidores de la alfa-glucosidasa 1, hepatoprotectores, inhibidores nucleósidos o nucleótidos de la polimerasa NS5B del VHC, inhibidores no nucleósidos de la polimerasa NS5B del VHC, inhibidores de NS5A del VHC, agonistas de TLR-7, inhibidores de ciclofilina, inhibidores de IRES del VHC, potenciadores farmacocinéticos y otros fármacos o agentes terapéuticos para el tratamiento del VHC.

Más específicamente, uno o más compuestos de la presente invención tal como se describen en el presente documento pueden combinarse con uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en

1) interferones, por ejemplo, rIFN-alfa 2b pegilado (PEG-Intron®), rIFN-alfa 2a pegilado (Pegasys®), rIFN-alfa 2b (Intron® A), rIFN-alfa 2a (Roferon®-A), interferón alfa (MOR-22, OPC-18, Alfaferone®, Alfanative®, Multiferon®, subalina), interferón alfacon-1 (Infergen®), interferón alfa-n1 (Wellferon), interferón alfa-n3 (Alferon®), interferón-beta (Avonex®, DL-8234), interferón-omega (omega DUROS®, Biomed® 510), albinterferón alfa-2b (Albupheron®), IFN alfa-2b XL, BLX-883 (Locteron®), DA-3021, interferón alfa-2b glucosilado (AVI-005), PEG-Infergen, interferón lambda-1 PEGilado (IL-29 PEGilada) y beleroferon®;

2) ribavirina y sus análogos, por ejemplo, ribavirina (Rebetol®, Copegus®), y taribavirina (Viramidine®);

3) inhibidores de la proteasa NS3 del VHC, por ejemplo, boceprevir (SCH-503034, SCH-7), telaprevir (VX-950), TMC435350, BI-1335, BI-1230, MK-7009, VBY-376, VX-500, GS-9256, GS-9451, BMS-605339, PHX-1766, AS-101, YH-5258, YH5530, YH5531, ABT-450, ACH-1625, ITMN-191, AT26893, MK5172, MK6325 y MK2748;

4) inhibidores de la alfa-glucosidasa 1, por ejemplo, celgosivir (MX-3253), Miglitol, y UT-231B;

5) hepatoprotectores, por ejemplo, emericanan (IDN-6556), ME-3738, GS-9450 (LB-84451), silibilina, y MitoQ;

6) inhibidores nucleósidos o nucleótidos de la polimerasa NS5B del VHC, por ejemplo, R1626, R7128 (R4048), IDX184, IDX-102, BCX-4678, valopicitabina (NM-283), MK-0608, sofosbuvir (GS-7977 (anteriormente PSI-7977)), VLX-135 (anteriormente ALS-2200), y INX-189 (ahora BMS986094);

7) inhibidores no nucleósidos de la polimerasa NS5B del VHC, por ejemplo, PF-868554, VCH-759, VCH-916, JTK-652, MK-3281, GS-9190, VBY-708, VCH-222, A848837, ANA-598, GL60667, GL59728, A-63890, A-48773, A-48547, BC-2329, VCH-796 (nesbuvir), GSK625433, BILN-1941, XTL-2125, ABT-072, ABT-333, GS-9669, PSI-7792 y GS-9190;

8) inhibidores de NS5A del VHC, por ejemplo, AZD-2836 (A-831), BMS-790052, ACH-3102, ACH-2928, MK8325, MK4882, MK8742, PSI-461, IDX719, GS-5885 y A-689;

9) agonistas de TLR-7, por ejemplo, imiquimod, 852A, GS-9524, ANA-773, ANA-975 (isatoribina), AZD-8848 (DSP-3025), y SM-360320;

10) inhibidores de ciclofilina, por ejemplo, DEBIO-025, SCY-635 y NIM811;

11) inhibidores del IRES del VHC, por ejemplo, MCI-067;

12) potenciadores farmacocinéticos, por ejemplo, BAS-100, SPI-452, PF-4194477, TMC-41629, GS-9350 (cobicistat), GS-9585, y roxitromicina; y

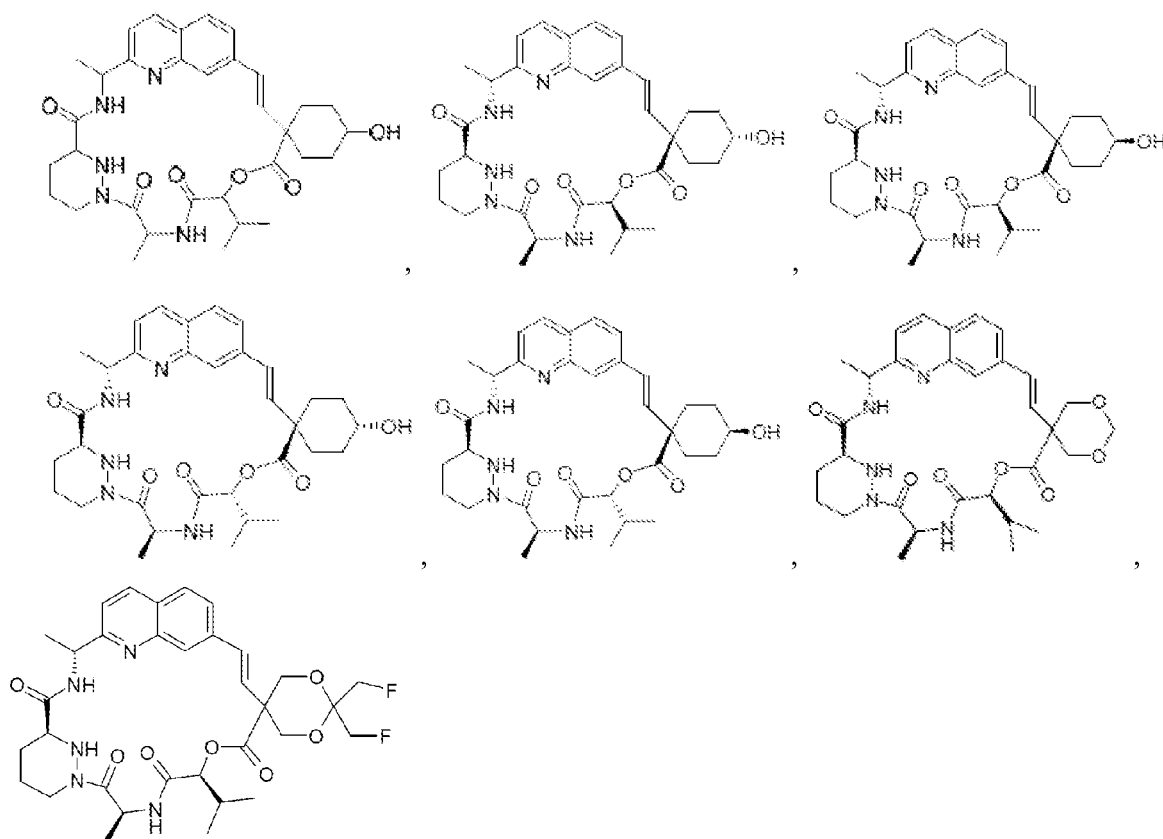
13) otros fármacos para el tratamiento del VHC, por ejemplo, timosina alfa 1 (Zadaxin), nitazoxanida (Alinea, NTZ), BIVN-401 (virostat), PYN-17 (altirex), KPE02003002, actilón (CPG-10101), GS-9525, KRN-7000, civacir, GI-5005, XTL-6865, BIT225, PTX-111, ITX2865, TT-033i, ANA 971, NOV-205, tarvacin, EHC-18, VGX-410C, EMZ-702, AVI 4065, BMS-650032, BMS-791325, Bavituximab, MDX-1106 (ONO-4538), Oglufanida y VX-497 (merimepodib).

En otra realización más, la presente solicitud desvela composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto tal como se describe en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato y/o éster del mismo, en combinación con al menos un agente terapéutico adicional y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Más específicamente, el agente terapéutico adicional se puede combinar con uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en inhibidores no nucleósidos de la polimerasa NS5B del VHC (ABT-072 y ABT-333), inhibidores de NS5A del VHC (ACH-3102 y ACH-2928) e inhibidores de la proteasa NS3 del VHC (ABT-450 y ACH-125).

En otra realización, el agente terapéutico usado en combinación con las composiciones farmacéuticas tal como se describe en el presente documento puede ser cualquier agente que tiene un efecto terapéutico cuando se usa en combinación con las composiciones farmacéuticas tal como se describe en el presente documento. Por ejemplo, el agente terapéutico usado con las composiciones farmacéuticas tal como se describe en el presente documento puede ser interferones, análogos de ribavirina, inhibidores de la proteasa NS3, inhibidores de polimerasa NS5B, inhibidores de la alfa-glucosidasa 1, hepatoprotectores, inhibidores no nucleósidos del VHC y otros fármacos para el tratamiento del VHC.

En otra realización, el agente terapéutico adicional usado con las composiciones farmacéuticas como se describe en el presente documento es un inhibidor de ciclofilina, incluyendo, por ejemplo, un inhibidor de ciclofilina desvelado en el documento WO/2013/185093. Los ejemplos no limitantes incluyen una o más composiciones seleccionadas del grupo que consiste en:



y estereoisómeros y mezclas de estereoisómeros de los mismos.

En otra realización, el agente terapéutico adicional usado con las composiciones farmacéuticas tal como se describe en el presente documento es un inhibidor no nucleósido de la polimerasa NS5B del VHC. Un ejemplo no limitante incluye GS-9669.

Los ejemplos de agentes anti-VHC adicionales que se pueden combinar con las composiciones proporcionadas en el presente documento incluyen, sin limitación, los siguientes:

A. interferones, por ejemplo, rIFN-alfa 2b pegilado (PEG-Intron), rIFN-alfa 2a pegilado (Pegasys), rIFN-alfa 2b (Intron A), rIFN-alfa 2a (Roferon-A), interferón alfa (MOR-22, OPC-18, Alfaferona, Alfaferona, Multiféron, subalin), interferón alfacon-1 (Infergen), interferón alfa-n1 (Wellferon), interferón alfa-n3 (Alferon), interferón-beta (Avonex, DL-8234), interferón-omega (omega DUROS, Biomed 510), albinterferón alfa-2b (Albuzeron), IFN alfa XE, BEX-883 (Locteron), DA-3021, interferón alfa-2b glucosilado (AVI-005), PEG-Infergen, interferón lambda PEGilado (IL-29 PEGilado), o belerofon, IFN alfa-2b XL, rIFN-alfa 2a, IFN alfa consenso, infergen, rebif, IFN-beta pegilado,

interferón alfa oral, feferon, reaferon, intermax alfa, r-IFN-beta, e infergen + actimmuneribavirina y análogos de ribavirina, por ejemplo, rebetol, Copegus, VX-497, y viramidina (taribavirina);

B. inhibidores de NS5A, por ejemplo, Compuesto B (descrito a continuación), Compuesto C (descrito a continuación), ABT-267, Compuesto D (descrito a continuación), JNJ-47910382, daclatasvir (BMS-790052), ABT-267, MK-8742, EDP-239, IDX-719, PPI-668, GSK-2336805, ACH-3102, A-831, A-689, AZD-2836 (A-831), AZD-7295 (A-689), y BMS-790052;

C. inhibidores de polimerasa NS5B, por ejemplo, Compuesto E (descrito a continuación), Compuesto F (descrito a continuación), ABT-333, Compuesto G (descrito a continuación), ABT-072, Compuesto H (descrito a continuación), tegobuvir (GS-9190), GS-9669, TMC647055, setrobuvir (ANA-598), filibuvir (PF-868554), VX-222, IDX-375, IDX-184, IDX-102, BI-207127, valopicitabina (NM-283), PSI-6130 (R1656), PSI-7851, BCX-4678, nesbuvir (HCV-796), BILB 1941, MK-0608, NM-107, R7128, VCH-759, GSK625433, XTL-2125, VCH-916, JTK-652, MK-3281, VBY-708, A848837, GL59728, A-63890, A-48773, A-48547, BC-2329, BMS-791325 y BILB-1941;

D. inhibidores de la proteasa NS3, por ejemplo, el Compuesto I, Compuesto J, Compuesto K, ABT-450, Compuesto L (descrito a continuación), simprevir (TMC-435), boceprevir (SCH-503034), narlaprevir (SCH-900518), vaniprevir (MK-7009), MK-5172, danoprevir (ITMN-191), sovalprevir (ACH-1625), neceprevir (ACH-2684), Telaprevir (VX-950), VX-813, VX-500, faldaprevir (BI-201335), asunaprevir (BMS-650032), BMS-605339, VBY-376, PHX-1766, YH5531, BILN-2065 y BILN-2061;

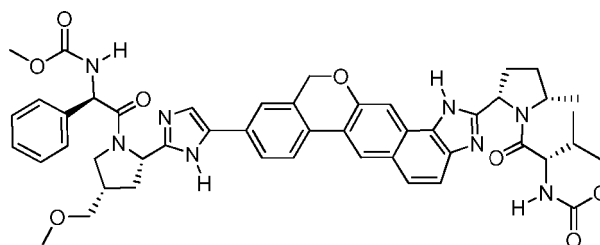
E. inhibidores de la alfa-glucosidasa 1, por ejemplo, celgosivir (MX-3253), Miglitol, y UT-231B;

F. hepatoprotectores, por ejemplo, IDN-6556, ME 3738, MitoQ y LB-84451;

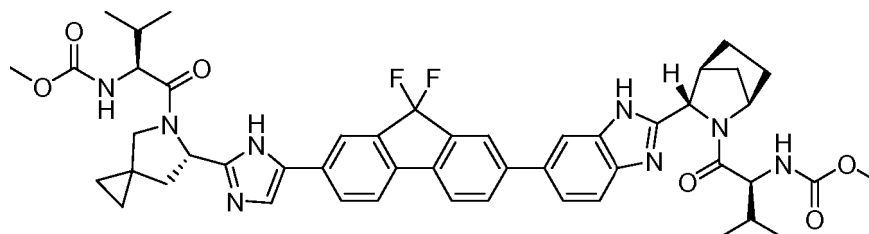
G. inhibidores no nucleósidos de VHC, por ejemplo, derivados de benzoimidazol, derivados de benzo-1,2,4-tiadiazina, y derivados de fenilalanina; y

H. otros agentes anti-VHC, por ejemplo, zadaxin, nitazoxanida (alea), BIVN-401 (virostat), DEBIO-025, VGX-410C, EMZ-702, AVI 4065, bavituximab, oglufanida, PYN-17, KPE02003002, actilón (CPG-10101), KRN-7000, civacir, GI-5005, ANA-975, XTL-6865, ANA 971, NOV-205, tarvacin, EHC-18 y NIM811.

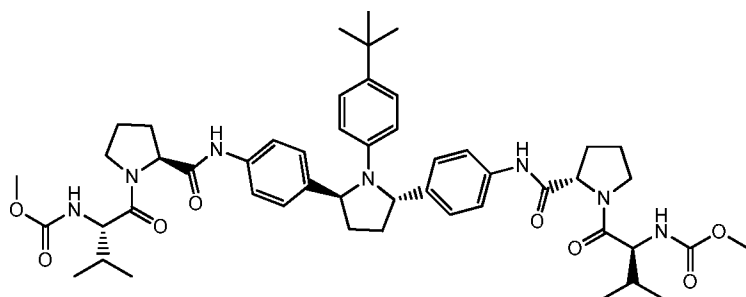
El Compuesto B es un inhibidor de NS5A y se representa por la siguiente estructura química:



El Compuesto C ("ledipasvir") es un inhibidor de NS5A y se representa mediante la siguiente estructura química:

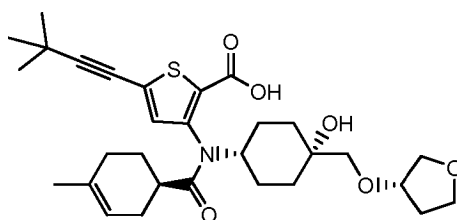


El Compuesto D es un inhibidor de NS5A y se representa por la siguiente estructura química:

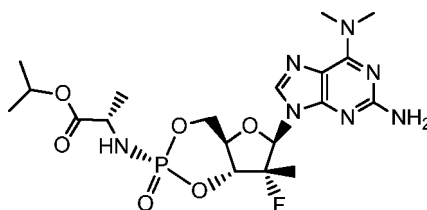


Véase la Publicación de Estados Unidos n.º 2013/0102525 y referencias en la misma.

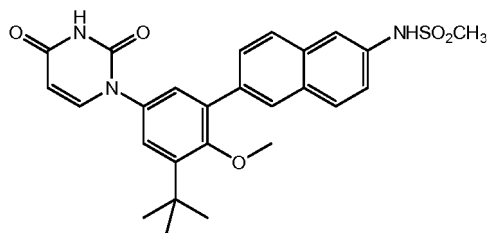
- 5 El Compuesto E es un inhibidor de NS5B Thumb II polimerasa y se representa por la siguiente estructura química:



- 10 El Compuesto F es un profármaco inhibidor nucleotídico diseñado para inhibir la replicación de ARN vírico por la NS5B polimerasa del VHC, y se representa por la siguiente estructura química:

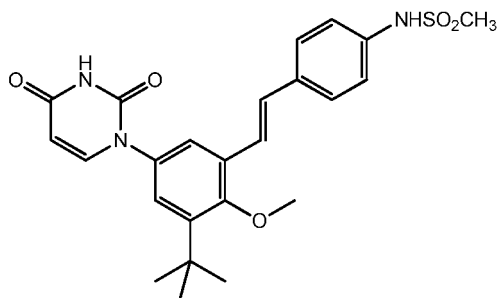


- 15 El Compuesto G es un inhibidor de polimerasa del VHC y se representa por la siguiente estructura:



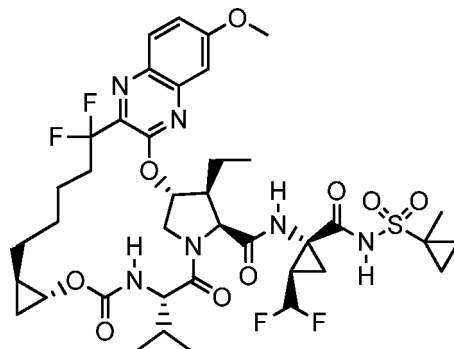
Véase la Publicación de Estados Unidos n.º 2013/0102525 y referencias en la misma.

- 20 El Compuesto H es un inhibidor de polimerasa del VHC y se representa por la siguiente estructura:



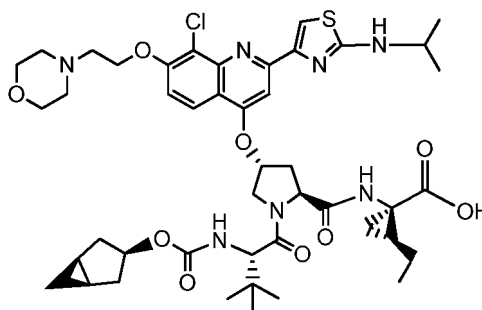
Véase la Publicación de Estados Unidos n.º 2013/0102525 y referencias en la misma.

El Compuesto I es un inhibidor de proteasa del VHC y se representa por la siguiente estructura química:



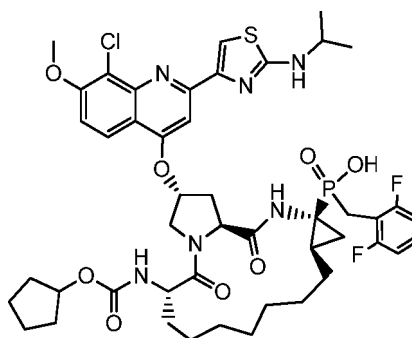
5 Véase el documento WO 2014/008285, presentado el 2 de julio de 2013, y referencias a la misma.

El Compuesto J es un inhibidor de proteasa del VHC y se representa por la siguiente estructura química:



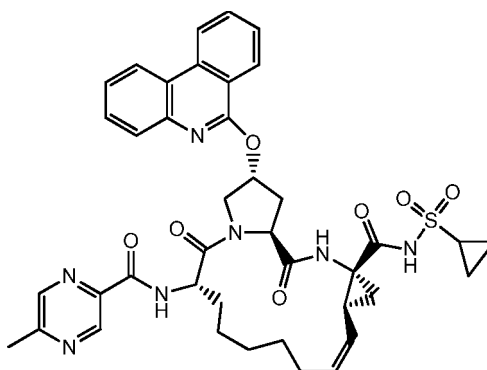
10

El Compuesto K es un inhibidor de proteasa del VHC y se representa por la siguiente estructura química:



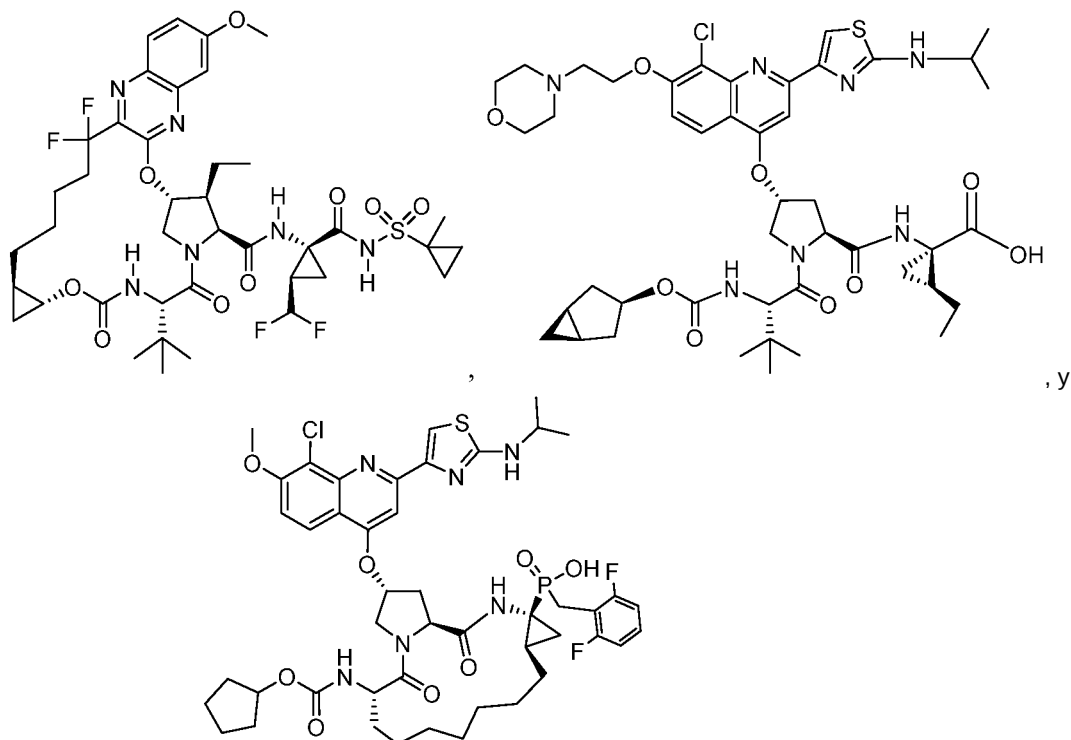
15

El Compuesto L es un inhibidor de proteasa del VHC y se representa por la siguiente estructura química:



Véase la Publicación de Estados Unidos n.º 2013/0102525 y referencias en la misma.

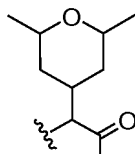
En una realización, el agente terapéutico adicional usado con las composiciones farmacéuticas como se describe en el presente documento es un inhibidor de NS3 proteasa del VHC. Los ejemplos no limitantes incluyen uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en:



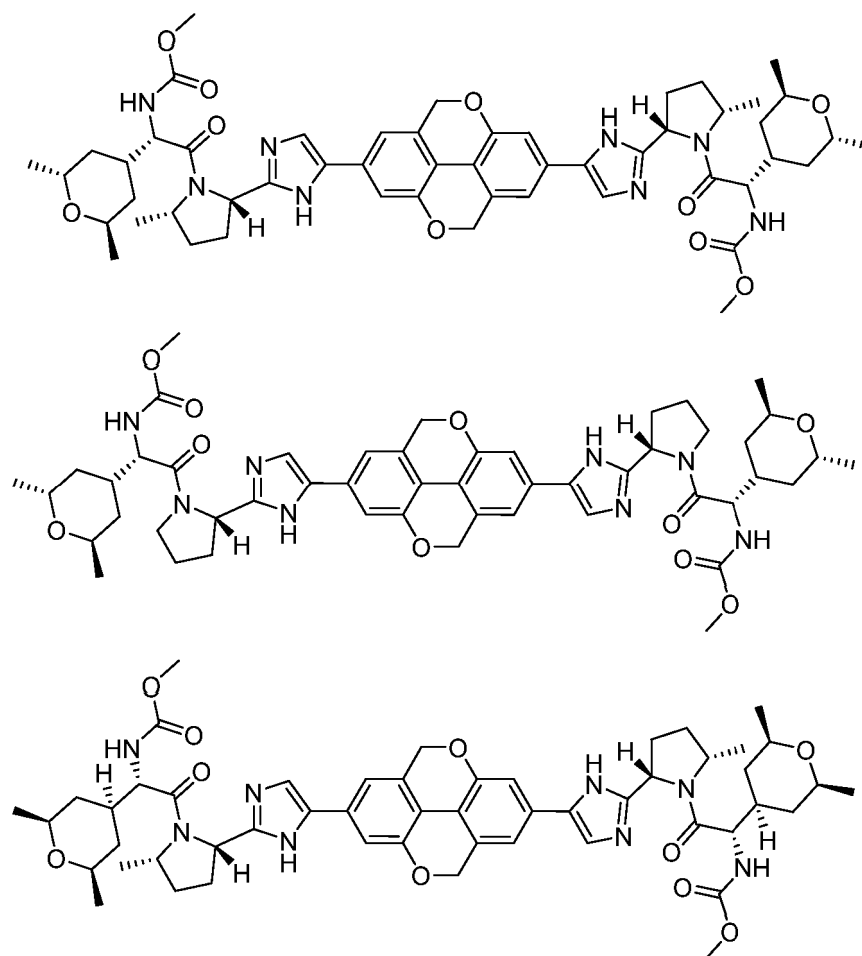
En otra realización, la presente solicitud proporciona un procedimiento para tratar la hepatitis C en un paciente humano que lo necesite que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica tal como se describe en el presente documento y un agente terapéutico adicional seleccionado del grupo que consiste en rIFN-alfa 2b pegilado, rIFN-alfa 2a pegilado, rIFN-alfa 2b, IFN alfa-2b XL, rIFN-alfa 2a, IFN alfa consenso, interferon, rebif, locteron, AVI-005, PEG-interferon, IFN-beta pegilado, interferón alfa oral, feron, reaferon, intermax alfa, r-IFN-beta, interferon + actimmune, IFN-omega con DUROS, albuferon, rebetol, Copegus, levovirina, VX-497, viramidina (taribavirina), A-831, A-689, NM-283, valopicitabina, R1626, PSI-6130 (R1656), HCV-796, BILB 1941, MK-0608, NM-107, R7128, VCH-759, PF-868554, GSK625433, XTL-2125, SCH-503034 (SCH-7), VX-950 (Telaprevir), ITMN-191 y BILN-2065, MX-3253 (celgosivir), UT-231B, IDN-6556, ME 3738, MitoQ y LB-84451, derivados de benzoimidazol, derivados de la benzo-1,2,4-tiadiazina y derivados de la fenilalanina, zadaxin, nitazoxanida (alinea), BIVN-401 (virostat), DEBIO-025, VGX-410C, EMZ-702, AVI 4065, bavixumab, oclufanida, PYN-17, KPE02003002, actilón (CPG-10101), KRN-7000, civacir, GI-5005, ANA-975 (isatoribina), XTL-6865, ANA 971, NOV-205, tarvacin, EHC-18 y NIM811 y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

En otra realización se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) tal como se describe en el presente documento y sofosbuvir y/o Compuesto C y/o compuesto B y opcionalmente un interferón o ribavirina.

Se contempla que los agentes terapéuticos adicionales se administren de una forma que se conoce en la materia y la dosificación se puede seleccionar por alguien experto en la materia. Por ejemplo, los agentes terapéuticos adicionales se pueden administrar en una dosis de aproximadamente 0,01 miligramos a aproximadamente 2 gramos por día.



En una realización, la divulgación proporciona un compuesto de fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 La divulgación se ilustrará ahora mediante los siguientes Ejemplos. Las abreviaturas siguientes se usan a través de toda la memoria descriptiva, que incluye los Ejemplos.

|                  |                                        |
|------------------|----------------------------------------|
| %F               | % Biodisponibilidad                    |
| °C               | Grado Celsius                          |
| Ac               | Acetato                                |
| aprox.           | Aproximado                             |
| ABC              | Área bajo la curva                     |
| Bn               | Bencilo                                |
| BOC/Boc          | terc-Butoxicarbonilo                   |
| a                | Ancho                                  |
| calc.            | Calculado                              |
| CC <sub>50</sub> | Concentración de citotoxicidad al 50 % |
| d                | Doblete                                |
| DCM              | Diclorometano                          |
| dd               | Doblete de dobletes                    |
| DIPEA            | N,N-Diisopropiletilamina               |
| DMEM             | Medio esencial mínimo de Eagle         |

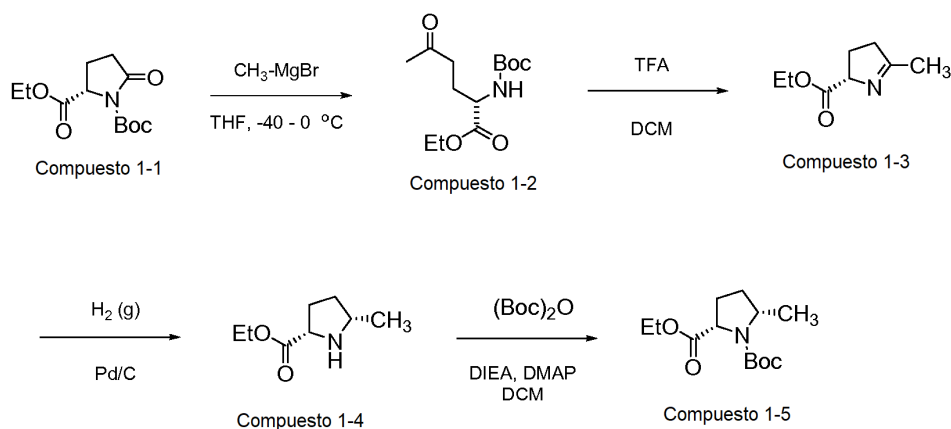
|                  |                                                                                        |
|------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| DMF              | Dimetilformamida                                                                       |
| DMSO             | Dimetilsulfóxido                                                                       |
| AE               | Acetato de etilo                                                                       |
| CE <sub>50</sub> | Concentración eficaz de mitad del máximo                                               |
| EDTA             | Ácido etilendiaminatetraacético                                                        |
| IEN              | Ionización por electronebulización                                                     |
| Et               | Etilo                                                                                  |
| FBS              | Suero fetal bovino                                                                     |
| g                | Gramo                                                                                  |
| HATU             | Hexafluorofosfato de 2-(1H-7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametil uronio metanamio |
| HPLC             | Cromatografía líquida de alto rendimiento                                              |
| hr/h             | Hora                                                                                   |
| Hz               | Hercio                                                                                 |
| i.d.             | diámetro interior                                                                      |
| IPAm             | Isopropilamina                                                                         |
| IV               | Intravenosa                                                                            |
| J                | Constante de acoplamiento                                                              |
| l                | Litro                                                                                  |
| CL               | Cromatografía líquida                                                                  |
| CLEM             | Espectrometría de masas cromatografía líquida                                          |
| M                | Molar                                                                                  |
| m                | Multiplete                                                                             |
| m/z              | Masa para cargar                                                                       |
| M+               | Pico de masa                                                                           |
| Me               | Metilo                                                                                 |
| mg               | Miligramo                                                                              |
| MHz              | Megahercio                                                                             |
| min              | Minuto                                                                                 |
| ml               | Mililitro                                                                              |
| mM               | Milimolar                                                                              |
| mm               | Milímetro                                                                              |
| mmol             | Milimol                                                                                |
| EM               | Espectrometría de masas                                                                |
| N                | Normal                                                                                 |
| NADPH            | Nicotinamida adenina dinucleotido fosfato                                              |
| nm               | Nanometro                                                                              |
| RMN              | Resonancia magnética nuclear                                                           |
| o/n              | Durante toda la noche                                                                  |

|          |                                              |
|----------|----------------------------------------------|
| Papp     | Permeabilidad aparente                       |
| PE       | Éster de petróleo                            |
| Ph       | Fenilo                                       |
| PBS      | Sistema tampón fosfato                       |
| Pd/C     | Paladio sobre carbono                        |
| PEG      | Polietilenglicol                             |
| Pt/C     | Platino sobre carbono                        |
| c        | Cuartete                                     |
| cuant    | Cuantitativo                                 |
| ta/TA    | Temperatura ambiente                         |
| S        | Singlete                                     |
| SFC      | Cromatografía de fluidos supercríticos       |
| S-Phos   | 2-Diciclohexilfosfino-2',6'-dimetoxibifenilo |
| t        | Triplete                                     |
| t-Bu     | terc-Butilo                                  |
| TEA      | Trietilamina                                 |
| Tf       | Trifluorometanosulfonato                     |
| TFA      | Ácido trifluoroacético                       |
| THF      | Tetrahidrofurano                             |
| TLC      | Cromatografía de capa fina                   |
| UV       | Ultravioleta                                 |
| p/p      | Peso a peso                                  |
| $\delta$ | Desplazamiento químico                       |
| $\mu$ l  | Microlitro                                   |
| $\mu$ m  | Micrómetro                                   |
| $\mu$ M  | Micromolar                                   |

## Ejemplos

## Ejemplo 1

5



**2-(terc-Butoxicarbonilamino)-5-oxohexanoato de (S)-etilo (Compuesto 1-2).**

Una solución de *N*-Boc (S)-piroglutamato de etilo (20,0 g, 77,7 mmol) (Compuesto 1-1) estaba en THF anhidro (150 ml) en un fondo redondo de dos cuellos en argón se enfrió a -40 °C. Se añadió una solución de bromuro de metilmagnesio (3,0 M en éter, 28,5 ml, 85,5 mmol) a la mezcla de reacción gota a gota durante 30 minutos. La reacción se agitó durante 4 h a -40 °C, después durante 1 h a 0 °C. La reacción se repartió entre acetato de etilo y una solución saturada de cloruro de amonio y se acidificó con HCl 1 N. La capa acuosa se extrajo dos veces más con acetato de etilo. Las capas orgánicas se combinaron y se secaron con sulfato sódico. El material en bruto se purificó por cromatografía en columna (EtOAc al 20 % - 40 %/hexanos) para producir 2-(terc-butoxicarbonilamino)-5-oxohexanoato de (S)-etilo en forma de un aceite viscoso y se usó directamente en la siguiente etapa.

**5-Metil-3,4-dihidro-2H-pirrol-2-carboxilato de (S)-etilo (Compuesto 1-3).**

Se trató 2-(terc-butoxicarbonilamino)-5-oxohexanoato de (S)-etilo en un matraz de 1 l con una solución de trifluoroácido acético/diclorometano (mezcla 1:1, 100 ml). Se observó efervescencia y la mezcla se dejó en agitación durante 4 horas a temperatura ambiente. Tiempo después del cual, los volátiles se retiraron *al vacío* para producir 5-metil-3,4-dihidro-2H-pirrol-2-carboxilato de (S)-etilo en forma de un aceite y se usó directamente en la siguiente etapa.

**5-Metilpirrolidin-2-carboxilato de (2S,5S)-etilo (Compuesto 1-4).**

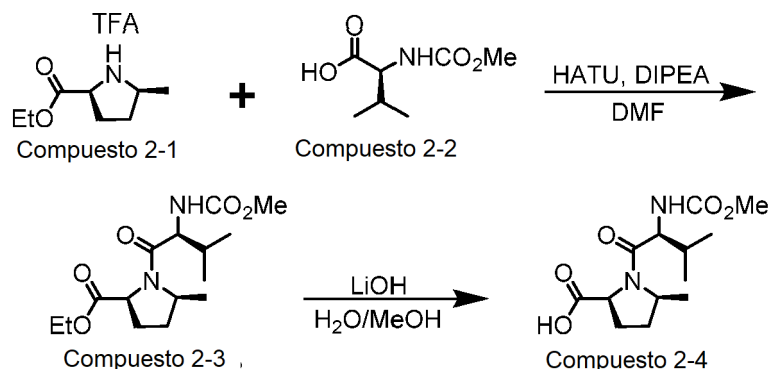
La imina en bruto 1-3 en un matraz de 1 l se disolvió con etanol (400 ml) se evacuó y se cargó con argón tres veces (3 x). Se añadió paladio sobre carbono (aprox. 750 mg, 10 % p/p, seco) y la reacción se evacuó de gas y se cargó con gas hidrógeno (3 x). La reacción se dejó en agitación en hidrógeno atmosférico durante 16 horas. La mezcla se filtró a través de un lecho de celite y el filtrado se concentró *al vacío*. Se añadió éter dietílico al aceite y se formó un precipitado. La mezcla se filtró para producir 5-metilpirrolidin-2-carboxilato de (2S,5S)-etilo, en forma de un sólido de color blanco (10,6 g, 67,4 mmol, 86,7 % durante tres etapas). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4,48 (dd, 1H), 4,27 (c, 2H), 3,92 - 3,80 (m, 1H), 2,52 - 2,36 (m, 1H), 2,32 - 2,13 (m, 2H), 1,75 - 1,60 (m, 1H), 1,51 (d, 3H), 1,30 (t, 3H).

**2-Etil 5-metilpirrolidin-1,2-dicarboxilato de (2S,5S)-1-terc-butilo (Compuesto 1-5).**

A una solución de 5-metilpirrolidin-2-carboxilato de (2S,5S)-etilo (7,0 g, 44,5 mmol) en diclorometano (250 ml), se le añadieron gota a gota sucesivamente diterc-butilanhídrido (10,7 g, 49,0 mmol), diisopropiletilamina (17,1 ml, 98,0 mmol) gota a gota durante 10 minutos y dimetil amino piridina (0,27 g, 2,23 mmol). Se observó efervescencia y la mezcla se dejó en agitación durante 16 horas a temperatura ambiente. La reacción se lavó con HCl (250 ml de 1 N). Después, la capa orgánica se secó con sulfato sódico. El material en bruto se purificó por cromatografía en columna (EtOAc al 5 % - 25 %/hexanos) para producir 2-etil 5-metilpirrolidin-1,2-dicarboxilato de (2S,5S)-1-terc-butilo en forma de un aceite (6,46 g, 25,1 mmol, 56%). CLEM-IEN<sup>+</sup>: calc. para C<sub>13</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>4</sub>: 257,16 (M<sup>+</sup>); Encontrado: 258,70 (M+H<sup>+</sup>).

**Ácido (2S,5S)-1-(terc-butoxicarbonil)-5-metilpirrolidin-2-carboxílico (Compuesto 1-6).**

A una solución de 2-etil 5-metilpirrolidin-1,2-dicarboxilato de (2S,5S)-1-terc-butilo (6,46 g, 25,1 mmol) en etanol (20 ml) se le añadieron monohidrato de hidróxido de litio (2,11 g, 50,2 mmol) y agua desionizada (12 ml). La mezcla se dejó en agitación durante 16 horas, después se repartió entre acetato de etilo y una mezcla 1:1 de salmuera saturada y HCl 1 N. La capa acuosa se extrajo un tiempo adicional con acetato de etilo. Las capas orgánicas se combinaron, se secaron con sulfato sódico y el disolvente se retiró *al vacío* para producir ácido (2S,5S)-1-(terc-butoxicarbonil)-5-metilpirrolidin-2-carboxílico en forma de un sólido de color blanco (cuant.) y se usó directamente en la siguiente etapa.

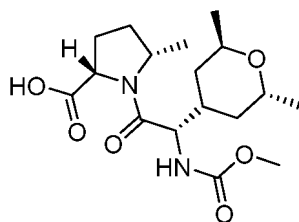
**Ejemplo de referencia 2**

**1-((S)-2-(metoxycarbonilamino)-3-metilbutanoil)-5-metilpirrolidin-2-carboxilato de (2S,5S)-etilo (Compuesto 2-3).**

Se combinaron 5-metilpirrolidin-2-carboxilato de (2S,5S)-etilo-TFA (10,0 g, 39,3 mmol) (Compuesto 2-1), ácido (S)-2-(metoxycarbonilamino)-3-metilbutanoico (6,88 g, 39,3 mmol) (Compuesto 2-2) y HATU (14,9 g, 39,3 mmol) en DMF (100 ml) y se añadió DIPEA (15,0 ml, 86,5 mmol). Después de agitar durante 1 h a TA, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc. La fase orgánica se lavó sucesivamente con HCl al 10 %, NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado y salmuera, después se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar 1-((S)-2-(metoxycarbonilamino)-3-metilbutanoil)-5-metilpirrolidin-2-carboxilato de (2S,5S)-etilo. El material en bruto se llevó a cabo sin purificación adicional.

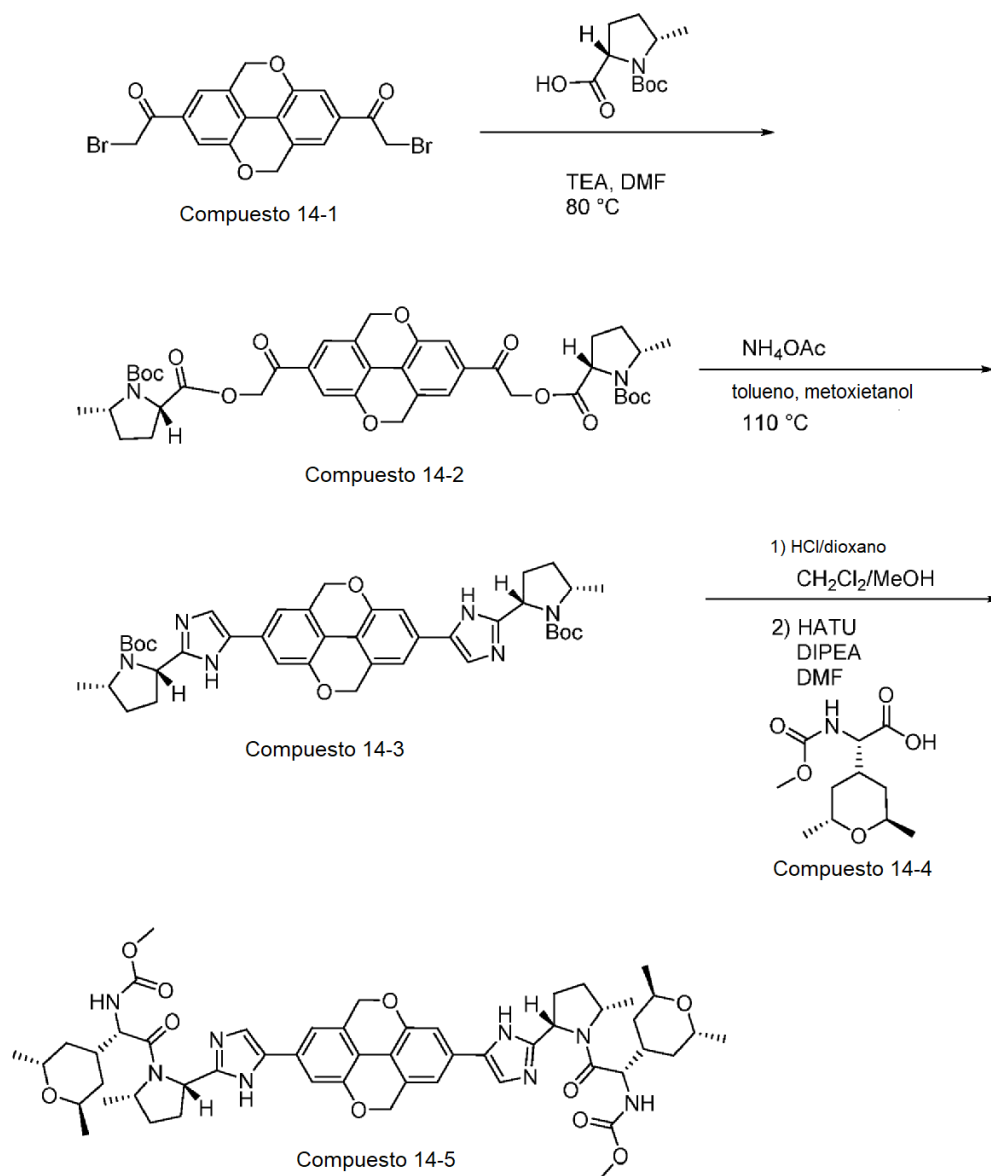
**Ácido (2S,5S)-1-((S)-2-(metoxycarbonilamino)-3-metilbutanoil)-5-metilpirrolidin-2-carboxílico (Compuesto 2-4).**

Se suspendió 1-((S)-2-(metoxycarbonilamino)-3-metilbutanoil)-5-metilpirrolidin-2-carboxilato de (2S,5S)-etilo (39,3 mmol, suponiendo una conversión completa de la transformación previa) en MeOH (200 ml) y se añadió LiOH acuoso (1,0 M, 100 ml, 100 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante toda la noche, después se concentró a presión reducida para retirar la mayoría del MeOH. La solución acuosa se lavó 2x con DCM antes de acidificarse a pH~1-2 con HCl al 10 %. Después, la fase acuosa ácida se extrajo 5x con EtOAc. Los extractos de EtOAc combinados se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar ácido (2S,5S)-1-((S)-2-(metoxycarbonilamino)-3-metilbutanoil)-5-metilpirrolidin-2-carboxílico (6,89 g, 56 % durante 2 etapas).

**Ejemplo 13****Ácido (2S,5S)-1-((S)-2-((2R,6R)-2,6-dimetiltetrahydro-2H-piran-4-il)-2-(metoxycarbonilamino)acetil)-5-metilpirrolidin-2-carboxílico (Compuesto 13)**

Se sintetizó ácido (2S,5S)-1-((S)-2-((2R,6R)-2,6-dimetiltetrahydro-2H-piran-4-il)-2-(metoxycarbonilamino)acetil)-5-metilpirrolidin-2-carboxílico de acuerdo con el método descrito en el Ejemplo 2 sustituyendo ácido (S)-2-(metoxycarbonilamino)-3-metilbutanoico con ácido (S)-2-((2R,6R)-2,6-dimetiltetrahydro-2H-piran-4-il)-2-(metoxycarbonilamino)acético. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, Cloroformo-d) δ 5,33 - 5,16 (m, 1H), 4,70 - 4,59 (m, 1H), 4,54 (t, 1H), 4,34 - 4,19 (m, 2H), 4,12 (c, 1H), 3,78 - 3,70 (m, 1H), 3,67 (s, 3H), 2,37 - 2,17 (m, 3H), 2,15 - 2,07 (m, 1H), 2,04 (s, 1H), 1,84 - 1,73 (m, 1H), 1,82 - 1,43 (m, 3H), 1,32 (d, 3H), 1,26 (d, 4H), 1,11 (d, 3H), 0,96 (c, 1H). CLEM-IEN+ calc. para C<sub>17</sub>H<sub>29</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>: 357,19; Encontrado: 357,08.

## Ejemplo 14



- 5 **'2,2-2,2'-(5,10-dihidrocromeno[5,4,3-cde]cromeno-2,7-diil)bis(2-oxoetano-2,1-diil) bis(5-metilpirrolidin-1,2-dicarboxilato) de (2S,2'R,5S,5'S)-1-terc-butilo (Compuesto 14-2).**

10 A una mezcla de 1,1-(5,10-dihidrocromeno[5,4,3-cde]cromeno-2,7-diil)bis(2-bromoetano) (1,6 g, 3,5 mmol) (Compuesto 14-1) y ácido (2S,5S)-1-(terc-butoxicarbonil)-5-metilpirrolidin-2-carboxílico (2,0 g, 8,8 mmol) en dimetilformamida (19,6 ml) se le añadió trietilamina (1,2 ml, 8,8 mmol). La solución se calentó a 80 °C en un baño de aceite externo durante 4 horas. Tras completarse, la mezcla de reacción se añadió lentamente a un matraz de agua agitada rápidamente. El precipitado que se formó se filtró a través de una frita de membrana de nailon y se secó al vacío para dar '2,2-2,2'-(5,10-dihidrocromeno[5,4,3-cde]cromeno-2,7-diil)bis(2-oxoetano-2,1-diil) bis(5-metilpirrolidin-1,2-dicarboxilato) de (2S,2'R,5S,5'S)-1-terc-butilo (2,44 g, 92 %) en forma de un sólido de color blanco. RMN <sup>1</sup>H (400

15 MHz, Cloroformo-*d*) δ 7,38 (s, 2H), 7,33 (s, 2H), 5,56 - 5,37 (m, 1H), 5,31 (s, 4H), 5,26 - 5,14 (m, 1H), 4,45 (d, J = 33,3 Hz, 2H), 4,00 (d, J = 45,2 Hz, 2H), 2,59 (s, OH), 2,30 (d, J = 7,8 Hz, 4H), 2,16 - 2,00 (m, 2H), 1,81 - 1,54 (m, 3H), 1,45 (d, J = 12,5 Hz, 18H), 1,31 (s, 6H).

- 20 **5,5'-(5,5'-(5,10-dihidrocromeno[5,4,3-cde]cromeno-2,7-diil)bis(1H-imidazol-5,2-diil))bis(2-metilpirrolidin-1-carboxilato) de (2S,2'S,5S,5'S)-1-terc-butilo (Compuesto 14-3).**

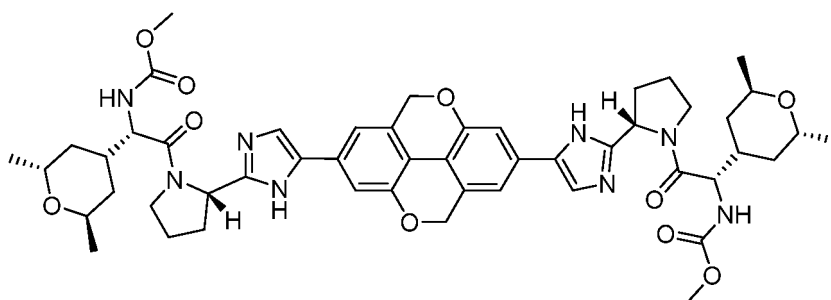
Una mezcla de '2,2-2,2'-(5,10-dihidrocromeno[5,4,3-cde]cromeno-2,7-diil)bis(2-oxoetano-2,1-diil)bis(5-metilpirrolidin-1,2-dicarboxilato) de (2S,2'R,5S,5'S)-1-terc-butilo (2,44 g, 3,25 mmol) y acetato amónico (5,02 g, 65,169 mmol) se

suspendió en tolueno (32 ml) y metoxietanol (3,2 ml). La mezcla de reacción se calentó a 110 °C durante 18 horas, y después se enfrió a temperatura ambiente. El residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (sílice, metanol al 0-8 % en DCM) para dar 5,5'-(5,5'-(5,10-dihidrocromeno[5,4,3-cde]cromeno-2,7-diil)bis(1H-imidazol-5,2-diil))bis(2-metilpirrolidin-1-carboxilato de (2S,2'S,5S,5'S)-terc-butilo) (2,03 g, 88 %). CLEM-IEN+: calc. para  $C_{40}H_{49}N_6O_6$ : 709,36 (M<sup>+</sup>); Encontrado: 709,59 (M+H<sup>+</sup>). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, Cloroformo-*d*) δ 7,21 - 6,91 (m, 4H), 5,24 (s, 4H), 5,02 - 4,87 (m, 2H), 3,96 (s, 2H), 3,76 - 3,47 (m, 1H), 2,86 (s, 2H), 2,08 (d, J = 1,9 Hz, 6H), 1,88 (d, J = 24,9 Hz, 1H), 1,48 (s, 18H), 1,21 (s, 7H).

**(R,R,1S,1'S)-2,2'-((2S,2'S,5S,5'S)-5,5'-(5,5'-(5,10-dihidrocromeno[5,4,3-cde]cromeno-2,7-diil)bis(1H-imidazol-5,2-diil))bis(2-metilpirrolidin-5,1-diil))bis(1-((2R,6R)-2,6-dimetiltetrahidro-2H-piran-4-il)-2-oxoetano-2,1-diil)dicarbamato de dimetilo (Compuesto 14-5).**

A una solución de 5,5'-(5,5'-(5,10-dihidrocromeno[5,4,3-cde]cromeno-2,7-diil)bis(1H-imidazol-5,2-diil))bis(2-metilpirrolidin-1-carboxilato de (2S,2'S,5S,5'S)-terc-butilo) (0,5 g, 0,705 mmol) en una mezcla de diclorometano (3 ml) y metanol (0,5 ml) se le añadió HCl (4 M en dioxano, 3,527 ml, 14,11 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Tras completarse, la mezcla de reacción se concentró al vacío. El sólido resultante se disolvió en DMF (3,5 ml), seguido de la adición de ácido (S)-2-((2R,6R)-2,6-dimetiltetrahidro-2H-piran-4-il)-2-(metoxycarbonilamino)acético (0,38 g, 1,55 mmol) (Compuesto 14-4), HATU (0,72 g, 1,90 mmol) y diisopropiletilamina (0,86 ml, 4,93 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente. Tras completarse mediante CLEM, la mezcla de reacción se purificó por HPLC de fase inversa (columna Gemini, MeCN al 10-53 %/agua (modificador de TFA al 0,1 %)) y se liofilizó para dar (R,R,1S,1'S)-2,2'-((2S,2'S,5S,5'S)-5,5'-(5,5'-(5,10-dihidrocromeno[5,4,3-cde]cromeno-2,7-diil)bis(1H-imidazol-5,2-diil))bis(2-metilpirrolidin-5,1-diil))bis(1-((2R,6R)-2,6-dimetiltetrahidro-2H-piran-4-il)-2-oxoetano-2,1-diil)dicarbamato de dimetilo (0,395 g, 58 %) en forma de un polvo de color blanco. CLEM-IEN+ calc. para  $C_{52}H_{67}N_8O_{10}$ : 963,49 (M<sup>+</sup>); Encontrado: 963,51 (M+1). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, Metanol-*d*4) δ 7,97 - 7,85 (m, 2H), 7,38 - 7,19 (m, 3H), 5,43 - 5,29 (m, 4H), 5,22 - 5,08 (m, 2H), 4,80 - 4,73 (m, 1H), 4,35 - 4,18 (m, 3H), 4,13 (d, J = 9,2 Hz, 2H), 3,73 (s, 2H), 3,66 (s, 5H), 2,57 - 2,47 (m, 2H), 2,44 - 2,14 (m, 7H), 2,06 - 1,93 (m, 2H), 1,77 - 1,61 (m, 2H), 1,55 (d, J = 6,6 Hz, 5H), 1,50 - 1,38 (m, 2H), 1,35 - 1,28 (m, 2H), 1,22 (d, J = 6,9 Hz, 4H), 1,18 - 1,09 (m, 3H), 1,04 (d, J = 6,1 Hz, 4H), 1,01 - 0,90 (m, 2H).

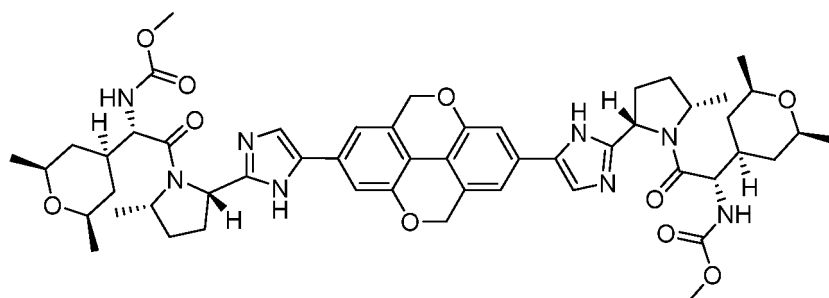
### Ejemplo 15



**((1S,1'S)-((2S,2'S)-((5,10-dihidrocromeno[5,4,3-cde]cromeno-2,7-diil)bis(1H-imidazol-5,2-diil))bis(pirrolidin-2,1-diil))bis(1-((2R,6R)-2,6-dimetiltetrahidro-2H-piran-4-il)-2-oxoetano-2,1-diil)dicarbamato de dimetilo (Compuesto 15).**

Siguiendo el Ejemplo 14, sustituyendo ácido ((2S,5S)-1-(terc-butoxicarbonil)-5-metilpirrolidin-2-carboxílico con ácido (S)-1-(terc-butoxicarbonil)pirrolidin-2-carboxílico se proporcionó (R,R,1S,1'S)-2,2'-((2S,2'S)-2,2'-(5,5'-(5,10-dihidrocromeno[5,4,3-cde]cromeno-2,7-diil)bis(1H-imidazol-5,2-diil))bis(pirrolidin-2,1-diil))bis(1-((2R,6R)-2,6-dimetiltetrahidro-2H-piran-4-il)-2-oxoetano-2,1-diil)dicarbamato de dimetilo (0,315 g, 46 %) en forma de un polvo de color blanco. CLEM-IEN+ calc. para  $C_{50}H_{63}N_8O_{10}$ : 935,47; Encontrado: 935,579. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, Metanol-*d*4) δ 7,89 (s, 3H), 7,24 (d, J = 11,5, 1,5 Hz, 4H), 5,34 (s, 4H), 5,23 (t, J = 7,4 Hz, 2H), 4,29 - 4,05 (m, 6H), 3,96 - 3,82 (m, 3H), 3,78 - 3,60 (m, 7H), 2,65 - 2,47 (m, 3H), 2,41 - 2,03 (m, 9H), 1,65 - 1,38 (m, 5H), 1,32 - 1,25 (m, 3H), 1,21 (d, J = 6,8 Hz, 5H), 1,13 (d, J = 6,2 Hz, 1H), 1,05 (d, J = 6,1 Hz, 5H), 0,97 (c, J = 12,0 Hz, 2H).

## Ejemplo 16



- 5 (r,S,R,1S,1'S)-2,2'-((2S,2'S,5S,5'S)-5,5'-(5,10-dihidrocromeno[5,4,3-cde]cromeno-2,7-diil))bis(1H-imidazol-5,2-diil))bis(2-metilpirrolidin-5,1-diil))bis(1-((2R,4r,6S)-2,6-dimetiltetrahidro-2H-piran-4-il)-2-oxoetano-2,1-diil))dicarbamato de dimetilo (Compuesto 16).

10 Siguiendo el Ejemplo 14, sustituyendo ácido (S)-2-((2R,6R)-2,6-dimetiltetrahidro-2H-piran-4-il)-2-(metoxycarbonilamino)acético con ácido (S)-2-((2R,4r,6S)-2,6-dimetiltetrahidro-2H-piran-4-il)-2-(metoxycarbonilamino)acético se proporcionó (r,S,R,1S,1'S)-2,2'-((2S,2'S,5S,5'S)-5,5'-(5,10-dihidrocromeno[5,4,3-cde]cromeno-2,7-diil))bis(1H-imidazol-5,2-diil))bis(1-((2R,4r,6S)-2,6-dimetiltetrahidro-2H-piran-4-il)-2-oxoetano-2,1-diil))dicarbamato de dimetilo (0,157 g, 58 %) en forma de un polvo de color blanco. CLEM-IEN+ calc. para C<sub>52</sub>H<sub>67</sub>N<sub>8</sub>O<sub>10</sub>: 963,49; Encontrado: 963,398. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, Metanol-d<sub>4</sub>) δ 7,99 - 7,77 (m, 2H), 7,54 - 7,14 (m, 4H), 5,43 - 5,28 (m, 4H), 5,13 (dd, J = 10,5, 7,2 Hz, 1H), 4,76 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 4,35 - 4,10 (m, 2H), 3,80 - 3,62 (m, 5H), 3,56 - 3,37 (m, 2H), 2,56 - 2,46 (m, 1H), 2,43 - 2,17 (m, 4H), 2,11 - 1,91 (m, 3H), 1,87 - 1,68 (m, 2H), 1,54 (d, J = 6,7 Hz, 5H), 1,26 (d, J = 6,2 Hz, 1H), 1,21 - 1,01 (m, 14H), 0,92 (p, J = 11,6 Hz, 4H).

## 20 ENSAYOS BIOLÓGICOS

**Efecto de las proteínas séricas en la potencia del replicón:** Los ensayos del replicón se llevan a cabo en medio de cultivo celular normal (DMEM + FBS al 10 %) suplementado con concentraciones fisiológicas de albúmina de suero humano (40 mg/ml) o α-glucoproteína ácida (1 mg/ml). La CE<sub>50</sub> en presencia de las proteínas séricas humanas se compara con la CE<sub>50</sub> en medio normal para determinar el factor de cambio en la potencia.

**Citotoxicidad en células MT-4:** Las células MT4 se tratan con diluciones seriadas de compuestos durante un período de cinco días. La viabilidad de las células se mide al final del período de tratamiento usando el ensayo Promega CellTiter-Glo y se realiza la progresión no lineal para calcular la CC<sub>50</sub>.

**Concentración del compuesto asociado con células a CE<sub>50</sub>:** Los cultivos Huh-luc se incuban con el compuesto a concentraciones iguales a la CE<sub>50</sub>. En múltiples puntos temporales (0 - 72 horas), las células se lavan 2 veces con medio frío y se extraen con acetonitrilo al 85 %; también se extraerá una muestra del medio en cada punto temporal. Los extractos celulares y del medio se analizan mediante LC/MS/MS para determinar la concentración molar de los compuestos en cada fracción. Los compuestos representativos descritos en el presente documento han mostrado actividad.

**Solubilidad y estabilidad:** La solubilidad se determina cogiendo una alícuota de DMSO 10 mM de solución madre y preparando el compuesto a una composición final de 100 μM en las soluciones de medio de ensayo (PBS, pH 7,4 y HCl 0,1 N, a pH 1,5) con una concentración total de DMSO del 1 %. Las soluciones del medio de ensayo se incuban a temperatura ambiente con agitación durante 1 hora. Las soluciones se centrifugarán después y los sobrenadantes recuperados se ensayan en la HPLC/UV. La solubilidad se calculará mediante comparación de la cantidad del compuesto detectada en la solución de ensayo definida en comparación con la cantidad detectada en DMSO a la misma concentración. También se determinará la estabilidad de los compuestos tras 1 hora de incubación con PBS a 37 °C.

**Estabilidad en hepatocitos criopreservados de humano, de perro y de rata:** Cada compuesto se incubaba durante hasta 1 hora en suspensiones de hepatocitos (100 μl, 80.000 células por pocillo) a 37 °C. Los hepatocitos criopreservados se reconstituyen en el medio de incubación libre de suero. La suspensión se transfiere a placas de 96 pocillos (50 μl/pocillo). Los compuestos se diluyen a 2 μM en medio de incubación y después se añaden a las suspensiones de hepatocitos para iniciar la incubación. Las muestras se toman a los 0, 10, 30 y 60 minutos tras el inicio de la incubación y la reacción se interrumpirá con una mezcla que consiste en ácido fórmico al 0,3 % en acetonitrilo al 90 % / agua al 10 %. La concentración del compuesto en cada mezcla se analiza usando LC/MS/MS. La semivida de desaparición del compuesto en la suspensión de hepatocitos se determina ajustando los datos de concentración-tiempo con una ecuación exponencial monofásica. Los datos también se ampliarán para representar el aclaramiento hepático y/o el aclaramiento hepático total.

**Estabilidad en la fracción S9 hepática de humano de perro y de rata:** Cada compuesto se incuba durante hasta 1 hora en suspensión de S9 (500 µl, 3 mg de proteína/ml) a 37 °C (n = 3). Los compuestos se añaden a la suspensión de S9 para iniciar la incubación. Las muestras se toman a los 0, 10, 30 y 60 minutos tras el inicio de la incubación. La concentración del compuesto en cada mezcla se analiza usando LC/MS/MS. La semivida de desaparición del compuesto en la suspensión de S9 se determina ajustando los datos de concentración-tiempo con una ecuación exponencial monofásica.

**Permeabilidad de Caco-2:** Los compuestos se ensayan mediante un servicio por contrato (Absorption Systems, Exton, PA). Los compuestos se proporcionan al contratista de una manera enmascarada. Se medirá la permeabilidad hacia delante (A a B) como hacia atrás (B a A). Se cultivan monocapas de Caco-2 para que confluyan en membranas de policarbonato microporosas recubiertas de colágeno en placas Costar TRANSWELL® de 12 pocillos. Los compuestos se dosifican por el lado apical para la permeabilidad hacia delante (A a B) y se dosifican en el lado basolateral para la permeabilidad hacia atrás (B a A). Las células se incuban a 37 °C con CO<sub>2</sub> al 5 % en un incubador humidificado. Al comienzo de la incubación y a 1 hora y 2 horas después de la incubación, se toma una alícuota de 200 µl de la cámara receptora y se sustituye con tampón de ensayo reciente. La concentración del compuesto en cada mezcla se determina con LC/MS/MS. Se calcula la permeabilidad aparente,  $P_{app}$ .

**Unión a proteínas plasmáticas:** La unión a proteínas plasmáticas se mide mediante diálisis de equilibrio. Cada compuesto se enriquece en un plasma blanco a una concentración final de 2 µM. El plasma enriquecido y el tampón fosfato se colocan en lados opuestos de las células colocadas en la diálisis, que entonces rotará despacio en un baño de agua a 37 °C. Al final de la incubación, se determina la concentración del compuesto en plasma y tampón fosfato. El porcentaje sin unir se calcula usando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ sin unir} = 100 \cdot \left( \frac{C_f}{C_b + C_f} \right)$$

En donde  $C_f$  y  $C_b$  son las concentraciones libre y de unión determinadas como las concentraciones de tampón y plasma tras la diálisis, respectivamente.

**Elaboración de perfiles de CYP450:** Cada compuesto se incuba con cada una de las 5 enzimas CYP450 recombinantes humanas, incluyendo CYP1A2, CYP2C9, CYP3A4, CYP2D6 y CYP2C19 en presencia y ausencia de NADPH. Se tomarán varias muestras de la mezcla de incubación al comienzo de la incubación y a los 5, 15, 30, 45 y 60 minutos tras el inicio de la incubación. La concentración del compuesto en la mezcla de incubación se determina mediante LC/MS/MS. El porcentaje del compuesto restante tras la incubación a cada punto temporal se calcula mediante la comparación con el muestreo al inicio de la incubación.

**Estabilidad en plasma de rata, perro, mono y humano:** Los compuestos se incubarán durante hasta 2 horas en plasma (de rata, perro, mono o humano) a 37 °C. Los compuestos se añaden al plasma a concentraciones finales de 1 y 10 µg/ml. Las alícuotas se toman a 0, 5, 15, 30, 60 y 120 minutos tras añadir el compuesto. La concentración de los compuestos y los metabolitos principales en cada punto temporal se miden mediante LC/MS/MS.

**Evaluación de la actividad anti-VHC basada en células:** La potencia antivírica ( $CE_{50}$ ) se determinó usando un ensayo indicador basado en luciferasa de *Renilla* para el replicón del VHC. Para realizar el ensayo para el genotipo 1 y 2a de JFH-1, las células de replicón RLuc del VHC 1a estables (que albergan un replicón H77 de genotipo 1a dicistrónico que codifica un indicador de RLuc), las células de replicón RLuc del VHC 1b estables (que albergan un replicón Con1 de genotipo 1b dicistrónico que codifica un indicador de RLuc) o las células de replicón RLuc JFH-1 del VHC 2a estables (que albergan un replicón JFH-1 de genotipo 2a dicistrónico que codifica un indicador de RLuc; con L31 presente en NS5A) se dispensaron en placas de 384 pocillos para ensayos de  $CE_{50}$ . Para realizar el ensayo para el genotipo 2a (con M31 presente en NS5A) o 2b, se proporcionaron los replicones JFH-1 quiméricos de genotipo 2a de NS5A que codifican un indicador de RLuc-Neo y cualquier gen de NS5A de la cepa J6 del genotipo 2a o gen de NS5A de la cepa MD2b-1 del genotipo 2b (ambos con M31 presente), respectivamente, o bien se transfectaron de manera transitoria (t) en células Huh-Lunet o se establecieron como células estables (s) replicantes del replicón. Cualquiera de las dos células se dispuso en placas de 384 pocillos para ensayos de  $CE_{50}$ . Para realizar el ensayo para el genotipo 3 y 4, los replicones Con1 quiméricos de genotipo 1b de NS5A que codifican un indicador de Pi-RLuc y cualquier gen de NS5A de la cepa S52 del genotipo 3 a o gen de NS5A de la cepa ED43 del genotipo 4a respectivamente, se transfectaron de forma transitoria (t) en células Huh-Lunet, que posteriormente se dispensaron en placas de 384 pocillos. Los compuestos se disolvieron en DMSO a una concentración de 10 mM y se diluyeron en DMSO bien de manera manual o bien usando una herramienta automática de pipeteo. Los compuestos diluidos 3 veces de forma seriada se mezclaron bien manualmente con medio de cultivo celular y se añadieron a las células cultivadas o bien directamente a las células usando un sistema automático. Se usó DMSO como control negativo (disolvente; sin inhibición), y el inhibidor de proteasa ITMN-191 se incluyó a una concentración mayor de 100 x  $CE_{50}$  como un control positivo. Después de 72 horas, las células se lisaron se cuantificó la actividad de la luciferasa de *Renilla* tal como recomienda el fabricante (Promega-Madison, WI). Se realizó una regresión no lineal para calcular los valores de  $CE_{50}$ .

Para determinar la potencia antivírica ( $CE_{50}$ ) frente a los mutantes de resistencia, las mutaciones de resistencia,

incluyendo Q30R, Q30E, Y93H y Y93N en NS5A de genotipo 1a, y L31V/Y93H en NS5A de genotipo 1b se introdujeron de manera individual en replicones 1a Pi-Rluc o 1b Pi-Rluc mediante mutagénesis de sitio dirigido. El ARN del replicón de cada mutante resistente se transfectó de manera transitoria en células cured-51 derivadas de Huh-7 y la potencia antivírica se determinó en estas células transfectadas tal como se describe anteriormente.

**Estudios farmacocinéticos de dosis única de IV y PO en ratas SD:** La farmacocinética de los compuestos seleccionados se caracterizó en ratas Sprague-Dawley (SD) macho (250-300 g). En este estudio, dos grupos de ratas SD de pura cepa sin exposición previa (N=3 por grupo, en ayunas durante la noche) recibieron el compuesto seleccionado bien como una infusión intravenosa (IV) (1 mg/kg durante 30 minutos) a través de la vena yugular o mediante sonda oral (2 mg/kg). El vehículo de dosificación intravenosa (IV) fue etanol al 5 %, polietilenglicol 400 (PEG 400) al 35 % y agua al 60 % a pH 2,0. El vehículo de dosificación fue etanol al 5 %, PEG 400 al 55 % y tampón de citrato al 40 % a pH 2,2.

Se recogieron muestras seriadas de sangre (aproximadamente 0,3 ml cada una) de la vena yugular u otra vena adecuada en puntos temporales específicos. Para el grupo de fusión IV, se tomaron muestras de sangre antes de la dosis y a 0,25, 0,48, 0,58, 0,75, 1,5, 3, 6, 8, 12 y 24 horas después del comienzo de la infusión. Para el grupo oral, se tomaron las muestras de sangre antes de la dosis a 0,25, 0,50, 1, 2, 4, 6, 8, 12 y 24 horas tras la dosificación. Las muestras de sangre se tomaron en tubos Vacutainer™ que contienen EDTA-K3 como el anticoagulante y se centrifugaron a aproximadamente 4 °C para obtener plasma. Las muestras de plasma se almacenaron a -20 °C hasta los ensayos mediante LC/MS/MS.

Se desarrolló un procedimiento bioanalítico que utiliza cromatografía de líquido de alto rendimiento acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC/MS/MS) para el análisis del compuesto seleccionado en plasma de rata. La detección se realizó usando el control de la reacción seleccionada (SRM, del inglés *selected reaction monitoring*); Los iones que representan la especie precursora ( $M + H$ )<sup>+</sup> se seleccionaron en cuadrupolo 1 (Q1) y colisionaron con gas argón en la celda de colisión (Q2) para generar un ion de producto específico, que se controló posteriormente mediante el cuadrupolo 3 (Q3). La curva patrón y las muestras de control de calidad se prepararon en plasma de rata macho y se procesaron del mismo modo que las muestras de ensayo para generar datos cuantitativos.

Los parámetros farmacocinéticos se generaron usando el análisis farmacocinético no compartimentalizado (Phoenix WinNonlin, versión 6.3). A los valores por debajo del límite inferior de cuantificación (LIDC) se les asignó un valor de cero si era antes de la dosis y se trataron como perdidos a partir de entonces. Se calculó el área bajo la curva (ABC) usando la regla trapezoidal lineal. Se determinó la biodisponibilidad oral (% de F) mediante comparación del área bajo la curva (ABC) del compuesto y/o un metabolito generado en plasma tras la administración oral con la generada tras la administración intravenosa.

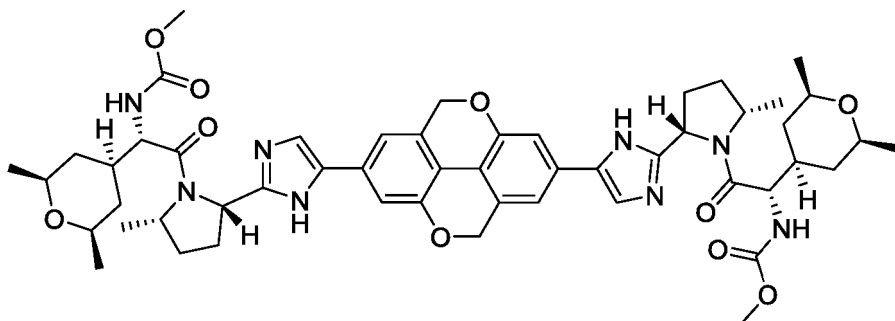
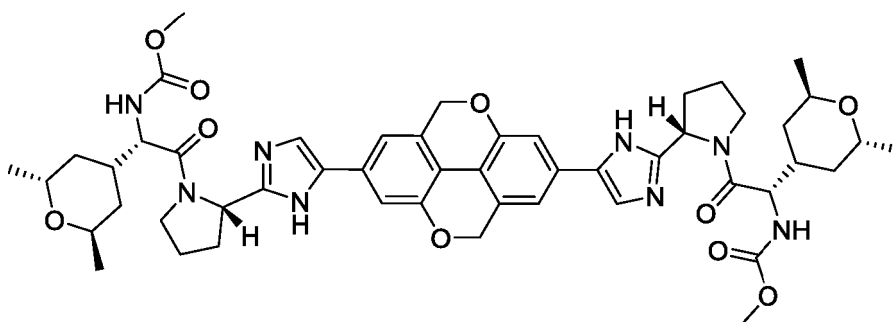
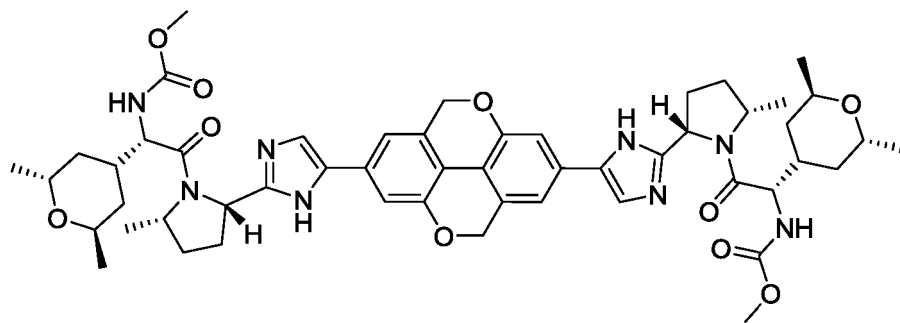
Los datos obtenidos en los ensayos descritos anteriormente para los compuestos tal como se describen en el presente documento se muestran en la Tabla 1.

**Tabla 1**

| Compuesto n.º | 1b<br>(nM)        | 1a<br>(nM)                  | 2a<br>JFH<br>(nM)  | 2a<br>J6 (t)<br>(nM) | 2b (t)<br>(nM)     | 2b (s)<br>(nM)     | 3a<br>(nM)   | 4a (s)<br>(nM) |
|---------------|-------------------|-----------------------------|--------------------|----------------------|--------------------|--------------------|--------------|----------------|
| 14            | 0,054             | 0,049                       | 0,011              | 0,014                | 0,038              |                    | 0,04         | 0,011          |
| 15            | 0,195             | 0,18                        | 0,024              |                      |                    | 0,143              | 0,199        | 0,07           |
| 16            | 0,037             | 0,043                       | 0,013              |                      |                    | 0,054              | 0,051        | 0,025          |
| Compuesto n.º | % de F<br>en rata | 1b<br>L31V/<br>Y93H<br>(nM) | 1a<br>Q30R<br>(nM) | 1a<br>Q30E<br>(nM)   | 1a<br>Y93H<br>(nM) | 1a<br>Y93N<br>(nM) | 3a Y93H (nM) |                |
| 14            | 15                | 0,075                       |                    | 0,110                | 0,063              | 0,229              | 0,157        |                |
| 15            |                   |                             |                    |                      | 0,237              | 0,870              | 0,361        |                |
| 16            |                   |                             |                    |                      | 0,356              | 0,685              | 0,145        |                |

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la fórmula:



5

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10

2. Un compuesto o una sal de acuerdo con la reivindicación 1, para su uso en el tratamiento de VHC.

3. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la reivindicación 1 y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.

15

4. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 3, que comprende adicionalmente al menos un agente terapéutico adicional para el tratamiento de VHC.

5. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 3, que comprende adicionalmente al menos un inhibidor de la polimerasa NS5B de VHC.

20

6. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5, en la que el inhibidor de la polimerasa NS5B de VHC es sofosbuvir.

7. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 3, para su uso en el tratamiento de VHC.