



República Federativa do Brasil
Ministério da Indústria, Comércio Exterior
e Serviços
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0815142-3 B1

(22) Data do Depósito: 31/07/2008

(45) Data de Concessão: 25/09/2018



(54) Título: FORMA CRISTALINA DO SAL DE DICLORIDRATO (((1S)-1-(((2S)-2-(5-(4'-(2-(((2S)-1-((2S)-2-((METOXCARBONIL)AMINO)-3-METILBUTANOIL)-2-PIRROLIDINIL)-1H-IMIDAZOL-5-IL)-4-BIFENILIL)-1H-IMIDAZOL-2-IL)-1-PIRROLIDINIL)CARBONIL)-2-METILPROPIl)CARBAMATO DE METILA.

(51) Int.Cl.: C07D 403/12; A61K 31/4178; A61P 31/12

(30) Prioridade Unionista: 08/08/2007 US 60/954,592

(73) Titular(es): BRISTOL-MYERS SQUIBB HOLDINGS IRELAND

(72) Inventor(es): SOOJIN KIM; QI GAO; FUKANG YANG

(85) Data do Início da Fase Nacional: 08/02/2010

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"FORMA CRISTALINA DO SAL DE DICLORIDRATO ((1S)-1-(((2S)-2-(5-(4'-(2-((2S)-1-((2S)-2-((METOXYCARBONYL)AMINO)-3-METILBUTANOIL)-2-PIRROLIDINIL)-1H-IMIDAZOL-5-IL)-4-BIFENILIL)-1H-IMIDAZOL-2-IL)-1-PIRROLIDINIL)CARBONYL)-2-METILPROPIl)CARBAMATO DE METILA"**.

5 **REFERÊNCIA CRUZADA A PEDIDOS DE PATENTE RELACIONADOS**

Este pedido de patente reivindica o privilégio do Pedido de Patente Provisório U.S. Nº. 60/954.592 depositado em 8 de agosto de 2007.

A presente invenção, de modo geral, refere-se a uma forma
10 cristalina do sal de dicloridrato de ((1S)-1-(((2S)-2-(5-(4'-(2-((2S)-1-((2S)-2-((metoxycarbonil)amino)-3-metilbutanoil)-2-pirrolidinil)-1H-imidazol-5-il)-4-bifenilil)-1H-imidazol-2-il)-1-pirrolidinil)carbonil)-2-metilpropil)carbamato de metila.

O vírus da Hepatite C (HCV) é um patógeno humano de grande importância, que infecta uma estimativa de 170 milhões de
15 pessoas no mundo todo – aproximadamente cinco vezes o número de pessoas infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana do tipo 1. Uma fração substancial destes indivíduos infectados com HCV desenvolve uma grave doença progressiva no fígado, inclusive cirrose e carcinoma hepatocelular.

20 Atualmente, a terapia mais eficaz contra HCV emprega uma combinação de alfa-interferon e ribavirina, levando a uma eficiência prolongada em 40 por cento dos pacientes. Resultados clínicos recentes demonstram que o alfa-interferon peguilado é superior ao alfa-interferon não modificado como monoterapia. No entanto, mesmo com regimes
25 terapêuticos experimentais que envolvam combinações de alfa-interferon peguilado e ribavirina, uma fração substancial de pacientes não apresentam uma redução controlada na carga viral. Desse modo, há uma necessidade evidente e não-satisfeita de se desenvolver uma teoria terapêutica para o tratamento de infecção por HCV.

30 O composto ((1S)-1-(((2S)-2-(5-(4'-(2-((2S)-1-((2S)-2-((metoxycarbonil)amino)-3-metilbutanoil)-2-pirrolidinil)-1H-imidazol-5-il)-4-bifenilil)-1H-imidazol-2-il)-1-pirrolidinil)carbonil)-2-metilpropil)carbamato de metila é



N-2 de



10 N-2 de



Dimensões da célula: $a = 7,5680 \text{ \AA}$

$$b = 9,5848 \text{ \AA}$$

$c = 16,2864 \text{ \AA}$
 $\alpha = 74,132 \text{ graus}$
 $\beta = 84,132 \text{ graus}$
 $\gamma = 70,646 \text{ graus}$

5

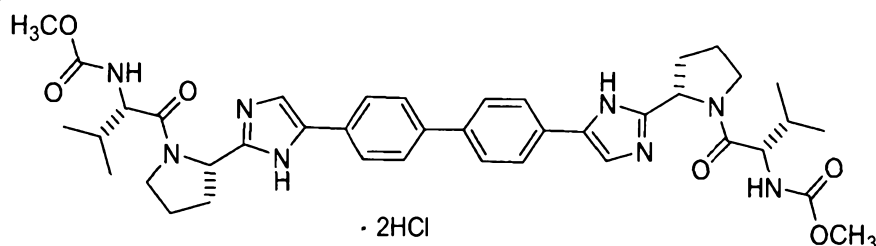
Grupo espacial P1

Moléculas / célula unitária 1

em que a medida da dita forma cristalina é feita a uma temperatura entre aproximadamente 20° C e aproximadamente 25° C.

Em um terceiro aspecto a presente descrição fornece a Forma

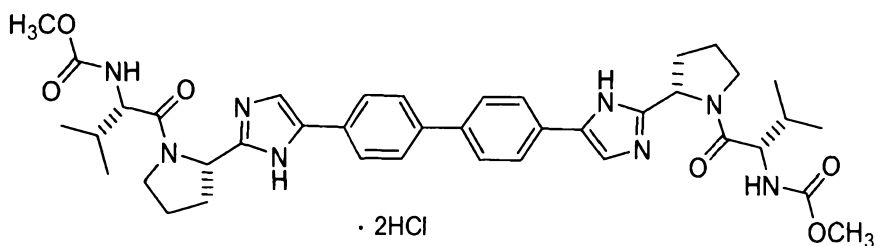
10 N-2 de



caracterizado por coordenadas atômicas fracionárias dentro da célula unitária como relacionado na Tabela 3.

Em um quarto aspecto a presente descrição fornece a Forma N-

2 de

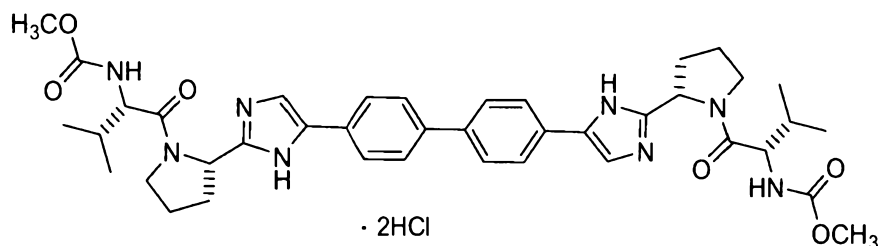


15 com picos característicos no padrão de difração de raios X no pó a valores de dois teta de $10,3 \pm 0,1$, $12,4 \pm 0,1$, $12,8 \pm 0,1$, $13,3 \pm 0,1$, $13,6 \pm 0,1$, $15,5 \pm 0,1$, $20,3 \pm 0,1$, $21,2 \pm 0,1$, $22,4 \pm 0,1$, $22,7 \pm 0,1$ e $23,7 \pm 0,1$ a uma temperatura entre aproximadamente 20° C e aproximadamente 25° C, baseado em um padrão de alta qualidade coletado com um difratômetro (CuK α) com um

20 capilar girando com 2 θ calibrado com outro padrão NIST adequado.

Em um quinto aspecto a presente descrição fornece a Forma N-

2 de



caracterizada por um ou mais dos seguintes:

a) uma célula unitária com parâmetros substancialmente iguais aos seguintes:

Dimensões da célula: $a = 7,5680 \text{ \AA}$

5

$b = 9,5848 \text{ \AA}$

$c = 16,2864 \text{ \AA}$

$\alpha = 74,132 \text{ graus}$

$\beta = 84,132 \text{ graus}$

$\gamma = 70,646 \text{ graus}$

10

Grupo espacial P1

Moléculas / célula unitária 1

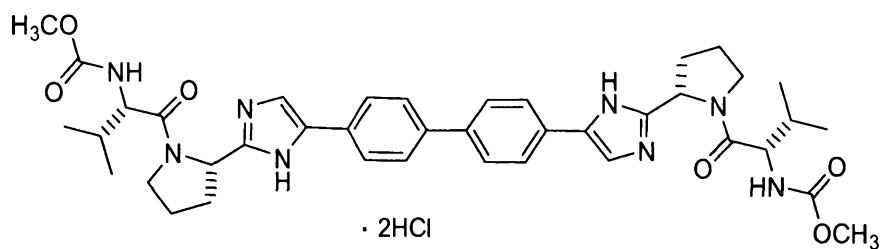
em que medida da dita forma cristalina é feita a uma temperatura entre aproximadamente 20° C até aproximadamente 25° C ;

b) com picos característicos no padrão de difração de raios X no pó a valores de dois teta de $10,3 \pm 0,1$, $12,4 \pm 0,1$, $12,8 \pm 0,1$, $13,3 \pm 0,1$, $13,6 \pm 0,1$, $15,5 \pm 0,1$, $20,3 \pm 0,1$, $21,2 \pm 0,1$, $22,4 \pm 0,1$, $22,7 \pm 0,1$ e $23,7 \pm 0,1$ a uma temperatura entre aproximadamente 20° C e aproximadamente 25° C , baseado em um padrão de alta qualidade coletado com um difratômetro ($\text{CuK}\alpha$) com um capilar girando com 2θ calibrado com outro padrão NIST adequado e/ou

20

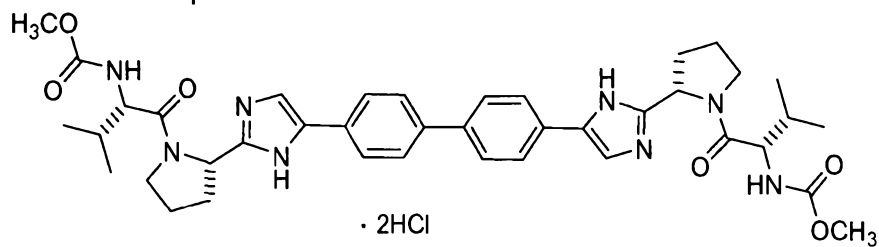
c) uma massa fundida com endoterma de decomposição com o início tipicamente na faixa de $225\text{-}245^\circ \text{ C}$.

Em um sexto aspecto a presente descrição fornece a Forma N-2 substancialmente pura de



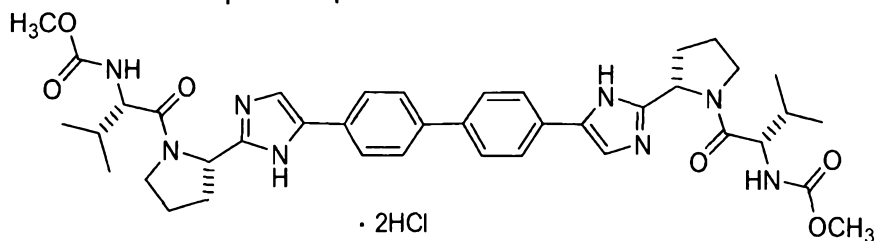
Em uma primeira modalidade do sexto aspecto a dita Forma N-2 tem uma pureza de pelo menos 95 por cento em peso. Em uma segunda modalidade do sexto aspecto a dita Forma N-2 tem uma pureza de pelo menos 99 por cento em peso.

5 Em um sétimo aspecto a presente descrição fornece a Forma N-2 substancialmente pura de



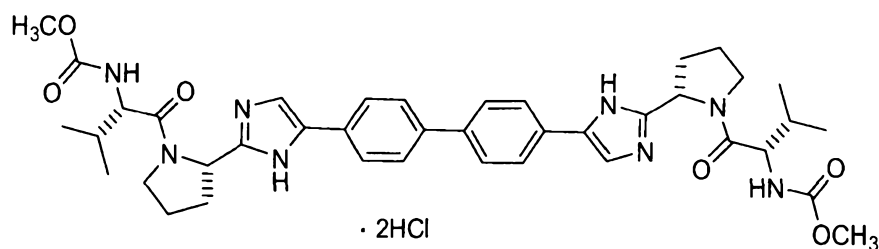
com picos característicos no padrão de difração de raios X no pó a valores de dois teta de $10,3 \pm 0,1$, $12,4 \pm 0,1$, $12,8 \pm 0,1$, $13,3 \pm 0,1$, $13,6 \pm 0,1$, $15,5 \pm 0,1$, $20,3 \pm 0,1$, $21,2 \pm 0,1$, $22,4 \pm 0,1$, $22,7 \pm 0,1$ e $23,7 \pm 0,1$ a uma temperatura entre aproximadamente 20°C e aproximadamente 25°C , baseado em um padrão de alta qualidade coletado com um difratômetro (CuK α) com um capilar girando com 2θ calibrado com outro padrão NIST adequado.

Em um oitavo aspecto a presente descrição fornece uma composição farmacêutica que compreende a Forma N-2 de



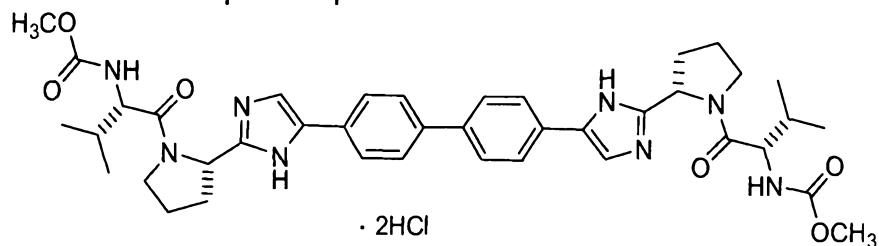
15 e um veículo ou diluente farmacêuticamente aceitável.

Em um nono aspecto a presente descrição fornece uma composição farmacêutica que compreende a Forma N-2 substancialmente pura de



e um veículo ou diluente farmacêticamente aceitável. Em uma primeira modalidade do nono aspecto a dita Forma N-2 tem uma pureza de pelo menos 95 por cento em peso. Em uma segunda modalidade do nono aspecto a dita Forma N-2 tem uma pureza de pelo menos 99 por cento em peso.

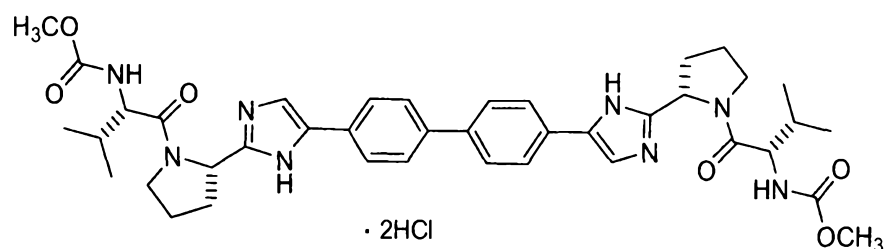
5 Em um décimo aspecto a presente descrição fornece uma composição farmacêutica que compreende a Forma N-2 de



em combinação com um ou dois compostos adicionais que tenha atividade anti HCV. Em uma primeira modalidade do décimo aspecto a dita Forma N-2 tem uma pureza de pelo menos 90 por cento em peso. Em uma segunda modalidade do décimo aspecto a dita Forma N-2 tem uma pureza de pelo menos 95 por cento em peso. Em uma terceira modalidade do décimo aspecto a dita Forma N-2 tem uma pureza de pelo menos 99 por cento em peso.

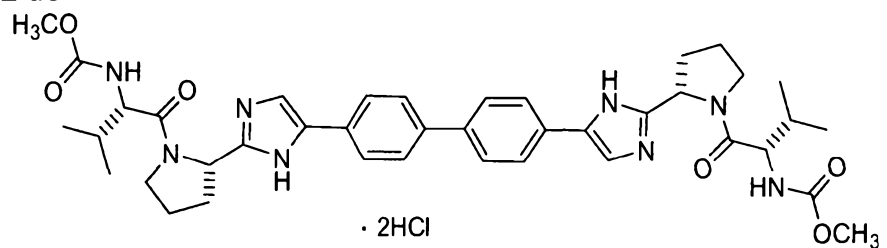
15 Em uma quarta modalidade do décimo aspecto pelo menos um dos compostos adicionais que têm atividade anti HCV é um interferon ou uma ribavirina. Em uma quinta modalidade do décimo aspecto o interferon é selecionado entre alfa-interferon 2B, alfa-interferon peguilado, interferon de consenso, alfa-interferon 2A e interferon linfoblastoide tau.

20 Em uma sexta modalidade do décimo aspecto a presente descrição fornece uma composição farmacêutica que compreende a Forma N-2 de



em combinação com um ou dois compostos adicionais que tenha atividade anti HCV em que pelo menos um dos compostos adicionais é selecionado entre interleucina 2, interleucina 6, interleucina 12, um composto que melhora o desenvolvimento de uma resposta de célula T auxiliar do tipo 1, RNA de interferência, RNA antissenso, Imiqimod, ribavirina, um inibidor de inosina 5'-monofosfato desidrogenase, amantadina e rimantadina.

Em um décimo primeiro aspecto a presente descrição fornece um método de tratar infecção por HCV em um mamífero que compreende administrar ao mamífero uma quantidade farmacologicamente eficaz da Forma N-2 de



Em uma primeira modalidade do décimo primeiro aspecto a dita Forma N-2 tem uma pureza de pelo menos 90 por cento em peso. Em uma segunda modalidade do décimo primeiro aspecto a dita Forma N-2 tem uma pureza de pelo menos 95 por cento em peso. Em uma terceira modalidade do décimo primeiro aspecto a dita Forma N-2 tem uma pureza de pelo menos 99 por cento em peso. Em uma quarta modalidade do décimo primeiro aspecto o mamífero é um ser humano.

Outras modalidades da presente descrição podem compreender combinações adequadas de dois ou mais das modalidades e/ou dos aspectos aqui divulgados.

Outras modalidades e aspectos ainda da descrição serão evidentes de acordo com a descrição aqui fornecida.

Os compostos da presente descrição também existem como tau-

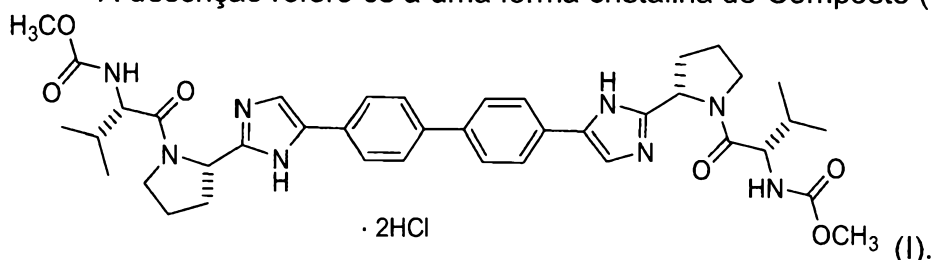
tômeros; portanto a presente descrição também abrange todas as formas tautoméricas.

A Figura 1 ilustra padrões de difração de Raios X no pó experimentais e simulados ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda=1.54178$ Å a T = temperatura ambiente) da forma cristalina N-2 do Composto (I).

A Figura 2 ilustra o padrão de calorimetria diferencial de varredura da forma cristalina de N-2 do Composto (I).

Figura 3 ilustra o espectro de RMN no estado sólido da forma cristalina de N-2 do Composto (I).

A descrição refere-se a uma forma cristalina do Composto (I).



Definições

Como usado neste caso "polimorfa" refere-se às formas cristalinas que tenham a mesma composição química, porém diferentes arranjos espaciais das moléculas, átomos e/ou íons que formam o cristal.

O termo "farmaceuticamente aceitável," como usado neste caso, refere-se àqueles compostos, materiais, composições e/ou formas de dosagem que são, dentro do âmbito do legítimo julgamento do médico, adequados para contato com os tecidos de seres humanos e de animais sem toxicidade excessiva, irritação, resposta alérgica ou outras complicações do problema comensuráveis a uma proporção razoável de benefício / risco.

O termo "substancialmente puro," como usado neste caso refere-se à Forma N-2 do Composto (I) que é mais do que aproximadamente 90 % pura. Isto significa que a polimorfa do Composto (I) não contém mais do que aproximadamente 10 % de qualquer outro composto e, em particular, não contém mais do que aproximadamente 10 % de qualquer outra forma de Composto (I).

O termo "quantidade terapeuticamente eficaz," como usado nes-

te caso, pretende incluir uma quantidade das formas cristalinas do Composto (I) que seja eficaz quando administrada sozinha ou em combinação para tratar a Hepatite C. As formas cristalinas do Composto (I) e as composições farmacêuticas do mesmo podem ser úteis no tratamento da Hepatite C. Se o

5 Composto (I) for usado em combinação com uma outra medicação, a combinação de compostos aqui descrita pode resultar em uma combinação sinérgica. Sinergia, como descrito por exemplo por Chou e Talalay, *Adv. Enzyme Regul.* **1984**, 22, 27-55, ocorre quando o efeito dos compostos quando administrados em combinação for maior do que o efeito dos com-

10 postos quando administrados sozinhos como agentes isolados.

O termo "tratamento" refere-se a: (i) prevenir que uma doença, transtorno ou condição ocorra em um paciente que possa estar predisposto à doença, ao transtorno ou à condição, porém que não foi ainda diagnosticado como tendo o mesmo; (ii) inibir a doença, o transtorno ou a condição,

15 isto é, interromper o seu desenvolvimento e/ou (iii) aliviar a doença, o transtorno ou a condição, isto é, provocar a regressão da doença, do transtorno e/ou da condição.

Em uma modalidade a descrição fornece uma forma cristalina do Composto (I). Esta forma cristalina do Composto (I) pode ser empregada em

20 composições farmacêuticas que possam opcionalmente incluir um ou mais outros componentes selecionados, por exemplo, do grupo que consiste em excipientes, veículos e um de outros ingredientes farmacêuticos ativos, entidades químicas ativas de diferente estrutura molecular.

Em uma modalidade a forma cristalina tem homogeneidade de

25 fase indicada por menos do que 10 por cento, em uma outra modalidade a forma cristalina tem homogeneidade de fase indicada por menos do que 5 por cento e em uma outra modalidade a forma cristalina tem homogeneidade de fase indicada por menos do que 2 por cento da área total do pico no padrão PXRD medido experimentalmente que surge dos picos extras que es-

30 tão ausentes do padrão de PXRD simulado. Em uma outra modalidade a forma cristalina tem homogeneidade de fase indicada com menos do que 1 por cento da área total do pico no padrão PXRD medido experimentalmente

que surge dos picos extras que estão ausentes do padrão de PXRD simulado.

Em uma modalidade, é fornecida uma composição que consiste essencialmente na forma cristalina N-2 do Composto (I). A composição desta modalidade pode compreender pelo menos 90 por cento em peso da forma cristalina N-2 do Composto (I), baseado no peso do Composto (I) na composição. O material restante compreende outra (s) forma (s) do composto e/ou de impurezas da reação e/ou de impurezas provenientes de processamento que surgem durante a sua preparação.

A presença de impurezas da reação e/ou de impurezas provenientes de processamento pode ser determinada por técnicas analíticas conhecidas na técnica, tais como, por exemplo, cromatografia, espectroscopia de ressonância nuclear magnética, espectrometria de massa ou espectroscopia no infravermelho.

Preparação Geral de Materiais Cristalinos:

Podem ser preparadas formas cristalinas por uma variedade de métodos, inclusive, por exemplo, cristalização ou recristalização com um solvente adequado, sublimação, crescimento de uma massa fundida, transformação no estado sólido de uma outra fase, cristalização com um fluido supercrítico e borrifação a jato. As técnicas para cristalização ou recristalização de formas cristalinas com uma mistura de solventes incluem, por exemplo, evaporação do solvente, diminuindo a temperatura da mistura de solventes, semeando com cristal uma mistura de solventes supersaturada da molécula e/ou de sal, secagem por congelamento da mistura de solventes e adição de antissolventes (contra solventes) à mistura de solventes. Podem ser empregadas técnicas de cristalização com grande circulação de material para preparar formas cristalinas inclusive polimorfas. Cristais de fármacos, inclusive polimorfos, métodos de preparação e caracterização de cristais de fármaco são discutidos em *Solid-State Chemistry of Drugs*, S.R. Byrn, R.R. Pfeiffer e J.G. Stowell, 2ª. Edição, SSCI, West Lafayette, Indiana (1999).

Para técnicas de cristalização que empregam solventes, a escolha de solvente ou de solventes é tipicamente dependente de um ou mais

fatores, tais como solubilidade do composto, técnica de cristalização e pressão de vapor do solvente. Podem ser empregadas combinações de solventes, por exemplo, o composto pode ser solubilizado em um primeiro solvente para fornecer uma solução, seguido pela adição de um antissolvente para diminuir a solubilidade do composto na solução e para fornecer a formação de cristais. Um antissolvente é um solvente em que o composto tem baixa solubilidade.

Em um método para preparar cristais, um composto é suspenso e/ou agitado em um solvente adequado para fornecer uma pasta, que pode ser aquecida para promover a sua dissolução. O termo "pasta", como usado neste caso, significa uma solução saturada do composto, que também pode conter uma quantidade adicional do composto para fornecer uma mistura heterogênea do composto e um solvente a uma dada temperatura.

Podem ser adicionados cristais de semente a qualquer mistura de cristalização para promover a cristalização. A semeadura pode ser empregada para controlar o crescimento de uma polimorfa em particular ou para controlar a distribuição do tamanho da partícula do produto cristalino. Consequentemente, o cálculo da quantidade de sementes necessárias depende do tamanho da semente disponível e do tamanho desejado de uma partícula média de produto como descrito, por exemplo, em "Programmed Cooling of Batch Crystallizers," J.W. Mullin e J. Nyvlt, *Chemical Engineering Science*, **1971**, 26, 369-377. Em geral, são necessárias sementes de pequeno tamanho para controlar eficazmente o crescimento de cristais na batelada. A semente de pequeno tamanho pode ser gerada por peneiração, moagem ou micronização de cristais grandes ou por micro-cristalização de soluções. Devia ser tomado cuidado para que a moagem ou a micronização dos cristais não resultasse em qualquer variação na cristalinidade da forma do cristal desejado (isto é, variação a amorfa ou a uma outra polimorfa).

Uma mistura para cristalização resfriada pode ser filtrada sob vácuo e os sólidos isolados podem ser lavados com um solvente adequado, tal como solvente para recristalização a frio e seca sob uma purga de nitrogênio para fornecer a cristalina desejada. Os sólidos isolados podem ser

5 analisados por uma técnica espectroscópica ou analítica adequada, tal como
ressonância nuclear magnética no estado sólido, calorimetria diferencial de
varredura, difração de Raios X no pó ou similares, para garantir a formação
da forma cristalina preferida do produto. A forma cristalina resultante é tipi-
camente produzida em uma quantidade maior do que aproximadamente 70
por cento em peso de rendimento isolado, de preferência maior do que 90
por cento em peso de rendimento isolado, baseado no peso do composto
originalmente empregado no procedimento de cristalização. O produto pode
ser comoído ou passado através de uma tela de malha para desagregar o
10 produto, se necessário.

Podem ser preparadas formas cristalinas diretamente partindo
do meio da reação do processo final para preparar o Composto (I). Isto pode
ser conseguido, por exemplo, por emprego na etapa final do processo de um
solvente ou de uma mistura de solventes com o qual o Composto (I) pode
15 ser cristalizado. Alternativamente, as formas cristalinas podem ser obtidas
por destilação ou por técnicas de adição de solvente. Os solventes adequa-
dos para esta finalidade incluem, por exemplo, os solventes não-polares
mencionados acima e os solventes polares, inclusive solventes próticos po-
lares tais como álcoois e solventes apróticos polares tais como cetonas.

20 A presença de mais do que uma polimorfa em uma amostra po-
de ser determinada por técnicas tal como difração de raios X no pó (PXRD)
ou espectroscopia de ressonância nuclear magnética no estado sólido (SS-
RMN). Por exemplo, a presença de picos extras em um padrão de PXRD
medido experimentalmente quando comparado com um padrão PXRD simu-
lado pode indicar mais do que uma polimorfa na amostra. A PXRD simulada
25 pode ser calculada partindo de dados de cristal simples em raios X. Ver Smi-
th, D.K., "A FORTRAN Program for Calculating X-Ray Powder Diffraction
Patterns," Lawrence Radiation Laboratory, Livermore, Califórnia, UCRL-7196
(Abril de 1963).

30 Caracterização:

A Forma N-2 do Composto (I) pode ser caracterizada usando-se
várias técnicas, cujas operações são bem conhecidas dos versados na téc-

nica. Exemplos de métodos de caracterização incluem, porém não estão limitados a, single crystal X-Ray diffraction, powder X-Ray diffraction (PXRD), simulated powder X-Ray patterns (Yin, S.; Scaringe, R. P.; DiMarco, J.; Galella, M. e Gougoutas, J. Z., *American Pharmaceutical Review*, **2003**, 6, 2, 80), differential scanning calorimetry (DSC), solid-state ^{13}C RMN (Earl, W.L. e Van der Hart, D. L., *J. Magn. Reson.*, **1982**, 48, 35-54), Raman spectroscopy, infrared spectroscopy, moisture sorption isotherms, thermal gravimetric analysis (TGA) e hot stage techniques.

As formas podem ser caracterizadas e distinguidas usando-se difração de raios X no cristal simples, que é baseada em medidas de célula unitária de um cristal único de Forma N-2. Uma descrição detalhada de células unitárias é fornecida em Stout & Jensen, *X-Ray Structure Determination: A Practical Guide*, Macmillan Co., New York (1968), Capítulo 3, que é aqui incorporado como referência. Alternativamente, o único arranjo de átomos em relação especial dentro da rede cristalina pode ser caracterizado de acordo com as coordenadas atômicas fracionais observadas. Um outro meio de caracterizar a estrutura cristalina é por análise de difração de raios X no pó em que o perfil de difração é comparado a um perfil simulado que representa o material puro em pó, ambas realizadas na mesma temperatura analítica e medidas para a forma em questão caracterizadas como uma série de valores de 2θ .

Um versado na técnica irá considerar que um padrão de difração de raios X pode ser obtido com uma medida de erro que é dependente das condições de medida empregadas. Em particular, é sabido de modo geral que as intensidades em um padrão de difração de raios X podem flutuar dependendo das condições de medida empregadas. Também seria entendido que as intensidades relativas também podem variar dependendo de condições experimentais e, conseqüentemente, a ordem de intensidade exata não precisava ser levada em conta. Adicionalmente, um erro de medida de ângulo de difração para um padrão de difração de raios X convencional é tipicamente aproximadamente 5 por cento ou menos e tal grau de erro de medida precisava ser levado em conta como pertencendo aos ângulos de difração

mencionados acima. Consequentemente, precisa ser entendido que as formas de cristal da presente descrição não estão limitadas às formas de cristal que fornecem o padrão de difração de raios X completamente idêntico ao padrão de difração de raios X representados nas Figuras anexas a este caso. Qualquer forma de cristal que forneça um padrão de difração de raios X, termograma de DSC ou espectro SSRMN substancialmente idêntico àqueles divulgados nas Figuras ficam dentro do âmbito da presente descrição. A capacidade de constatar identidades substanciais de padrões de difração de raios X está dentro da previsão de um versado comum na técnica.

10 Utilidade:

A forma N-2 do Composto (I), sozinho ou em combinação com outros compostos, pode ser usada para tratar infecção por HCV.

A presente descrição também fornece composições que compreendem uma quantidade terapeuticamente eficaz da forma N-2 do Composto (I) e pelo menos um veículo farmaceuticamente aceitável.

O ingrediente ativo, isto é, a Forma N-2 do Composto (I), em tais composições tipicamente compreende desde 0,1 por cento em peso até 99,9 por cento em peso da composição e frequentemente compreende desde aproximadamente 5 até 95 por cento em peso. Em alguns casos, o pH da formulação pode ser ajustado com modificadores farmaceuticamente aceitáveis (tais como carbonato de cálcio e óxido de magnésio) para melhorar a estabilidade do composto formulado ou a sua forma de liberação. As formulações da polimorfa da presente descrição também podem conter aditivos para a melhoria da absorção e biodisponibilidade.

As composições farmacêuticas desta descrição podem ser administradas oralmente, parenteralmente ou por meio de um reservatório implantado. O termo parenteral como usado neste caso inclui técnicas de injeção ou de infusão subcutâneas, intracutâneas, intravenosas, intramusculares, intra-articulares, intrassinoviais, intraesternais, intratecal e intralesional.

As composições farmacêuticas podem estar na forma de uma preparação injetável estéril, por exemplo, como uma suspensão aquosa ou oleaginosa injetável estéril. Esta suspensão pode ser formulada de acordo

com técnicas conhecidas na técnica que usa agentes de dispersão ou de umidificação adequados e agentes de suspensão. Os detalhes referentes à preparação de tais compostos são conhecidos dos versados na técnica.

Quando administradas oralmente, as composições farmacêuticas desta descrição podem administradas em qualquer forma de dosagem oralmente aceitável que inclui, porém não limitada a, cápsulas, comprimidos e suspensões e soluções aquosas. No caso de comprimidos para uso oral, os veículos que são comumente usados incluem lactose e amido de milho. Também podem ser adicionados agentes lubrificantes, tal como estearato de magnésio. Para administração oral em uma forma de a cápsula, veículos / diluentes úteis incluem lactose, polietileno glicol de alto e de baixo peso molecular e amido de milho seco. Quando forem administradas oralmente suspensões aquosas, o ingrediente ativo é combinado com agentes emulsificantes e de suspensão. Se desejado, podem ser adicionados certos agentes adoçantes e/ou flavorizantes e/ou colorantes.

Outros veículos adequados para as composições citadas acima podem ser encontrados em textos farmacêuticos padronizados, por exemplo, em "Remington's Pharmaceutical Sciences", 19th ed., Mack Publishing Company, Easton, Penn., 1995. Outros detalhes referentes ao projeto e à preparação de formas de liberação adequadas das composições farmacêuticas da descrição são conhecidos dos peritos na técnica.

Os níveis de dosagem de entre aproximadamente 0,05 e aproximadamente 100 miligramas por quilograma ("mg/kg") de peso do corpo por dia, mais especificamente entre aproximadamente 0,1 e aproximadamente 50 mg/kg de peso do corpo por dia dos compostos da descrição são típicos em uma monoterapia para a prevenção e/ou para o tratamento de doença mediada por HCV. Tipicamente, as composições farmacêuticas desta descrição serão administradas desde aproximadamente 1 até aproximadamente 3 vezes por dia ou alternativamente, como uma infusão contínua. Tal administração pode ser usada como uma terapia crônica ou aguda. A quantidade de ingrediente ativo que pode ser combinada com os materiais veículos para produzir uma forma de dosagem simples irá variar dependendo do hospedei-

ro tratado e do modo de administração em particular.

Como o versdo na técnica irá considerar, podem ser necessárias doses menores ou maiores do que aquelas citadas acima. Regimes de dosagem específica e de tratamento para qualquer paciente em particular irão
5 depender de uma variedade de fatores, inclusive a atividade do composto específico empregado, da idade, do peso do corpo, o status geral de saúde, do gênero, de dieta, do tempo de administração, da duração do tratamento, da taxa de excreção, da combinação de fármacos, da gravidade e do período da infecção, da disposição do paciente em relação à infecção e do julga-
10 mento do médico encarregado do caso. Em uma modalidade, as formulações de dosagem unitária são aquelas que contêm uma dose diária ou uma subdose, como citado aqui acima ou uma fração apropriada da mesma, de um ingrediente ativo. De modo geral, o tratamento é iniciado com pequenas dosagens substancialmente menores do que a dose ótima do peptídeo. De-
15 pois disso, a dosagem é aumentada por pequenos incrementos até que seja conseguido o efeito ótimo sob as circunstâncias. Em geral, o composto é mais desejavelmente administrado em um nível de concentração que de modo geral irá fornecer resultados antiviralmente eficazes sem provocar ne-
nhum dano ou efeitos colaterais prejudiciais.

20 Quando as composições desta descrição compreendem uma combinação da polimorfa da descrição e um ou mais agentes terapêuticos ou profiláticos adicionais, tanto o composto como o agente adicional estão usualmente presentes a níveis de dosagem de entre aproximadamente 10 e 100 por cento e mais preferivelmente entre aproximadamente 10 e 80 por
25 cento da dosagem normalmente administrada em um regime de monoterapia. A administração de um ou mais agentes adicionais pode ocorrer antes, depois ou simultaneamente com polimorfa da presente descrição.

Quando a polimorfa for formulada juntamente com um veículo farmacologicamente aceitável, a composição resultante pode ser administra-
30 da *in vivo* a mamíferos, tal como o ser humano, para inibir NS5A ou para tratar ou prevenir a infecção pelo vírus HCV. Tal tratamento também pode ser conseguido usando a polimorfa desta descrição em combinação com

agentes que incluem, porém não estão limitados a: Agentes imunomoduladores, tais como interferons; outros agentes antivirais tais como ribavirina, amantadina; outros inibidores de NS5A; inibidores de outros alvos no ciclo de vida do HCV tais como helicase, protease, polimerase, metaloprotease ou sítio de entrada interno do ribossomo ou combinações dos mesmos. Os agentes adicionais podem ser combinados com a polimorfa desta descrição para criar uma forma de dosagem simples. Alternativamente, estes agentes adicionais podem ser administrados separadamente a um mamífero como parte de uma forma de dosagem múltipla.

A Tabela 1 a seguir relaciona alguns exemplos ilustrativos de compostos que podem ser administrados com os compostos desta descrição. Os compostos da descrição podem ser administrados com outros compostos com atividade anti HCV em terapia de combinação, em associação ou separadamente ou pela combinação dos compostos em uma composição.

Tabela 1

Nome da Marca	Classe Fisiológica	Tipo de Inibidor ou Alvo	Companhia de Origem
NIM811		Inibidor de Ciclofilina	Novartis
Zadaxin		Imunomodulador	Sciclone
Suvus		Azul de metileno	Bioenvision
Actilon (CPG10101)		Agonista TLR9	Coley
Batabulin (T67)	Anticâncer	Inibidor de β -tubulina	Tularik Inc., South San Francisco, CA
ISIS 14803	Antiviral	antisense	ISIS Pharmaceuticals Inc, Carlsbad, CA/Elan Pharmaceuticals Inc., New York, NY
Summetrel	Antiviral	antiviral	Endo Pharmaceuticals Holdings Inc., Chadds Ford, PA

Nome da Marca	Classe Fisiológica	Tipo de Inibidor ou Alvo	Companhia de Origem
GS-9132 (ACH-806)	Antiviral	Inibidor de HCV	Achillion / Gilead
Compostos pirazolopirimidina e sais da WO-2005047288 26 de maio de 2005	Antiviral	Inibidores de HCV	Arrow Therapeutics Ltd.
Levovirina	Antiviral	Inibidor de IMP-DH	Ribapharm Inc., Costa Mesa, CA
Merimepodib (VX-497)	Antiviral	Inibidor de IMP-DH	Vertex Pharmaceuticals Inc., Cambridge, MA
XTL-6865 (XTL-002)	Antiviral	Anticorpo monoclonal	XTL Biopharmaceuticals Ltd., Rehovot, Isreal
Telaprevir (VX-950, LY-570310)	Antiviral	Inibidor de NS3 serina protease	Vertex Pharmaceuticals Inc., Cambridge, MA/ Eli Lilly e Co. Inc., Indianapolis, IN
HCV-796	Antiviral	Inibidor de NS5B Replicase	Wyeth / Viropharma
NM-283	Antiviral	Inibidor de NS5B Replicase	Idenix / Novartis
GL-59728	Antiviral	Inibidor de NS5B Replicase	Gene Labs / Novartis
GL-60667	Antiviral	Inibidor de NS5B Replicase	Gene Labs / Novartis
2'C MeA	Antiviral	Inibidor de NS5B Replicase	Gilead
PSI 6130	Antiviral	Inibidor de NS5B Replicase	Roche
R1626	Antiviral	Inibidor de NS5B Replicase	Roche
2'C Metil adenosina	Antiviral	Inibidor de NS5B Replicase	Merck

Nome da Marca	Classe Fisiológica	Tipo de Inibidor ou Alvo	Companhia de Origem
JTK-003	Antiviral	Inibidor de RdRp	Japan Tobacco Inc., Tóquio, Japão
Levovirina	Antiviral	Ribavirina	ICN Pharmaceuticals, Costa Mesa, CA
Ribavirina	Antiviral	Ribavirina	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
Viramidina	Antiviral	Fármaco Ribavirina	Ribapharm Inc., Costa Mesa, CA
Heptazima	Antiviral	ribozima	Ribozyme Pharmaceuticals Inc., Boulder, CO
BILN-2061	Antiviral	Inibidor de serina protease	Boehringer Ingelheim Pharma KG, Ingelheim, Germany
SCH 503034	Antiviral	Inibidor de serina protease	Schering Plough
Zadazim	Imuno modulador	Imuno modulador	SciClone Pharmaceuticals Inc., San Mateo, CA
Ceplene	Imuno modulador	Imuno modulador	Maxim Pharmaceuticals Inc., San Diego, CA
CellCept	Imunossupressor	HCV IgG Imunossupressor	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basileia, Switzerland
Civacir	Imunossupressor	HCV IgG Imunossupressor	Nabi Biopharmaceuticals Inc., Boca Raton, FL
Albuferon - α	Interferon	albumin IFN- α 2b	Human Genome Sciences Inc., Rockville, MD
Infergen A	Interferon	IFN alfacon-1	InterMune Pharmaceuticals Inc., Brisbane, CA

Nome da Marca	Classe Fisiológica	Tipo de Inibidor ou Alvo	Companhia de Origem
Omega-IFN	Interferon	ω -IFN	Intarcia Therapeutics
β -IFN e EMZ701	Interferon	β -IFN e EMZ701	Transition Therapeutics Inc., Ontario, Canadá
Rebif	Interferon	β 1a-IFN	Serono, Genebra, Suíça
Roferon A	Interferon	α 2a-IFN	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basileia, Switzerland
Intron A	Interferon	IFN- α 2b	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
Intron A e Zada-xin	Interferon	α 2b-IFN/ α 1-timosina	RegeneRx Biopharmaceuticals Inc., Bethesda, MD/SciClone Pharmaceuticals Inc, San Mateo, CA
Rebetron	Interferon	IFN- α 2b/ribavirina	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
Actimmune	Interferon	INF- γ	InterMune Inc., Brisbane, CA
Interferon- β	Interferon	Interferon- β -1a	Serono
Multiferon	Interferon	IFN de Longa Duração	Viragen/Valentis
Wellferon	Interferon	linfoblastoide α n1-IFN	GlaxoSmithKline plc, Uxbridge, UK
Omniferon	Interferon	α -IFN natural	Viragen Inc., Plantation, FL
Pegasys	Interferon	IFN- α 2 PEGUI-LADO	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basileia, Switzerland

Nome da Marca	Classe Fisiológica	Tipo de Inibidor ou Alvo	Companhia de Origem
Pegasys e Celpene	Interferon	IFN- α 2a PEGUI-LADO / imuno modulador	Maxim Pharmaceuticals Inc., San Diego, CA
Pegasys e Ribavirina	Interferon	IFN- α 2a PEGUI-LADO / ribavirina	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basileia, Switzerland
PEG-Intron	Interferon	IFN- α 2b PEGuilado	Schering-Plough Corporation. Kenilworth, NJ
PEG-Intron / Ribavirin	Interferon	α 2b-IFN/ribavirina PEGuilada	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
IP-501	Proteção do fígado	Antifibrótico	Indevus Pharmaceuticals Inc., Lexington, MA
IDN-6556	Proteção do fígado	Inibidor da caspase	Idun Pharmaceuticals Inc., San Diego, CA
ITMN-191 (R-7227)	Antiviral	Inibidor da serina protease	InterMune Pharmaceuticals Inc., Brisbane, CA
GL-59728	Antiviral	Inibidor de NS5B Replicase	Genelabs
ANA-971	Antiviral	agonista TLR-7	Anadys

Um outro aspecto desta descrição fornece métodos de inibir a atividade de HCV NS5A em pacientes por administração da polimorfa da presente descrição.

Em uma modalidade, estes métodos são úteis para diminuir a atividade do HCV NS5A no paciente. Se a composição farmacêutica compreender somente a polimorfa desta descrição como um componente ativo, tais métodos podem adicionalmente compreender a etapa de administrar ao dito paciente um agente selecionado entre um agente imunomodulador, um agente antiviral, um inibidor de HCV NS5A ou um inibidor de outros alvos no ciclo de vida do HCV tais como, por exemplo, helicase, polimerase, protease

ou metaloprotease. Tal agente adicional pode ser administrado ao paciente antes de, concorrentemente com ou depois da administração dos compostos desta descrição.

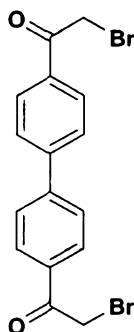
Em uma outra modalidade, estes métodos são úteis para inibir a replicação viral em um paciente. Tais métodos podem ser úteis no tratamento ou na prevenção de doença por HCV.

A polimorfa da descrição também pode ser usada como um reagente para laboratório. A polimorfa pode ser de utilidade para fornecer ferramentas de pesquisa para projeto de ensaios de replicação viral, validação de sistemas de ensaios com animais e em estudos de biologia estrutural para melhorar ainda mais o conhecimento dos mecanismos de doenças por HCV.

A polimorfa desta descrição também pode ser usada para tratar ou prevenir a contaminação por vírus de materiais e, portanto reduzir o risco de infecção viral de pessoal para laboratório ou clínica médica ou de pacientes que entram em contato com tais materiais, por exemplo, sangue, tecido, instrumentos cirúrgicos e vestuário, instrumentos para laboratório e vestuário e aparelhagem e materiais para coleta de sangue ou de transfusão.

Os exemplos não-limitativos a seguir são ilustrativos da descrição.

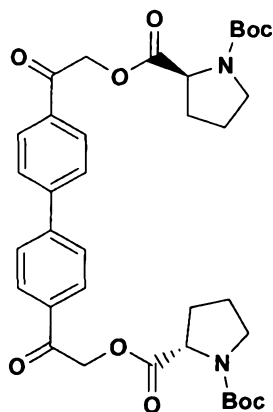
EXEMPLOS



Preparação do Composto 2

Um frasco de fundo redondo com 3 gargalos, de 1 litro, adaptado com uma linha de nitrogênio, agitador no topo e termopar, foi carregado com 20 g (83,9 mmols, 1 equiv.) de 1, 1'-(bifenil-4, 4'-diil) dietanona, 200 mL de CH_2Cl_2 e 8,7 mL (27,1g, 169,3 mmols, 2,02 equiv.) de bromo. A mistura foi

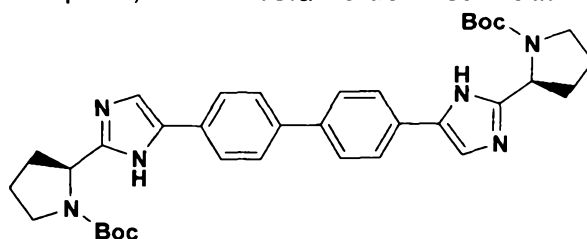
deixada agitar sob nitrogênio durante aproximadamente 20 horas sob condições ambientes. A pasta resultante foi carregada com 200 mL de CH_2Cl_2 e concentrada até aproximadamente 150 mL por meio de destilação a vácuo. Foi então trocado o solvente da pasta para THF até um volume-alvo de 200 mL por destilação a vácuo. A pasta foi resfriada até 20 - 25° C durante 1 hora e deixada agitar a 20 - 25° C durante uma hora adicional. Os sólidos cristalinos esbranquiçados foram filtrados e lavados com 150 mL de CH_2Cl_2 . O produto foi seco sob vácuo a 60° C para fornecer 27,4 g (69,2 mmols, 82 %) do produto desejado: ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7,95-7,85 (m, 4H), 7,60-7,50 (m, 4H), 4,26 (s, 4H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ 191,0, 145,1, 133,8, 129,9, 127,9, 30,8; IV (KBr, cm^{-1}) 3007, 2950, 1691, 1599, 1199; Anal. Calc. para $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{Br}_2\text{O}_2$: C, 48,52; H, 3,05; Br, 40,34. Achado: C, 48,53; H, 3,03; Br, 40,53. HRMS Calc. para $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{Br}_2\text{O}_2$ ($\text{M} + \text{H}^+$; DCI^+): 394,9282. Achado: 394,9292. p.f. 224-226 °C.



15 Preparação do Composto 3

Um frasco de 500 mL com camisa, adaptado com uma linha de nitrogênio, termopar e agitador de topo, foi carregado com 20 g (50,5 mmols, 1 equiv.) de Composto 2, 22,8 g (105,9 mols, 2,10 equiv.) 1-(*tert*-butoxicarbonil)-L-prolina e 200 mL de acetonitrila. A pasta foi resfriada até 20 °C seguida pela adição de 18,2 mL (13,5 g, 104,4 mmols, 2,07 equiv.) de DIPEA. A pasta foi aquecida até 25 °C e deixada agitar durante 3 horas. A solução orgânica transparente resultante foi lavada com 3 x 100 mL de NaCl aquoso a 13 % em peso. A solução rica em acetonitrila sofreu troca de solvente com tolueno (volume-alvo = 215 mL) por destilação a vácuo até que

houvesse menos do que 0,5 % em volume de acetonitrila.



Preparação do Composto 4

A solução em tolueno de Composto 3 foi carregada com 78 g (1,011 mol, 20 equiv.) de acetato de amônio e aquecida até 95-100 °C. A

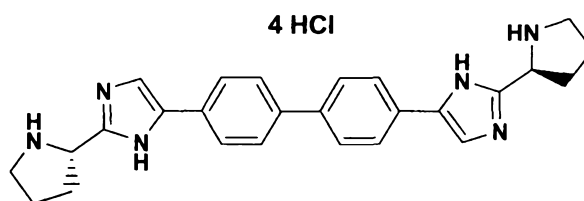
5 mistura foi deixada agitar a 95-100 °C durante 15 horas. Depois de completada a reação, a mistura foi resfriada até 70-80 °C e carregada com 7 mL de ácido acético, 40 mL de n-butanol e 80 mL de ácido acético aquoso a 5 % em volume. A solução bifásica resultante foi dividida enquanto se mantém uma temperatura de > 50 °C. A fase orgânica rica foi carregada com 80 mL

10 de ácido acético aquoso a 5 % em volume, 30 mL de ácido acético e 20 mL de n-butanol enquanto se mantém uma temperatura de > 50 °C. A solução bifásica resultante foi dividida enquanto se mantém uma temperatura de > 50 °C e a fase orgânica rica foi lavada com uns 80 mL adicionais de ácido acético aquoso a 5 % em volume. A fase orgânica rica sofreu então troca de

15 solvente para tolueno para um volume-alvo de 215 mL por destilação a vácuo. Enquanto se mantém uma temperatura de > 60 °C, foram carregados 64 mL de metanol. A pasta resultante foi aquecida até 70-75 °C e envelhecida durante 1 hora. A pasta foi resfriada até 20-25 °C durante 1 hora e envelhecida àquela temperatura durante uma hora adicional. A pasta foi filtrada e

20 a torta foi lavada com 200 mL de tolueno : metanol 10:3. O produto foi seco sob vácuo a 70 °C, resultando em 19,8 g (31,7 mmols, 63%) do produto desejado: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13,00-11,00 (s, 2H), 7,90-7,75 (m, 4H), 7,75-7,60 (m, 4H), 7,60-7,30 (s, 2H), 4,92-4,72 (m, 2H), 3,65-3,49 (m, 2H), 3,49-3,28 (m, 2H), 2,39-2,1 (m, 2H), 2,10-1,87 (m, 6H), 1,60-1,33 (s, 8H), 1,33-1,07 (s, 10H); ¹³C RMN (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 154,1, 153,8, 137,5, 126,6, 125,0, 78,9, 78,5, 55,6, 55,0, 47,0, 46,7, 33,7, 32,2, 28,5, 28,2, 24,2, 23,5; IR (KBr, cm⁻¹) 2975, 2876, 1663, 1407, 1156, 1125; HRMS Calc. para C₃₆H₄₅N₆O₄ (M + H; ESI⁺): 625,3502. Achado: 625,3502. p.f. 190-195

°C (decomposto).

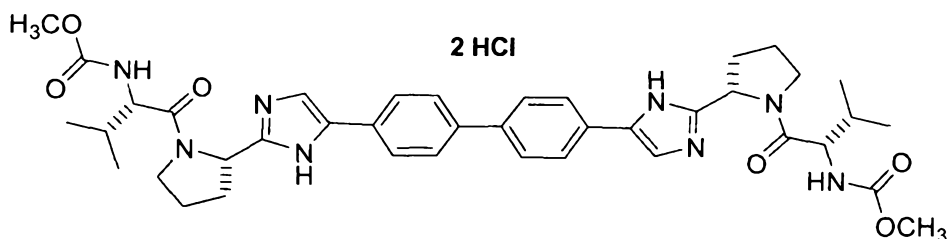


Preparação do Composto 5

A um reator de 250 mL equipado com uma linha de nitrogênio e um agitador de topo, 25,0 g de Composto 4 (40,01 mmols, 1 equiv.) foram carregados seguidos de 250 mL de metanol e 32,85 mL (400,1 mmols, 10 equiv.) de HCl aquoso 6 M. A temperatura foi aumentada até 50 °C e agitada a 50 °C durante 5 horas. A pasta resultante foi resfriada até 20-25 °C e mantida com agitação durante aproximadamente 18 horas. A filtração da pasta forneceu um sólido que foi lavado sucessivamente com 100 mL de 90 % metanol/água (V/V) e 2 x 100 mL de metanol. A torta úmida foi seca em uma estufa a vácuo a 50 °C durante toda a noite para fornecer 18,12 g (31,8 mmols, 79,4%) do produto desejado.

Recristalização do Composto 5

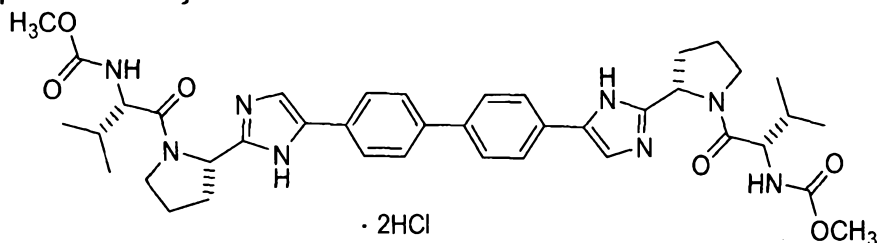
A um reator de 250 mL equipado com uma linha de nitrogênio e um agitador de topo, 17,8 g de Composto 5 acima foram carregados seguidos por 72 mL de metanol. A pasta resultante foi agitada a 50 °C durante 4 horas, resfriada até 20-25 °C e mantida com agitação a 20-25 °C durante 1 hora. A filtração da pasta forneceu um sólido cristalino que foi lavado com 60 mL de metanol. A torta úmida resultante foi seca em uma estufa a vácuo a 50 °C durante 4 dias para fornecer 14,7 g (25,7 mmols, 82,6 %) do produto purificado: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,5-10,25 (br, 2H), 10,1-9,75 (br, 2H), 8,19 (s, 2H), 7,05 (d, J = 8,4, 4H), 7,92 (d, J = 8,5, 4H), 5,06 (m, 2H), 3,5-3,35 (m, 4H), 2,6-2,3 (m, 4H), 2,25-2,15 (m, 2H), 2,18-1,96 (m, 2H); ¹³C RMN (100 MHz, DMSO- *d*₆) δ 156,6, 142,5, 139,3, 128,1, 127,5, 126,1, 116,9, 53,2, 45,8, 29,8, 24,3; IV (KBr, cm⁻¹) 3429, 2627, 1636, 1567, 1493, 1428, 1028. Anal Calc. para C₂₆H₃₂N₆Cl₄: C, 54,75; H, 5,65; Cl, 24,86; Ajustado para 1,9 % de água: C, 53,71; H, 5,76; N, 14,46; Cl, 24,39. Achado: C, 53,74; H, 5,72; N, 14,50; Cl, 24,49; KF = 1,9. p.f. 240 °C (decomposto).



Preparação do Composto (I)

Um frasco de 1 L com camisa equipado com uma linha de nitrogênio e um agitador de topo foi carregado sequencialmente com 100 mL de acetonitrila, 13,69 g (89,4 mmols, 2,5 equiv.) de hidrato de hidroxibenzotriazol, 15,07 g (86 mmols, 2,4 equiv.) de *N*-(metoxycarbonil)-L-valina, 16,46 g (85,9 mmols, 2,4 equiv.) de cloridrato de 1-(3-dimetilaminopropi)-3-etilcarbodiimida e 100 mL adicionais de acetonitrila. A solução resultante foi agitada a 20 °C durante 1 hora e carregada com 20,4 g (35,8 mmols, 1 equiv.) de Composto 5 purificado. A pasta foi resfriada até aproximadamente 0 °C e 18,47 g (142,9 mmols, 4 equiv.) de diisopropiletilamina foram adicionados durante 30 minutos enquanto se mantém uma temperatura abaixo de 10 °C. A solução foi aquecida lentamente a 15 °C durante 3 horas e mantida a 15 °C durante 12 horas. A solução resultante foi carregada com 120 mL de NaCl aquoso a 13 % em peso e aquecida até 50 °C durante 1 hora. Depois do resfriamento até 20 °C, foram adicionados 100 mL de acetato de isopropila. A solução bifásica foi filtrada através de um filtro de 0,45 µm e a mistura dividida. A fase orgânica rica foi lavada com 2 x 240 mL de uma solução de NaOH 0,5 N que contém 13 % em peso de NaCl seguida por 120 mL de NaCl aquoso a 13 % em peso. A mistura sofreu então troca de solvente em acetato de isopropila por destilação a vácuo com um volume-alvo de 400 mL. A solução turva resultante foi resfriada até 20 °C e filtrada através de um filtro de 0,45 µm. A solução transparente sofreu então troca de solvente em etanol por destilação a vácuo com um volume-alvo de 140 mL. Enquanto se mantém uma temperatura de 50 °C, foram adicionados 66,4 mL (82,3 mmols, 2,3 equiv.) de HCl em etanol a 1,24 M. A mistura foi então carregada com 33 mg (0,04 mmol, 0,001 equiv.) de sementes de cristais de Composto (I) (ver preparação a seguir) e a pasta resultante foi agitada a 50 °C durante 3 horas. A mistura foi resfriada até 20 °C durante 1 hora e envelhecida àque-

la temperatura durante umas 22 horas adicionais. A pasta foi filtrada e a torta úmida foi lavada com 100 mL de 2:1 acetona : etanol. Os sólidos foram secos em uma estufa a vácuo a 70 °C para fornecer 22,15 g (27,3 mmols, 76,3 %) do produto desejado.



5 Tratamento com Carvão e Recristalização of Composto (I)

Uma solução de Composto (I) foi preparada por dissolução de 3,17 g de Composto (I) como acima em 22 mL de metanol. A solução foi passada através de um filtro Cuno Zeta Carbon® 53SP de 47 mm a aproximadamente **0,0345 MPa** (~5 psig) a uma vazão de ~ 58 mL/min. O filtro de carvão foi enxaguado com 32 mL de metanol. A solução foi concentrada até 16 mL por destilação a vácuo. Enquanto se mantém uma temperatura de 40-50 °C, foram adicionados 15,9 mL de acetona e 5 mg de cristais sementes de Composto (I) (ver o procedimento a seguir). A pasta resultante foi então carregada com 32 mL de acetona durante 30 minutos. A pasta foi mantida a 50° C durante 2 horas, resfriada até 20° C durante aproximadamente 1 hora e mantida a 20 °C durante aproximadamente 20 horas. Os sólidos foram filtrados, lavados com 16 mL de acetona : metanol 2:1 e secos em uma estufa a vácuo a 60 °C para fornecer 2,14 g (67,5 %) de Composto (I) purificado: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆, 80 °C): 8,02 (d, *J*=8,34 Hz, 4 H), 7,97 (s, 2 H), 7,86 (d, *J*=8,34 Hz, 4 H), 6,75 (s, 2 H), 5,27 (t, *J*=6,44 Hz, 2 H), 4,17 (t, *J*=6,95 Hz, 2 H), 3,97 - 4,11 (m, 2 H), 3,74 - 3,90 (m, 2 H), 3,57 (s, 6 H), 2,32 - 2,46 (m, 2 H), 2,09 - 2,31 (m, 6 H), 1,91 - 2,07 (m, 2 H), 0,88 (d, *J*=6,57 Hz, 6 H), 0,79 (d, *J*=6,32 Hz, 6 H); ¹³C RMN (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ 170,9, 156,9, 149,3, 139,1, 131,7, 127,1, 126,5, 125,9, 115,0, 57,9, 52,8, 51,5, 47,2, 31,1, 28,9, 24,9, 19,6, 17,7; IV (puro, cm⁻¹): 3385, 2971, 2873, 2669, 1731, 1650, Anal. Calc. para C₄₀H₅₂N₈O₆Cl₂: C, 59,18; H, 6,45; N, 13,80; Cl, 8,73. Achado C, 59,98; H, 6,80; N, 13,68; Cl, 8,77. p.f. 267 °C (decomposto).

Preparação de Sementes de Cristais de Composto (I)

Um frasco redondo de 250 mL foi carregado com 6,0 g (10,5 mmols, 1 equiv.) de Composto 5, 3,87 g (22,1 mmols, 2,1 equiv.) de N-(metoxycarbonil)-L-valina, 4,45 g (23,2 mmols, 2,2 equiv.) de cloridrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida, 0,289 g (2,14 mmols, 0,2 equiv.) de 1-hidroxibenzotriazol e 30 mL de acetonitrila. A pasta resultante foi então carregada com 7,33 mL (42,03 mmols, 4 equiv.) de diisopropiletilamina e deixada agitar a 24-30 °C durante aproximadamente 18 horas. A mistura foi carregada com 6 mL de água e aquecida até 50 °C durante aproximadamente 5 horas. A mistura foi resfriada e carregada com 32 mL de acetato de etila e 30 mL de água. As camadas foram separadas e a camada orgânica rica foi lavada com 30 mL de NaHCO₃ aquoso a 10 % em peso, 30 mL de água e 20 mL de NaCl aquoso a 10 % em peso. A camada orgânica rica foi então seca sobre MgSO₄, filtrada e concentrada a um resíduo. O material bruto foi então purificado por cromatografia rápida (sílica-gel, 0-10 % de metanol em diclorometano) para fornecer a base livre de Composto (I).

A base livre de Composto (I) (0,03 g) foi dissolvida em 1 mL de isopropanol a 20 °C. Foi adicionado HCl anidro (70 µL, dissolvidos em etanol, foi adicionado aproximadamente 1,25 M de concentração) e a mistura da reação foi agitada. À solução foi adicionado metil *terc*-butil éter (1 mL) e a pasta resultante foi agitada vigorosamente a 40 °C até 50 °C durante 12 horas. A pasta de cristal foi resfriada até 20 °C e filtrada. A torta úmida foi seca ao ar a 20 °C. Foi obtido um sólido cristalino branco (Forma N-2 do Composto (I)).

A Forma N-2 foi analisada usando-se um ou mais dos métodos de testagem descritos a seguir.

1 - Medidas em Raios X com o Cristal Simples

Um difratômetro Bruker APEX2 Kappa CCD equipado com um gerador de anodo giratório de radiação Cu K α , (λ = 1,54178 Å) foi usado para coletar dados de difração à temperatura ambiente. Indexamento e processamento dos dados de intensidade medidos foram realizados com o APEX2 software package/program suite (APEX2 Data collection e processing user interface: APEX2 User Manual, v1.27; BRUKER AXS, Inc., 5465 East Cheryl

Parkway, Madison, WI 53711 USA). Os parâmetros finais da célula unitária foram determinados usando-se todo o conjunto de dados.

A estrutura foi resolvida por métodos diretos e refinada pelas técnicas dos mínimos quadrados da matriz total que usa o SHELXTL software package (Sheldrick, GM. 1997, SHELXTL. Structure Determination Programs. Version 5.10, Bruker AXS, Madison, Wisconsin, USA.). a função minimizada nos refinamentos foi $\sum w(|F_o| - |F_c|)^2$. R é definido como $\sum ||F_o| - |F_c|| / \sum |F_o|$ enquanto $R_w = [\sum w(|F_o| - |F_c|)^2 / \sum w |F_o|^2]^{1/2}$, quando w for uma função de peso apropriada baseada em erros nas intensidades observadas. Os mapas de diferença de Fourier foram examinados em todos os estágios de refinamento. Todos os átomos sem ser hidrogênio foram refinados com parâmetros de deslocamento térmico anisotrópicos. Os átomos de hidrogênio associados à ligação de hidrogênio estavam localizados nos mapas finais de diferença de Fourier enquanto as posições dos outros átomos de hidrogênio foram calculadas partindo de uma geometria idealizada com comprimentos e ângulos de ligação padronizados. Foram concedidos fatores de temperatura isotrópicos e incluídos nos cálculos de fator de estrutura com os parâmetros fixos.

Os dados do cristal da forma N-2 são apresentados na Tabela 2. As coordenadas atômicas fracionadas estão relacionadas na Tabela 3. Devia ser entendido por um perito na técnica que são possíveis ligeiras variações nas coordenadas e são consideradas como estando dentro do âmbito da presente descrição.

Tabela 2. Dados do Cristal Data da Forma N-2

25	Temperatura	temperatura ambiente
	Comprimento de onda	1,54178 Å
	Sistema do cristal, Grupo espacial	Triclínico, P1
	Dimensões da célula unitária	$a = 7,5680(2)$ Å $\alpha = 74,132(2)^\circ$ $b = 9,5848(3)$ Å $\beta = 84,132(2)^\circ$ $c = 16,2864(5)$ Å $\gamma = 70,646(2)^\circ$
30	Volume	1072,06(5) Å ³
	Z, Densidade calculada	1, 1,257 Mg/m ³

Tabela 3. Coordenadas atômicas

Átomo	X	Y	Z	Átomo	X	Y	Z
C7	0,0807	-0,0688	0,0165	H3	0,0264	0,2281	-0,0035
C16	-0,5489	0,4635	-0,1121	H17	-0,7884	0,4046	-0,0848
C4	-0,0807	0,0688	-0,0165	H2	-0,2192	0,4393	-0,0575
C18	-0,7034	0,6975	-0,1863	H5	-0,2549	-0,0380	-0,0365
C13	0,5516	-0,4628	0,1105	H6	-0,5015	0,1728	-0,0892
C15	0,7037	-0,6988	0,1841	H9	0,5090	-0,1737	0,0755
C3	-0,0789	0,2157	-0,0218	H14	0,7875	-0,4013	0,0906
C10	0,3885	-0,3317	0,0771	H12	-0,0376	-0,2264	0,0165
C1	-0,3895	0,3303	-0,0781	H11	0,2109	-0,4403	0,0683
C17	-0,7335	0,4794	-0,1115	H8	0,2590	0,0389	0,0270
C2	-0,2275	0,3428	-0,0531	H19	0,8664	-0,8827	0,2693
C5	-0,2458	0,0584	-0,0412	H20A	0,6721	-0,9411	0,1489
C6	-0,3950	0,1847	-0,0720	H20B	0,8848	-1,0218	0,1745
C9	0,3978	-0,1858	0,0641	H22A	0,4299	-0,9831	0,2863
C14	0,7330	-0,4774	0,1143	H22B	0,5433	-1,0623	0,3720
C12	0,0728	-0,2143	0,0290	H24	0,4288	-0,8972	0,4553
C11	0,2233	-0,3439	0,0597	H29A	0,3610	-0,6896	0,7199
C8	0,2471	-0,0573	0,0347	H29B	0,5410	-0,6388	0,7042
C19	0,7480	-0,8565	0,2404	H29C	0,5552	-0,8060	0,7046
C20	0,7591	-0,9804	0,1959	H26A	0,0099	-0,5669	0,3086
C22	0,5494	-1,0075	0,3126	H26B	0,2158	-0,5619	0,2923
C24	0,3932	-0,7895	0,4232	H26C	0,1027	-0,5160	0,3723
C28	0,4299	-0,7573	0,5628	H25	0,2074	-0,8105	0,3478
C29	0,4783	-0,7007	0,6895	H21A	0,6629	-1,1660	0,2427
C26	0,1249	-0,5830	0,3353	H21B	0,8099	-1,1619	0,3036
C25	0,1972	-0,7461	0,3866	H27A	0,0368	-0,7163	0,4938
C21	0,7052	-1,0999	0,2661	H27B	0,1093	-0,8874	0,4894
C27	0,0588	-0,7834	0,4569	H27C	-0,0572	-0,7699	0,4319
C23	0,5435	-0,7711	0,3553	H30	-0,6271	0,8706	-0,2714
C30	-0,7440	0,8547	-0,2454	H31A	-0,9249	0,9498	-0,1547
C34	-0,8171	0,7743	-0,3628	H31B	-0,7674	1,0278	-0,1856
C31	-0,8522	0,9853	-0,2037	H33A	-1,1460	0,9828	-0,2916
C33	-1,0373	1,0092	-0,3191	H33B	-1,0659	1,0635	-0,3783

Átomo	X	Y	Z	Átomo	X	Y	Z
C32	-0,9782	1,1019	-0,2736	H32A	-1,0859	1,1679	-0,2499
C38	-0,8340	0,7734	-0,5748	H32B	-0,9111	1,1645	-0,3120
C36	-1,1117	0,7288	-0,3922	H36	-1,1758	0,7856	-0,3502
C39	-0,6953	0,7302	-0,7067	H39A	-0,7874	0,7037	-0,7301
C37	-1,0485	0,5605	-0,3464	H39B	-0,5733	0,6820	-0,7276
C35	-0,9477	0,7893	-0,4312	H39C	-0,7221	0,8392	-0,7235
N1	0,5385	-0,6067	0,1537	H37A	-1,1562	0,5276	-0,3279
N4	-0,5358	0,6044	-0,1590	H37B	-0,9757	0,5444	-0,2977
N2	0,8232	-0,6215	0,1585	H37C	-0,9736	0,5027	-0,3846
N3	-0,8254	0,6252	-0,1572	H35	-0,9995	0,8976	-0,4608
N6	-0,8719	0,8722	-0,3123	H1	0,4378	-0,6316	0,1597
N5	0,5974	-0,8687	0,3055	H4	-0,4338	0,6276	-0,1688
N8	-0,8375	0,7087	-0,4913	H2A	0,9413	-0,6576	0,1685
N7	0,3941	-0,6991	0,4812	H3A	-0,9442	0,6631	-0,1654
O4	-0,6651	0,6742	-0,3518	H8A	-0,7710	0,6146	-0,4726
O1	0,6094	-0,6663	0,3446	H7	0,3699	-0,6020	0,4611
O2	0,4413	-0,8890	0,6028	H40A	-1,1909	0,7164	-0,5066
O3	0,4448	-0,6524	0,5991	H40B	-1,3113	0,8675	-0,4819
O5	-0,9383	0,8955	-0,6125	H40C	-1,3481	0,7128	-0,4362
O6	-0,7001	0,6782	-0,6138				
C40	-1,2538	0,7592	-0,4606				
Cl1	-0,2486	0,7587	-0,1475				
Cl2	0,2421	-0,7524	0,1377				

2. Difração de raios X no Pó

Aproximadamente 200 mg foram compactados em um suporte para amostra de Difração de Raios X no Pó da Philips (PXRD). A amostra foi transferida para uma unidade Philips MPD (45 KV, 40 mA, Cu K α). Os dados foram coletados à temperatura ambiente na faixa de 2 a 32 2 θ (modo de varredura contínuo, taxa de varredura 0,03 grau/segundo., fendas de auto divergência e anti difusor, fenda de recepção: 0,2 mm, eixo de rotação da amostra: ON).

Os resultados do padrão de PXRD e de um padrão simulado calculado dos dados de cristal simples são apresentados na Figura 1.

A Tabela 4 relaciona os picos característicos de PXRD que descrevem a Forma N-2 do Composto (I).

Tabela 4. Posições características do pico de difração (graus $2\theta \pm 0,1$) à temperatura ambiente, baseadas em um padrão de alta qualidade coletado com um difratômetro ($\text{CuK}\alpha$) com um capilar girando com 2θ calibrado com outro padrão NIST adequado.

<u>Forma N-2</u>
10,3
12,4
12,8
13,3
13,6
15,5
20,3
21,2
22,4
22,7
23,7

3. Calorimetria Diferencial de Varredura

Experimentos de Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) foram realizados em um TA Instruments® model Q2000, Q1000 ou 2920. A amostra (aproximadamente 2-6 mg) foi pesada em uma cuba de alumínio e registrou com precisão até uma centena de um miligrama e transferiu-se para o DSC. O instrumento foi purgado com nitrogênio gasoso a 50 mL/min. Os dados foram coletados entre a temperatura ambiente e 300 °C a uma taxa de aquecimento de 10 °C/min. O gráfico foi realizado com os picos endotérmicos apontando para baixo.

Os resultados são apresentados na Figura 2.

4. RMN no Estado Sólido (SSRMN)

Todas as medidas de C-13 RMN no estado sólido foram realizadas com um espectrômetro de RMN Bruker DSX-400, de 400 MHz. Foram obtidos espectros de alta resolução usando desacoplamento de próton de alta potência e a sequência de pulso de TPPM e polarização cruzada de

amplitude rap.f. (RAMP-CP) com rotação de ângulo mágico (MAS) aproximadamente a 12 kHz (A.E. Bennett e outros, *J. Chem. Phys.* **1995**, 103, 6951). (G. Metz, X. Wu e S.O. Smith, *J. Magn. Reson. A.*, **1994**, 110, 219-227). Aproximadamente 70 mg de amostra, compactados em um rotor de zircônia em formato de lata foram usados para cada experimento. Desvios químicos (δ) foram referenciados para adamantane externo com a ressonância de alta frequência sendo ajustada a 38,56 ppm (W.L. Earl e D.L. VanderHart, *J. Magn. Reson.*, **1982**, 48, 35-54).

O espectro SSRMN é apresentado na Figura 3.

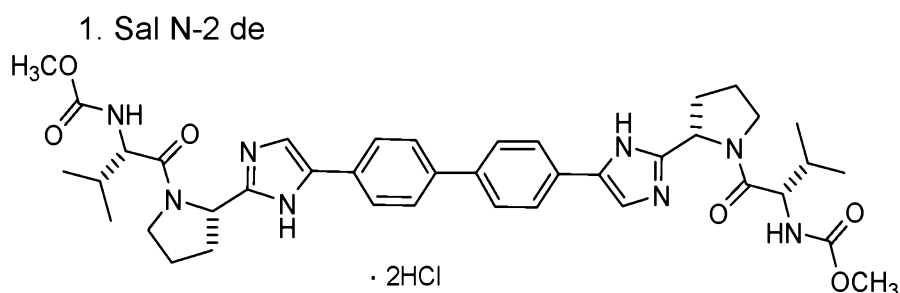
A Tabela 5 relaciona os picos SSRMN característicos que descrevem a Forma N-2 do Composto (I).

Tabela 5: Posições de pico de SSRMN da Forma N-2 do Composto (I). Posições de pico δ (em ppm) relativas à escala TMS.

Forma N-2
14,8
15,3
19,6
20,4
25,1
25,6
28,4
29,3
29,3
30,1
32,3
46,8
51,6
54,3
55,2
57,5
57,8
58,2
111,7
113,1

<u>Forma N-2</u>
125,4
127,4
128,5
132,6
133,7
138,8
150,5
151,9
156,7
169,9

REIVINDICAÇÕES



caracterizado por um ou mais dos seguintes:

a) uma célula unitária com parâmetros substancialmente iguais aos seguintes:

Dimensões da célula: $a = 7,5680 \text{ \AA}$

$b = 9,5848 \text{ \AA}$

$c = 16,2864 \text{ \AA}$

$\alpha = 74,132 \text{ graus}$

$\beta = 84,132 \text{ graus}$

$\gamma = 70,646 \text{ graus}$

Grupo espacial P1

Moléculas / célula unitária 1

em que a medida da dita forma cristalina é feita a uma temperatura entre aproximadamente 20°C e aproximadamente 25°C ;

b) os picos característicos no padrão de difração de raios X no pó a valores de dois teta de $10,3 \pm 0,1$, $12,4 \pm 0,1$, $12,8 \pm 0,1$, $13,3 \pm 0,1$, $13,6 \pm 0,1$, $15,5 \pm 0,1$, $20,3 \pm 0,1$, $21,2 \pm 0,1$, $22,4 \pm 0,1$, $22,7 \pm 0,1$ e $23,7 \pm 0,1$ a uma temperatura entre aproximadamente 20°C e aproximadamente 25°C ; e/ou

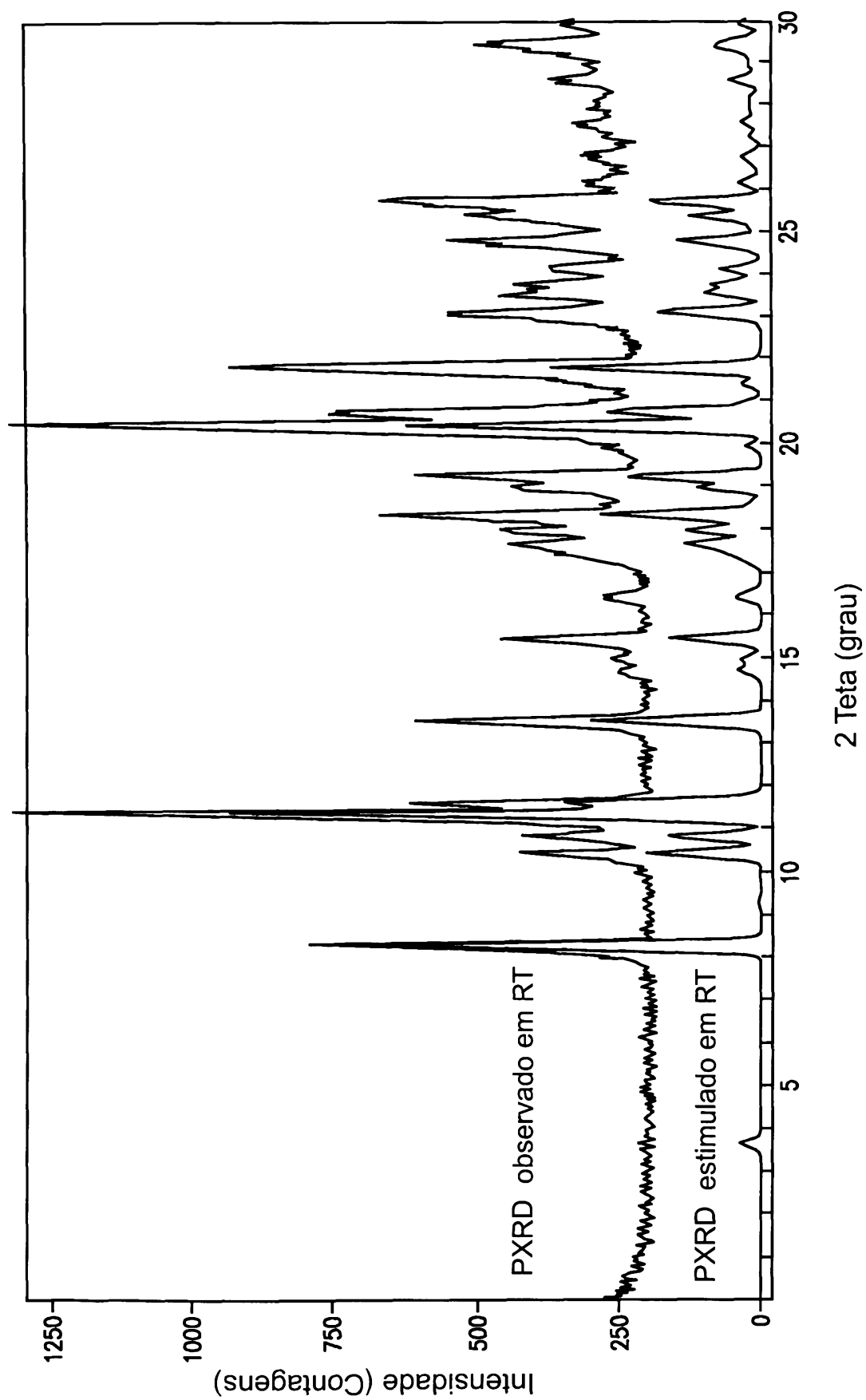
c) uma massa fundida com endoterma de decomposição com o início tipicamente na faixa de $225\text{-}245^\circ\text{C}$.

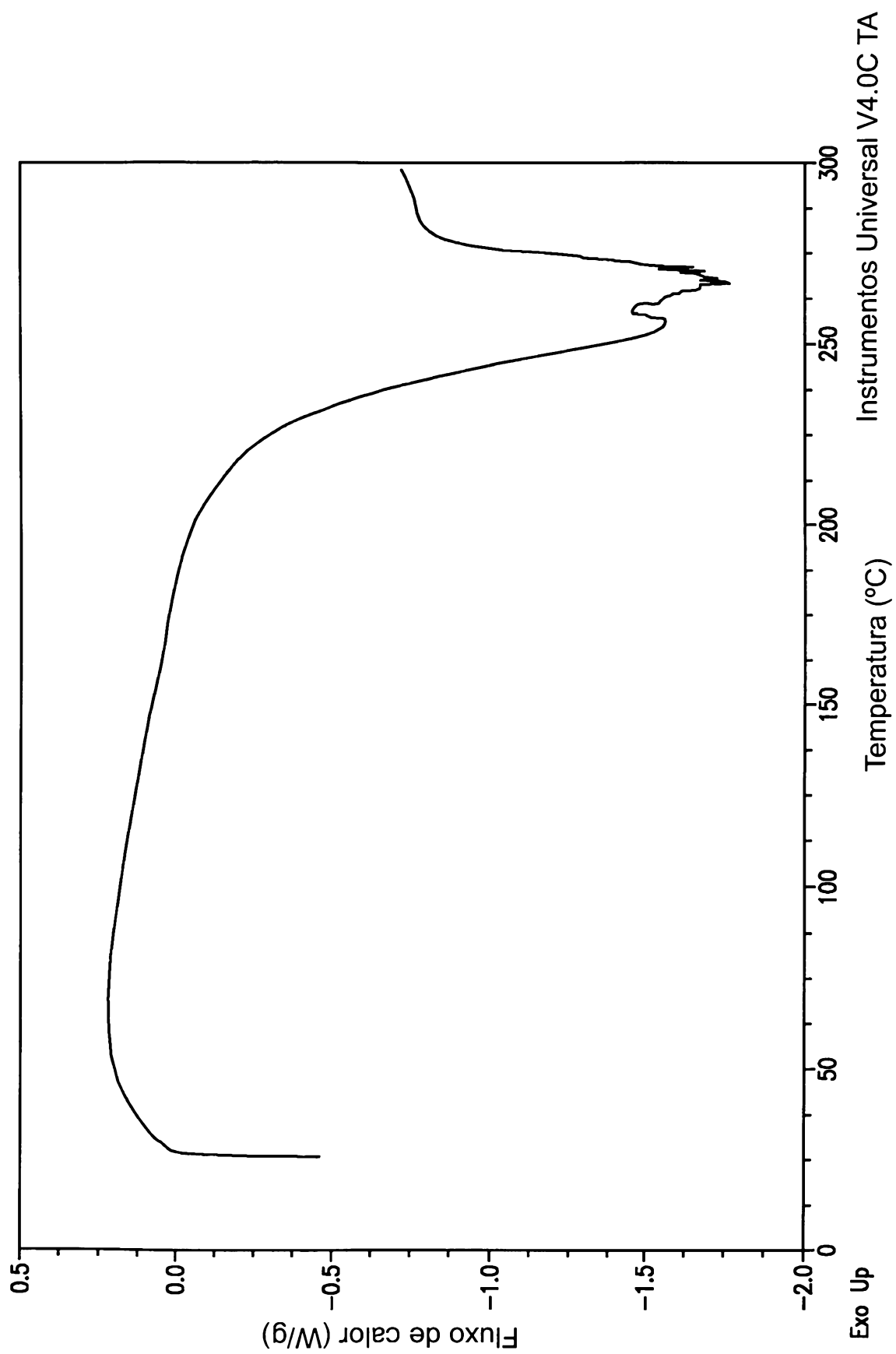
2. Sal de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que tem uma pureza de pelo menos 90 por cento em peso.

3. Sal de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que tem uma pureza de pelo menos 95 por cento em peso.

4. Sal de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que tem uma pureza de pelo menos 99 por cento em peso.

5. Sal N-2 de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de ser para uso no tratamento de infecção por HCV.

**FIG. 1**

**FIG. 2**

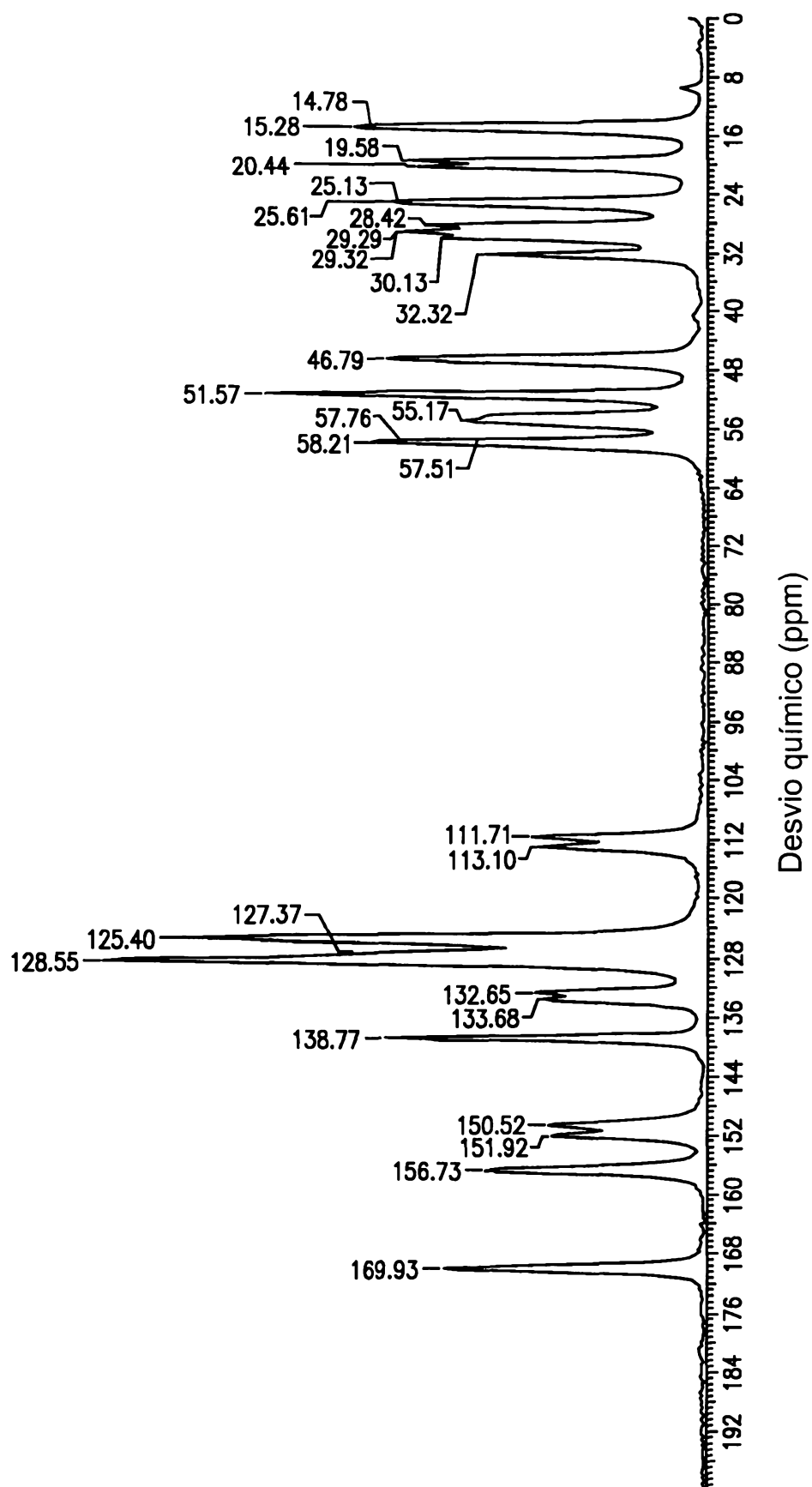


FIG. 3