
(11) Número de Publicação: **PT 2144604 E**

(51) Classificação Internacional:

A61K 31/16 (2011.01) **A61K 31/351** (2011.01)

A61K 31/381 (2011.01) **A61K 31/403** (2011.01)

A61K 31/405 (2011.01) **A61K 31/4402**

(2011.01)

A61K 31/4439 (2011.01) **A61P 1/16**

(2011.01)

(12) **FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: **2008.02.27**

(30) Prioridade(s): **2007.02.28 US 904322 P**
2007.06.26 US 937301 P

(43) Data de publicação do pedido: **2010.01.20**

(45) Data e BPI da concessão: **2011.09.21**
200/2011

(73) Titular(es):

CONATUS PHARMACEUTICALS, INC.

4365 EXECUTIVE DRIVE SUITE 200 SAN DIEGO,
CA 92121 US

(72) Inventor(es):

ALFRED P. SPADA

US

(74) Mandatário:

ANTÓNIO JOÃO COIMBRA DA CUNHA FERREIRA

RUA DAS FLORES, Nº 74, 4º AND 1249-235 LISBOA

PT

(54) Epígrafe: **MÉTODOS PARA O TRATAMENTO DA HEPATITE C VIRAL CRÓNICA UTILIZANDO RO-113-0830**

(57) Resumo:

SÃO AQUI PROPORCIONADOS MÉTODOS PARA O TRATAMENTO DE UMA DOENÇA HEPÁTICA POR ADMINISTRAÇÃO DE UM INIBIDOR DE METALOPROTEINASE DE MATRIZ. SÃO TAMBÉM PROPORCIONADOS MÉTODOS PARA A REDUÇÃO DA LESÃO HEPÁTICA ASSOCIADA À DOENÇA HEPÁTICA POR ADMINISTRAÇÃO DO INIBIDOR DE METALOPROTEINASE DE MATRIZ AQUI DESCrito. ADICIONALMENTE SÃO PROPORCIONADOS MÉTODOS PARA REDUÇÃO DE UM NÍVEL ELEVADO DE ENZIMAS HEPÁTICAS, POR ADMINISTRAÇÃO DO INIBIDOR DE METALOPROTEINASE DE MATRIZ.

RESUMO

**"Métodos para o tratamento da hepatite C viral crónica
utilizando RO-113-0830"**

São aqui proporcionados métodos para o tratamento de uma doença hepática por administração de um inibidor de metaloproteinase de matriz. São também proporcionados métodos para a redução da lesão hepática associada à doença hepática por administração do inibidor de metaloproteinase de matriz aqui descrito. Adicionalmente são proporcionados métodos para redução de um nível elevado de enzimas hepáticas, por administração do inibidor de metaloproteinase de matriz.

DESCRIÇÃO

"Métodos para o tratamento da hepatite C viral crónica utilizando RO-113-0830"

É aqui proporcionado um inibidor de metaloproteinase de matriz para utilização no tratamento da hepatite C viral crónica.

A doença hepática é uma lesão aguda ou crónica do fígado, normalmente causada por infecção, lesão, exposição a fármacos ou compostos tóxicos, álcool, impurezas dos alimentos e à anormal acumulação de substâncias normais no sangue, um processo autoimune ou por um defeito genético (tal como hemocromatose). Por vezes a causa exacta da lesão pode não ser conhecida. A doença hepática pode ser classificada como doença hepática aguda ou crónica com base na duração da doença. Na doença hepática aguda, tal como hepatite aguda e insuficiência hepática aguda (ALF), a história da doença não excede seis meses. As doenças hepáticas de maior duração são classificadas como doença hepática crónica.

As doenças hepáticas comuns incluem cirrose, fibrose hepática, doença do fígado gordo não alcoólico (NAFLD), esteato-hepatite não-alcoólica (NASH), lesão de isquémia-reperfusão hepática, cirrose biliar primária (PBC), hepatite, incluindo hepatite viral e alcoólica. As formas mais comuns de hepatite viral são a hepatite B e C (HBV e HCV, respectivamente). A hepatite crónica pode resultar em cirrose. A cirrose causada por infecção por hepatite C crónica é responsável por 8000-12000 mortes por ano nos Estados Unidos, e a infecção por HCV é a principal indicação para transplante hepático.

A morte das células hepáticas através de um processo conhecido como apoptose é comum em todas as formas de doença hepática. A apoptose das células hepáticas está ligada à fibrose hepática e outras doenças hepáticas. A prevenção da apoptose excessiva de células hepáticas é um componente importante no tratamento da doença hepática aguda e crónica (ver Guicciardi *et al.* *Gut*, 2005: 54, 1024-1033 e Ghavami *et al.*, *Med. Sci. Monit.*, 2005: 11(11): RA337-345).

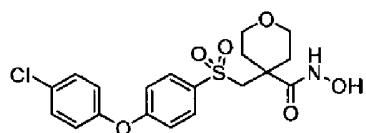
A presença de doença hepática activa é frequentemente detectada pela existência de níveis sanguíneos elevados de enzimas. Especificamente, os níveis sanguíneos de ALT (alanina-amino-transferase) e AST (aspartato-amino-transferase), acima dos intervalos normais clinicamente aceites, são conhecidos como indicativos de lesão hepática a decorrer. A monitorização por rotina de doentes com doença hepática quanto aos níveis sanguíneos de ALT e AST é clinicamente utilizada para medir o progresso da doença hepática durante o tratamento médico. A redução da ALT e AST elevada para o intervalo normal aceite é tida como evidência clínica que reflete uma redução na gravidade da lesão hepática a decorrer em doentes (Kim W. R. et al. *Hepatology*, 2008, pré-impressão aceite disponível on line, acessível no sítio electrónico do editor 2/20/2008).

À luz do facto de que as doenças hepáticas afectam uma ampla população de doentes, no mundo, e tem efeitos trágicos no doente afectado, persiste uma forte necessidade de proporcionar novos agentes farmacêuticos eficazes para tratar a doença hepática.

É aqui proporcionado um inibidor de metaloproteinase de matriz para utilização no tratamento da hepatite C viral crónica. Em certas concretizações, são proporcionadas utilizações para tratamento da hepatite C em doentes que falharam a terapêutica para a hepatite C. Numa concretização, as utilizações aqui proporcionadas reduzem a lesão hepática associada a doenças hepáticas crónicas. Numa concretização, as utilizações aqui proporcionadas reduzem os níveis elevados de enzimas hepáticas, tais como os níveis elevados de ALT (alanina-amino-transferase) e AST (aspartato-amino-transferase).

Em certas concretizações, as utilizações aqui proporcionadas são para inibição da replicação do vírus da hepatite C (HCV) numa célula infectada com vírus da hepatite C. Em certas concretizações, as utilizações aqui proporcionadas são para a inibição da replicação do vírus da hepatite C (HCV) num doente infectado com HCV.

O inibidor de metaloproteinase de matriz para as utilizações aqui proporcionadas é:



RO-113-0830.

São também descritas composições farmacêuticas contendo quantidades terapeuticamente eficazes de um ou mais dos compostos aqui descritos e um veículo farmaceuticamente aceitável, em que as composições farmacêuticas são úteis na prevenção, tratamento ou melhoria de um ou mais dos sintomas de doenças hepáticas.

É adicionalmente descrito um artigo de fabrico contendo material de acondicionamento, um composto ou seu derivado farmaceuticamente aceitável aqui descrito, que é utilizado no tratamento, prevenção ou melhoria de um ou mais sintomas associados a doença hepática e um rótulo que indica que o composto ou seu derivado farmaceuticamente aceitável é utilizado no tratamento, prevenção ou melhoria de um ou mais sintomas de uma doença hepática.

Definições

A não ser que de outro modo definido, todos os termos técnicos e científicos aqui utilizados têm o mesmo significado que o normalmente entendido por um perito na arte. Todos as patentes, pedidos de patente, pedidos de patente publicados e outras publicações são aqui incorporados por referência na sua totalidade. No caso de haver uma pluralidade de definições para os termos aqui utilizados, aqueles nesta secção prevalecem a não ser que de outro modo referido.

Como aqui utilizado, "sujeito" é um animal tal como um mamífero, incluindo humano, tal como um doente.

Como aqui utilizado, actividade biológica refere-se às actividades *in vivo* de um composto ou às respostas

fisiológicas que resultam da administração *in vivo* de um composto, composição ou outra mistura. Assim, a actividade biológica abrange os efeitos terapêuticos e comportamento farmacocinético de tais compostos, composições e misturas. As actividades biológicas podem ser observadas em sistemas *in vitro* concebidos para testar tais actividades.

Como aqui utilizado, os derivados farmaceuticamente aceitáveis de um composto incluem sais, ésteres, acetais, cetais, ortoésteres, hemiacetais, hemicetais, ácidos, bases, solvatos, hidratos ou seus pró-fármacos. Tais derivados podem ser facilmente preparados por aqueles peritos nesta arte utilizando métodos conhecidos para tal derivatização. Os compostos produzidos podem ser administrados a animais ou humanos sem efeitos tóxicos substanciais sendo ou farmaceuticamente activos ou pró-fármacos. Os sais farmaceuticamente aceitáveis incluem, mas não estão limitados a, sais amina, tais como mas não limitados a N,N'-dibenziletlenodiamina, cloroprocaina, colina, amónia, dietanolamina e outras hidroxialquilaminas, etilenodiamina, N-metilglucamina, procaina, N-benzilfenetilamina, 1-para-clorobenzil-2-pirrolidina-1'-ilmetilbenzimidazol, dietilamina e outras alquilaminas, piperazina e tris(hidroximetil)aminometano; sais de metais alcalinos, tais como mas não limitados a lítio, potássio e sódio; sais de metais alcalino-terrosos, tais como mas não limitados a bário, cálcio e magnésio; sais de metais de transição, tais como mas não limitados a zinco; e sais inorgânicos, tais como mas não limitados a, hidrogenofosfato de sódio e fosfato dissódico; e incluindo também, mas não limitado a, sais de ácidos minerais, tais como mas não limitados a, cloridratos e sulfatos; e sais de ácidos orgânicos, tais como mas não limitados a acetatos, lactatos, malatos, tartaratos, citratos, ascorbatos, succinatos, butiratos, valeratos, mesilatos e fumaratos. Ésteres farmaceuticamente aceitáveis incluem, mas não estão limitados a, ésteres de alquilo, alcenilo, alcinilo, arilo, aralquilo e cicloalquilo de grupos acídicos, incluindo, mas não limitados a, ácidos carboxílicos, ácidos fosfóricos, ácidos fosfínicos, ácidos sulfónicos, ácidos sulfínicos e ácidos borónicos. Os solvatos e hidratos farmaceuticamente aceitáveis são complexos de um composto com uma ou mais moléculas de solvente ou água, ou 1

a cerca de 100, ou 1 a cerca de 10, ou uma a cerca de 2, 3 ou 4, moléculas de solvente ou água.

Como aqui utilizado, tratamento significa uma qualquer forma na qual um ou mais dos sintomas de uma doença ou desordem são melhorados ou de outro modo beneficamente alterados. O tratamento abrange também qualquer utilização farmacêutica das composições aqui descritas, tal como a utilização no tratamento de uma doença hepática.

Como aqui utilizado, a melhoria dos sintomas de uma desordem particular por administração de um composto ou composição farmacêutica particular refere-se a uma qualquer redução, quer permanente quer temporária, duradoura ou transitória que pode ser atribuída ou associada à administração da composição.

Como aqui utilizado, e a não ser que de outro modo indicado, os termos "controlar", "que controla" e "controlo" abrangem a prevenção da recorrência da doença ou desordem especificada num doente que tenha já sofrido da doença ou desordem, e/ou o prolongamento do tempo que um doente, que sofreu da doença ou desordem, permanece em remissão. Os termos abrangem a modulação do limiar, desenvolvimento e/ou duração da doença ou desordem ou alteração do modo como o doente responde à doença ou desordem.

Deve-se compreender que os compostos aqui descritos podem conter centros quirais. Tais centros quirais podem ser da configuração (R) ou (S) ou podem ser uma sua mistura. Assim, os compostos aqui descritos podem ser enantiomericamente puros, ou ser misturas estereoisoméricas ou diastereoméricas. Como tal, um perito na arte vai reconhecer que a administração de um composto na sua forma (R) é equivalente, para compostos que sofrem epimerização *in vivo*, à administração do composto na sua forma (S).

Como aqui utilizado, substancialmente puro significa suficientemente homogéneo para parecer isento de impurezas facilmente detectáveis como determinado por processos de análise padrão, tal como cromatografia em camada fina (TLC), electroforese em gel, cromatografia líquida de elevada

resolução (HPLC) e espectrometria de massa (MS), utilizados por aqueles peritos na arte para avaliar tal pureza, ou suficientemente puro de modo a que a purificação adicional não vá alterar detectavelmente as propriedades físicas e químicas, tais como actividades enzimáticas e biológicas, da substância. Os processos de purificação dos compostos para produzir compostos química e substancialmente puros são conhecidos daqueles peritos na arte. No entanto, um composto química e substancialmente puro pode ser uma mistura de estereoisómeros. Em tais casos, a purificação adicional pode aumentar a actividade específica do composto. A presente descrição destina-se a incluir todos estes possíveis isómeros, assim como, suas formas racémicas e opticamente puras. Os isómeros (+) e (-), (R) e (S) ou (D) e (L), opticamente activos podem ser preparados utilizando sintons quirais ou reagentes quirais, ou resolvidos utilizando técnicas convencionais, tal como HPLC de fase reversa. Quando os compostos aqui descritos contêm ligações duplas olefínicas ou outros centros de assimetria geométrica, e a não ser que de outro modo especificado, pretende-se que os compostos incluam os dois isómeros E e Z. Similarmente, pretende-se também que estejam incluídas todas as formas tautoméricas.

Em certas concretizações, o composto aqui descrito é "estereoquimicamente puro". Um composto estereoquimicamente puro tem um nível de pureza estereoquímica que podia ser reconhecida como "pura" por aqueles peritos na arte. Em certas concretizações, "estereoquimicamente puro" designa um composto que é substancialmente isento de isómeros alternativos. Em concretizações particulares, o composto é 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% ou 99,9% isento de outros isómeros.

Como aqui utilizado, "terapêutica para doença hepática" refere-se a um tratamento com uma qualquer medicação conhecida e disponível no mercado ou a ser desenvolvida para o tratamento da doença hepática. Por exemplo, a terapêutica da hepatite C refere-se ao tratamento do doente com fármacos disponíveis no mercado para o tratamento do HCV. Vários fármacos exemplificativos são descritos na secção "Terapêutica de Combinação" *infra*.

Como aqui utilizado, "doentes que tenham falhado a terapêutica" refere-se à população de doentes descrita na Secção 4.3, *infra*, e inclui doentes que tenham sido previamente tratados para uma doença hepática com qualquer um dos fármacos presentemente disponíveis no mercado e que ou não responderam à terapêutica ou tiveram um alívio temporário da doença hepática.

Como aqui utilizado, "lesão hepática" refere-se a uma lesão aguda ou crónica no fígado, normalmente causada por infecção, lesão, exposição a fármacos ou compostos tóxicos, álcool, impurezas nos alimentos e à acumulação anormal de substâncias normais no sangue, um processo autoimune, rejeição de enxertos relacionado com o transplante ou por um defeito genético (tal como hemocromatose). A lesão do fígado inclui, mas não está limitada a inflamação, cicatrização do tecido hepático e fibrose.

Como aqui utilizado, o termo "em combinação" refere-se à utilização de mais do que uma terapêutica (por exemplo, um MMP e interferão). A utilização do termo "em combinação" não restringe a ordem pela qual as terapêuticas (por exemplo, um MMP e interferão) são administradas a um sujeito com uma desordem. Uma primeira terapêutica (por exemplo, um inibidor MMP) pode ser administrada antes (por exemplo, 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 8 semanas ou 12 semanas antes), concomitantemente com, ou subsequentemente (por exemplo, 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 8 semanas ou 12 semanas após) à administração de uma segunda terapêutica (por exemplo, interferão) a um sujeito com uma desordem.

Como aqui utilizado, o termo "sinergístico" refere-se a uma combinação de um inibidor MMP e um segundo agente, tal como interferão, que é mais eficaz do que os efeitos aditivos da administração dos dois compostos como monoterapias. Um efeito sinergístico de uma combinação de terapêuticas (por

exemplo, uma combinação de um MMP e de interferão) permite a utilização de dosagens inferiores de uma ou mais das terapêuticas e/ou uma administração menos frequente das terapêuticas a um sujeito com uma desordem. A capacidade para utilizar dosagens inferiores de uma terapêutica (por exemplo, um MMP e interferão) e/ou administrar a terapêutica menos frequentemente reduz a toxicidade associada à administração da terapêutica a um sujeito sem reduzir a eficácia da terapêutica na prevenção ou tratamento de uma desordem. Adicionalmente, um efeito sinergístico pode resultar na eficácia aumentada de agentes na prevenção ou tratamento de uma desordem. Finalmente, um efeito sinergístico de uma combinação de terapêuticas (por exemplo, uma combinação de um MMP e interferão) pode evitar ou reduzir os efeitos secundários adversos ou indesejados associados à utilização de qualquer uma das terapêuticas isoladas.

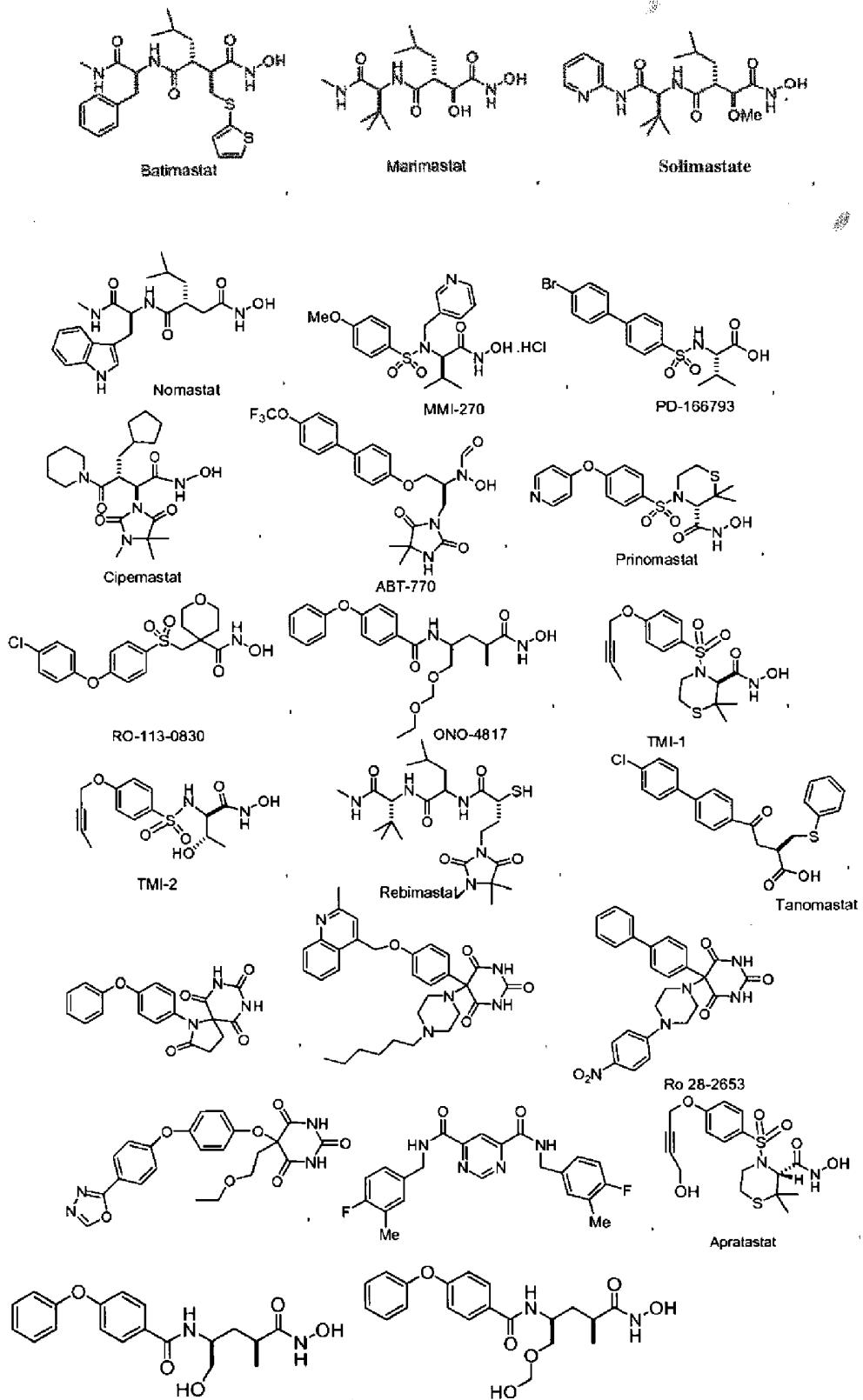
Como aqui utilizado, os termos "outro agente" ou "segundo agente" referem-se a um qualquer agente ou combinação de agentes que podem ser utilizados no tratamento da doença hepática em combinação com os inibidores MMP aqui descritos. Em certas concretizações, o outro agente ou o segundo agente é um interferão anti-vírus da hepatite C, um inibidor anti-polimerase de vírus da hepatite C, um inibidor anti-protease de vírus da hepatite C ou uma sua combinação.

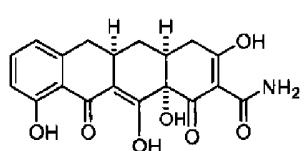
Como aqui utilizado, os termos "níveis elevados de enzimas hepáticas" ou "níveis aumentados de enzimas hepáticas" referem-se ao nível de enzimas hepáticas no sangue que estão em excesso relativamente ao intervalo normal clinicamente aceite de enzimas hepáticas no sangue. Os compostos aqui proporcionados reduzem os níveis elevados de enzimas hepáticas para os níveis normais clinicamente aceites de enzimas hepáticas no sangue. Os métodos para medição do nível de enzimas hepáticas são bem conhecidos na arte (ver, por exemplo, Jeong S.Y. et al. Sandwich ELISA for measurement of cytosolic aspartate aminotransferase in sera from patients with liver diseases, *Clin Chem.*, 2003; 49(5):826-9 e Burin des Roziers N. et al. A microtiter plate assay for measurement of serum alanine aminotransferase in blood donors, *Transfusion.*, 1995; 35(4):331-4).

Compostos para utilização

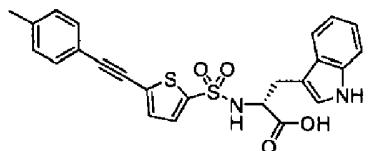
Os compostos para utilização aqui proporcionados são inibidores de metaloproteinase de matriz (inibidores MMP). Têm sido descritos na literatura vários inibidores MMP. Certos inibidores MMP exemplificativos para utilização nos métodos aqui, são descritos por Fisher *et al.* em *Cancer Metastasis Rev.*, (2006) 25: 115-136; Rao em *Current Pharmaceutical Design*, 2005, 11, 295-322 295, Bender *et al.* na patente U.S. no. 5932595; Watanabe nas patentes U.S. nos. 6207698 e 6831178; Levin *et al.* na patente U.S. no. 6225311; Purder *et al.* em WO 2007/016390 e Alwayn *et al.* *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 291: G1011-G1019, 2006.

São aqui descritos, compostos seleccionados a partir de





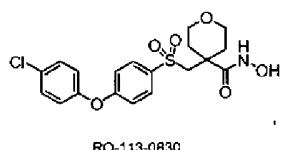
Metastat



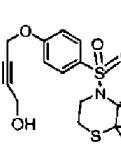
S-3304

XL784 e um seu derivado farmaceuticamente aceitável.

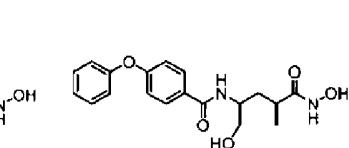
São também aqui descritos, compostos seleccionados a partir de



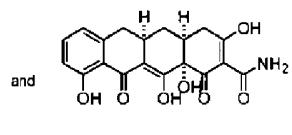
RO-113-0830



Apratastat

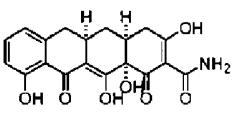


ONO-4817



S-3304

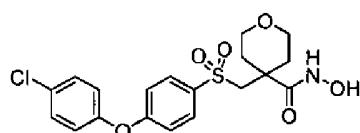
and



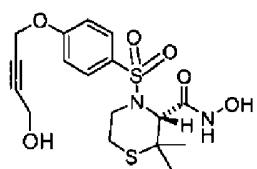
Metastat

ou um seu derivado farmaceuticamente aceitável.

O composto para utilização aqui proporcionado é



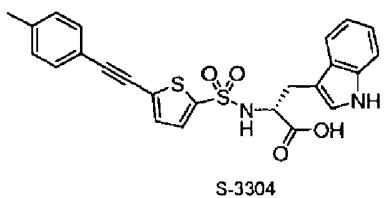
É também aqui descrito o composto



Apratastat

ou um seu derivado farmaceuticamente aceitável.

É também aqui descrito o composto



ou um seu derivado farmaceuticamente aceitável.

Em certas concretizações, os compostos aqui descritos têm eficácia em modelos de doença hepática aguda após administração oral de 0,001-1000 mg/Kg. Em certas concretizações, os compostos aqui descritos têm eficácia em modelos de doença hepática aguda após administração oral de 0,01-100 mg/Kg.

Utilizações para tratamento

As utilizações aqui proporcionadas são para o tratamento de uma doença hepática crónica. Numa concretização, as utilizações são para redução da lesão hepática associada a doença hepática crónica. Sem estar ligado a uma qualquer teoria particular, acredita-se que os inibidores MMP nas utilizações aqui proporcionadas podem actuar em parte por inibição da sinalização da cascata do TNF- α . Assim, numa concretização, são aqui proporcionadas utilizações para inibição da cascata de sinalização de TNF- α por administração de um composto aqui descrito. É adicionalmente aqui descrito o tratamento da doença hepática aguda e/ou crónica. É adicionalmente aqui descrito o tratamento de uma doença hepática aguda.

É também aqui descrita uma doença hepática que é uma desordem que resulta de uma lesão no fígado. Por exemplo, a lesão no fígado é causada por toxinas, incluindo álcool, alguns fármacos, impurezas nos alimentos e pela acumulação anormal de substâncias normais no sangue; ou por uma infecção ou por uma desordem autoimune. Por vezes a causa exacta da lesão é desconhecida.

As utilizações aqui proporcionadas são para o tratamento de uma doença hepática que é hepatite C viral crónica. É também aqui descrita uma doença hepática que inclui, mas não está limitada a cirrose, fibrose hepática, doença do fígado gordo não alcoólico (NAFLD), esteato-hepatite não alcoólica (NASH), lesão de isquémia-reperfusão hepática, hepatite, incluindo hepatite viral e alcoólica e cirrose biliar primária. Numa concretização, a doença hepática é manifestada por aumento das enzimas hepáticas (por exemplo, ALT e AST), evidência patológica de lesão hepática a decorrer em resultado de esteatose (fígado gordo), fibrose e/ou cirrose. Numa concretização, a NASH é manifestada pelo aumento das enzimas hepáticas (por exemplo, ALT e AST), evidência patológica de esteatose (fígado gordo), fibrose e/ou cirrose.

É aqui também descrito o tratamento do fígado gordo (também denominado esteatose hepática), incluindo doença do fígado gordo não alcoólico. O fígado gordo é definido como uma acumulação excessiva de triglicéridos dentro das células hepáticas. Por exemplo, em doentes com doença do fígado gordo não alcoólico, o fígado contém mais do que cerca de 5% do peso total do fígado ou mais do que 30% das células hepáticas num lóbulo do fígado têm depósito gordo. As causas mais comuns de fígado gordo não alcoólico são a obesidade, diabetes e níveis séricos elevados de triglicéridos. Outras causas incluem má-nutrição, desordens hereditárias do metabolismo (tais como as doenças de armazenamento do glicogénio) e fármacos (tais como corticosteróides, tetraciclina e aspirina). Em certos casos, o fígado gordo não produz sintomas. Noutros casos, o fígado gordo resulta em icterícia (uma descoloração amarelada da pele e do branco dos olhos), náuseas, vômitos, dor e sensibilidade abdominal. As utilizações aqui descritas são úteis no tratamento de um ou mais dos sintomas de doença do fígado gordo não alcoólico.

O fígado gordo com inflamação hepática não causada por álcool é conhecido como esteato-hepatite não alcoólica ou NASH. A NASH pode ser causada por qualquer uma das causas acima mencionadas como causas possíveis de doença do fígado gordo não alcoólico. São aqui descritas utilizações para o tratamento de NASH.

As utilizações aqui proporcionadas são para o tratamento da hepatite C viral crónica. São também descritas utilizações para o tratamento da hepatite ou inflamação do fígado, incluindo hepatite viral e alcoólica. A hepatite viral pode ser aguda ou crónica. Em certas concretizações, a hepatite viral aguda é causada por vírus da hepatite A, B, C, D ou E. Noutras concretizações, a hepatite viral aguda é causada pelo vírus da hepatite B ou C. As utilizações proporcionadas são para o tratamento de hepatite C viral crónica. É descrita a hepatite viral crónica causada pelo vírus da hepatite B ou C. Em certas concretizações, as utilizações proporcionadas são para o tratamento de doentes com hepatite C que falharam a terapêutica para a hepatite C. Métodos de tratamento da hepatite C exemplificativos são descritos por Strader *et al.*, em *Hepatology*, 39 (4), 2004.

Em certas concretizações, o doente nunca recebeu terapêutica ou profilaxia para a infecção por HCV. Em concretizações adicionais, o doente recebeu previamente terapêutica ou profilaxia para a infecção por HCV. Por exemplo, em certas concretizações, o doente não respondeu à terapêutica do HCV. Como conhecido na arte, sob a actual terapêutica com interferão, até 50% ou mais de doentes com HCV não respondem à terapêutica. Em certas concretizações, o doente pode ser um doente que recebeu a terapêutica mas que continuou a sofrer de HCV ou de um ou mais dos seus sintomas. Em certas concretizações, o doente pode ser um doente que recebeu terapêutica mas que não conseguiu alcançar uma resposta sustentada. Em certas concretizações, o doente recebeu a terapêutica para a infecção por HCV mas não conseguiu mostrar um declínio 2 \log_{10} nos níveis de ARN de HCV após 12 semanas de terapêutica. Acredita-se que os doentes que não mostram mais do que uma redução de 2 \log_{10} no ARN sérico de HCV após 12 semanas de terapêutica têm uma probabilidade de 97-100% de não responderem.

Em certas concretizações, o doente é um doente que descontinuou a terapêutica do HCV devido a um ou mais acontecimentos adversos associados à terapêutica. Em certas concretizações, o doente é um doente para o qual a actual terapêutica não está indicada. Por exemplo, certas terapêuticas para o HCV estão associadas a acontecimentos

neuropsiquiátricos. O interferão (IFN)- α mais ribavirina está associado a uma elevada taxa de depressão. Os sintomas depressivos têm estado ligados a um pior resultado num certo número de desordens médicas. Têm ocorrido, em doentes com e sem uma desordem psiquiátrica prévia, durante a terapêutica do HCV, acontecimentos neuropsiquiátricos fatais ou que põem em perigo a vida, incluindo o suicídio, ideação suicida e homicida, depressão, recaída do consumo/overdose de drogas e comportamento agressivo. A depressão induzida por interferão é uma limitação para o tratamento da hepatite C crónica, especialmente em doentes com desordens psiquiátricas. Os efeitos secundários psiquiátricos são comuns com a terapêutica do interferão e responsáveis por cerca de 10% a 20% das descontinuações de terapêutica actual para a infecção por HCV.

Por conseguinte, são proporcionadas utilizações para o tratamento ou prevenção da hepatite C em doentes nos quais o risco de acontecimentos neuropsiquiátricos, tal como depressão, contra-indicam o tratamento com a terapêutica actual do HCV. São também proporcionadas utilizações para o tratamento ou prevenção da hepatite C em doentes nos quais um acontecimento neuropsiquiátrico, tal como depressão, ou risco de tal, indica a descontinuação do tratamento com a terapêutica actual do HCV. São adicionalmente proporcionadas utilizações para o tratamento ou prevenção da hepatite C em doentes nos quais um acontecimento neuropsiquiátrico, tal como depressão, ou risco de tal, indica a redução da dose na terapêutica actual do HCV.

A terapêutica actual é também contra-indicada em doentes que são hipersensíveis ao interferão ou à ribavirina, ou a ambos, ou a qualquer outro componente de um produto farmacêutico para administração de interferão ou ribavirina. A terapêutica actual não é indicada em doentes com hemoglobinopatias (por exemplo, talassemia major, anemia falciforme) e outros doentes em risco dos efeitos secundários hematológicos da terapêutica actual. Os efeitos secundários hematológicos comuns incluem supressão da medula óssea, neutropenia e trombocitopenia. Adicionalmente, a ribavirina é tóxica para as células sanguíneas vermelhas e está associada a hemólise. Por conseguinte, as utilizações

aqui proporcionadas são úteis em doentes hipersensíveis ao interferão ou à ribavirina, ou a ambos, doentes com uma hemoglobinopatia, por exemplo, doentes com talassemia major e doentes com anemia falciforme e outros doentes em risco dos efeitos secundários hematológicos da terapêutica actual.

Em certas concretizações, o doente recebeu uma terapêutica do HCV e descontinuou aquela terapêutica antes da administração de um composto aqui proporcionado. Em concretizações adicionais, o doente recebeu a terapêutica e continua a receber aquela terapêutica juntamente com a administração de um composto aqui proporcionado. Os compostos aqui proporcionados podem ser co-administrados com outra terapêutica para o HCV de acordo com a decisão de um perito na arte. Em certas concretizações, os compostos aqui proporcionados podem ser co-administrados com uma dose reduzida da outra terapêutica para o HCV.

Em certas concretizações, são proporcionadas utilizações para o tratamento de um doente que é refractário ao tratamento com interferão. Por exemplo, nalgumas concretizações, o doente pode ser um doente que tenha falhado na resposta ao tratamento com um ou mais agentes seleccionados a partir do grupo constituído por interferão, interferão- α , interferão- α peguilado, interferão mais ribavirina, interferão- α mais ribavirina e interferão- α peguilado mais ribavirina. Nalgumas concretizações, o doente pode ser um doente que tenha respondido deficientemente ao tratamento com um ou mais agentes seleccionados a partir do grupo constituído por interferão, interferão- α , interferão- α peguilado, interferão mais ribavirina, interferão- α mais ribavirina e interferão- α peguilado mais ribavirina.

Numa concretização, a infecção por HCV crónica é manifestada pelo aumento das enzimas hepáticas (por exemplo, ALT, AST), níveis persistentes (por exemplo, superiores a seis meses) de ARN de HCV e/ou evidência histológica de lesão hepática, fibrose e/ou cirrose. Numa concretização, as utilizações aqui proporcionadas diminuem os níveis elevados de enzimas hepáticas, tais como os níveis de ALT e AST. Os métodos para medição do nível das enzimas hepáticas são bem

conhecidos na arte (ver, por exemplo, Jeong S.Y. et al. Sandwich ELISA for measurement of cytosolic aspartate aminotransferase in sera from patients with liver diseases, *Clin Chem.*, 2003; 49(5):826-9 e Burin des Roziers N. et al. A microtiter plate assay for measurement of serum alanine aminotransferase in blood donors, *Transfusion.*, 1995; 35(4):331-4). Numa concretização, o nível elevado de uma ou mais enzimas hepáticas, tal como ALT ou AST, ou a quantidade total de nível elevado da enzima hepática, acima do intervalo normal, é reduzido em mais de cerca de 90% ou mais de 95%. Numa concretização, o nível elevado de uma ou mais enzimas hepáticas, tal como os níveis elevados de ALT ou AST, ou a quantidade total de enzima hepática elevada é reduzido em, pelo menos 95%, pelo menos 90%, pelo menos 80%, pelo menos 70%, pelo menos 60%, pelo menos 50%, pelo menos 40%, pelo menos 30%, pelo menos 20%, pelo menos 10%, pelo menos 5%, pelo menos 2% ou pelo menos 1%.

Em certas concretizações, são aqui proporcionadas utilizações para o tratamento de doentes infectados com o vírus da hepatite C e que têm níveis séricos normais de aminotransferase. Tem sido descrito que até 60% dos dadores de sangue pela primeira vez e os utilizadores de drogas injectáveis infectados com HCV têm níveis normais de ALT (ver, Strader et al., em *Hepatology*, 39 (4), 2004). Numa concretização, uma pessoa é considerada ter níveis normais de ALT quando existirem duas ou mais determinações identificadas como estando no intervalo normal de um laboratório licenciado ao longo de seis ou mais meses. Sabe-se na arte que as biopsias daqueles com valores normais de aminotransferase têm revelado fibrose septal ou cirrose em 1% a 10% dos casos, e, pelo menos, fibrose portal numa maior proporção (Strader et al., em *Hepatology*, 39 (4), 2004). Numa concretização, os compostos aqui proporcionados são úteis no tratamento de tais doentes.

Em certas concretizações, as utilizações aqui proporcionadas são para inibição da replicação do vírus da hepatite C (HCV) numa célula infectada com vírus da hepatite C. Em certas concretizações, uma quantidade terapeuticamente eficaz do composto é uma quantidade suficiente para causar uma redução detectável na replicação do HCV. O composto para

utilização é RO-113-0830. Os métodos para detecção da replicação do HCV são conhecidos de um perito na arte e incluem o teste do replicão de HCV. Um teste exemplificativo é descrito por Pietschmann, T. et al., *J. Virol.* 76, 2002, 4008-4021. Em certas concretizações, a replicação do HCV é inibida em pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 75%, pelo menos cerca de 90% ou mais.

Num outro aspecto, as utilizações aqui proporcionadas são para inibição da replicação do HCV num doente infectado com vírus da hepatite C. As utilizações envolvem o passo de administração ao doente de uma quantidade eficaz de um composto aqui proporcionado. As utilizações envolvem o passo de administração ao doente de uma quantidade eficaz e RO-113-0830.

São também descritas utilizações para o tratamento da hepatite alcoólica. A hepatite alcoólica (esteato-hepatite) é uma combinação de fígado gordo, inflamação hepática difusa e necrose hepática, em certas concretizações, necrose focal, todas em graus variáveis de gravidade.

Numa concretização, as utilizações aqui proporcionadas são para o tratamento da fibrose hepática, hepatite lobular e/ou necrose septal periportal num doente. A fibrose hepática é a acumulação excessiva de proteínas da matriz extracelular incluindo o colagénio que ocorre na maioria dos tipos de doenças hepáticas crónicas. Em certas concretizações, a fibrose hepática avançada resulta em cirrose e na insuficiência hepática. Numa concretização, as utilizações aqui proporcionadas são para redução do nível de fibrose, hepatite lobular e/ou necrose septal periportal num doente. Os métodos para a medição das histologias hepáticas tais como alterações na extensão da fibrose, hepatite lobular e necrose septal periportal são bem conhecidos na arte. Por exemplo, são descritos vários testes não invasivos para a fibrose hepática em *Hepatology*, 2006, 43(2):S113-S120. *Hepatology*, 2007, 45(1):242-249 descreve a medição e o tratamento da fibrose hepática. Wright M. et al. descrevem a medição e os determinantes da história natural da fibrose hepática na infecção por vírus da hepatite C: um estudo transversal e

longitudinal em *Gut*. 2003; 52(4):574-9. Nas utilizações aqui proporcionadas, a fibrose hepática é causada por hepatite. É também descrita a fibrose hepática causada por exposição química, obstrução do ducto biliar, doença autoimune, obstrução do efluxo de sangue a partir do fígado, perturbação dos vasos do coração e sanguíneos, deficiência de α 1-antitripsina, nível sanguíneo elevado de galactose, nível sanguíneo elevado de tirosina, doença de armazenamento do glicogénio, diabetes, má-nutrição, Doença de Wilson ou hemocromatose.

Numa concretização, o nível de fibrose, que é a formação de tecido fibroso, degeneração fibróide ou fibrosa, é reduzida em mais de cerca de 90%. Numa concretização, o nível de fibrose é reduzido em pelo menos 90%, pelo menos 80%, pelo menos 70%, pelo menos 60%, pelo menos 50%, pelo menos 40%, pelo menos 30%, pelo menos 20%, pelo menos 10%, pelo menos 5% ou pelo menos 2%.

Numa concretização, os compostos aqui proporcionados reduzem o nível de fibrogénese. A fibrogénese hepática é o processo que conduz à deposição de um excesso de componentes de matriz extracelular no fígado conhecido como fibrose. Observa-se num certo número de condições tais como hepatite B e C viral crónica, doença hepática alcoólica, doença hepática induzida por fármacos, hemocromatose, hepatite autoimune, doença de Wilson, cirrose biliar primária, colangite esclerosante, esquistossomose hepática e outras. Numa concretização, o nível de fibrogénese é reduzido em mais de cerca de 90%. Numa concretização, o nível de fibrogénese é reduzido em pelo menos 90%, pelo menos 80%, pelo menos 70%, pelo menos 60%, pelo menos 50%, pelo menos 40%, pelo menos 30%, pelo menos 20%, pelo menos 10%, pelo menos 5% ou pelo menos 2%.

Numa concretização, o nível de hepatite lobular, em que os focos das células inflamatórias estão também presentes nos sinusóides do lóbulo, é reduzido em mais de cerca de 99% ou 95%. Numa outra concretização, o nível de hepatite lobular é reduzido em pelo menos 90%, pelo menos 80%, pelo menos 70%, pelo menos 60%, pelo menos 50%, pelo menos 40%, pelo menos 30%, pelo menos 20%, pelo menos 10%, pelo menos 5%, pelo

menos 2% ou pelo menos 1%. Ainda numa outra concretização, o nível de necrose septal periportal é reduzido em mais do que cerca de 90%. Ainda numa outra concretização, o nível de necrose septal periportal é reduzido em, pelo menos, 90%, pelo menos 80%, pelo menos 70%, pelo menos 60%, pelo menos 50%, pelo menos 40%, pelo menos 30%, pelo menos 20%, pelo menos 10%, pelo menos 5%, pelo menos 2% ou pelo menos 1%.

Numa concretização, as utilizações aqui proporcionadas são para o tratamento da cirrose. Em certas concretizações, os sintomas de cirrose incluem, mas não estão limitados a, hipertensão portal, função anormal dos nervos, ascites (acumulação de fluido na cavidade abdominal), aumento das mamas nos homens, tosse ou vômitos com sangue, dedos enrolados (contractura de Dupuytren das palmas), cálculos biliares, perda de cabelo, prurido, icterícia, insuficiência hepática, encefalopatia hepática, perda de músculos, apetite fraco, vermelhidão das palmas, aumento das glândulas salivares nas faces, retracção dos testículos, veias aracneiformes pequenas na pele, fraqueza, perda de peso, angiomas aracneiformes (uma arteriola central a partir da qual disseminam numerosos pequenos vasos ramificados), encefalopatia e asterixe (tremor das mãos). Os sintomas de cirrose variam, dependendo da gravidade e do indivíduo. Em certas concretizações, a cirrose moderada pode não exibir qualquer sintomas.

Nas utilizações aqui proporcionadas, a causa de cirrose é a hepatite C. Outras causas descritas de cirrose incluem, a utilização de certos fármacos, exposição química, obstrução do ducto biliar, doenças autoimunes, obstrução do efluxo de sangue a partir do fígado (i.e., síndroma de Budd-Chiari), perturbações dos vasos do coração e sanguíneos, deficiência em alfa1-antitripsina, níveis sanguíneos elevados de galactose, níveis sanguíneos elevados de tirosina, doença de armazenamento do glicogénio, diabetes, má-nutrição, acumulação hereditária de muito cobre (Doença de Wilson) ou ferro (hemocromatose). Uma outra causa descrita de cirrose é o abuso de álcool.

Numa concretização, as utilizações aqui proporcionadas são para a redução do nível de cirrose. Numa concretização, a

cirrose é patologicamente caracterizada por perda da arquitectura lobular microscópica normal, com fibrose e regeneração nodular. Os métodos para a medição da extensão da cirrose são bem conhecidos na arte. Numa concretização, o nível de cirrose é reduzido em cerca de 5%-100%. Numa concretização, o nível de cirrose é reduzido em pelo menos 5%, pelo menos 10%, pelo menos 15%, pelo menos 20%, pelo menos 25%, pelo menos 30%, pelo menos 35%, pelo menos 40%, pelo menos 45%, pelo menos 50%, pelo menos 55%, pelo menos 60%, pelo menos 65%, pelo menos 70%, pelo menos 75%, pelo menos 80%, pelo menos 85%, pelo menos 90%, pelo menos 95% ou 100% no doente.

Em certas concretizações, as utilizações para o tratamento da cirrose envolvem a administração de um inibidor MMP aqui proporcionado.

São também descritas utilizações para o tratamento de cirrose biliar primária (PBC). A cirrose biliar primária começa com a inflamação dos ductos biliares dentro do fígado. A inflamação bloqueia o fluxo de bálsamo para fora do fígado; assim, a bálsamo permanece nas células hepáticas ou derrama para a corrente sanguínea. À medida que a inflamação se espalha dos ductos biliares para o resto do fígado, desenvolve-se um entrelaçado de tecido cicatrizado ao longo do fígado. São descritas utilizações para o tratamento de PBC em mulheres com idades entre 35 e 60 anos. A PBC pode ser causada por uma desordem autoimune. A cirrose biliar primária pode ocorrer em associação com artrite reumatóide, escleroderma ou tiroidite autoimune. As utilizações aqui descritas são úteis no tratamento de um ou mais dos sintomas de cirrose biliar primária.

São também descritas utilizações para o tratamento da lesão de isquémia-reperfusão hepática. A isquémia pode ocorrer no fígado devido a várias condições patológicas, tais como transplante hepático, choque cardiológico ou hemodinâmico e ressecção hepática por trauma ou tumor. Quando a circulação de sangue é restabelecida (reperfusão), o aumento rápido na concentração de oxigénio conduz à produção de espécies de oxigénio reactivo, que por seu lado causam uma lesão generalizada das células hepáticas (necrose e apoptose)

que resulta em lesão de isquémia-reperfusão (IR) no fígado. As utilizações descritas para o tratamento da lesão de isquémia-reperfusão hepática podem envolver a administração de um inibidor MMP aqui descrito, com a condição de que o inibidor MMP seja diferente de ONO-4817. Por exemplo, as utilizações descritas para o tratamento da lesão de isquémia-reperfusão hepática podem envolver a administração de RO-113-0830.

Como conhecido de um perito na arte, o excesso de apoptose das células hepáticas está ligado a fibrose hepática e outras doenças hepáticas. Assim, a prevenção ou supressão da apoptose excessiva das células hepáticas é um componente importante no tratamento da doença hepática aguda e crónica. A apoptose ocorre principalmente através de duas vias de sinalização: uma via extrínseca mediada por receptor de morte ou uma via intrínseca mediada por mitocôndria. A via extrínseca tem origem na membrana plasmática após a ocupação de uma família de receptores citocina denominados receptores de morte (tal como o receptor 1 de factor de necrose de tumor (TNF-R1), Fas/CD95 e os receptores 1 e 2 de ligando que induz apoptose relacionada com o factor de necrose de tumor (TRAIL-R1 e TRAIL-R2)) pelos seus ligandos cognatos (ligando TNF, Fas (FasL)/CD95L, TRAIL). Ver, Guicciardi *et al.* *Gut*, 2005: 54, 1024-1033 e Ghavami *et al.*, *Med. Sci. Monit.*, 2005: 11(11): RA337-345. Em certas concretizações, os inibidores MMP aqui proporcionados bloqueiam a lesão de células hepáticas por prevenção ou supressão da apoptose. Em certas concretizações, os compostos aqui proporcionados inibem uma cascata de sinalização de α -Fas. Em certas concretizações, os compostos aqui proporcionados inibem a cascata de sinalização iniciada por TNF- α . Sem se estar ligado a qualquer teoria particular, acredita-se que em certas concretizações, a prevenção ou supressão da apoptose excessiva de células hepáticas pelos compostos aqui proporcionados contribui para a redução da lesão hepática associada a doença hepática aguda e/ou crónica.

Preparação dos compostos

Os compostos para a utilização aqui descrita podem ser preparados utilizando procedimentos de síntese de rotina,

incluindo procedimentos descritos em Bender *et al.* na patente U.S. no. 5932595 e Watanabe nas patentes U.S. nos. 6207698 e 6831178. Um método exemplificativo para a preparação de RO-113-0830 é descrito no Exemplo 1.

Formulação de composições farmacêuticas

As composições farmacêuticas aqui descritas contêm quantidades terapeuticamente eficazes de um ou mais compostos aqui descritos que são úteis na prevenção, tratamento ou melhoria de um ou mais sintomas de doenças hepáticas e um veículo farmaceuticamente aceitável.

Os compostos são formulados em preparações farmacêuticas adequadas tais como soluções, suspensões, comprimidos, comprimidos dispersíveis, pílulas, cápsulas, pós, formulações de libertação prolongada ou elixires, para administração oral ou em soluções ou suspensões estéreis para administração parentérica, assim como preparação em adesivo transdérmico e inaladores de pó seco. Por exemplo, os compostos acima descritos são formulados em composições farmacêuticas utilizando técnicas e procedimentos bem conhecidos na arte (ver, por exemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 20^a ed., Mack Publishing, Easton PA (2000)).

Nas composições, as concentrações eficazes de um ou mais compostos ou derivados farmaceuticamente aceitáveis é(são) misturada(s) com um transportador ou veículo farmacêutico adequado. Os compostos podem ser derivatizados como os sais, ésteres, ácidos, bases, solvatos, hidratos ou pró-fármacos, correspondentes, antes da formulação, como acima descrito. As concentrações dos compostos nas composições são eficazes para a distribuição de uma quantidade, após administração, que trata, previne ou melhora um ou mais dos sintomas de doenças hepáticas.

As composições podem ser formuladas para administração em dose única. Para formular uma composição, a fração em peso do composto é dissolvida, suspensa, dispersa ou de outro modo misturada num veículo seleccionado numa concentração eficaz de modo a que a condição tratada seja aliviada ou melhorada. Os transportadores ou veículos farmacêuticos para

administração dos compostos aqui proporcionados incluem um qualquer de tais veículos conhecidos daqueles peritos na arte como adequados para o modo de administração particular.

Adicionalmente, os compostos podem ser formulados como um ingrediente farmaceuticamente activo único na composição ou podem ser combinados com outros ingredientes activos. As suspensões lipossomais, que incluem lipossomas de alvo nos tecidos, tais como lipossomas de alvo no tumor, podem também ser adequadas como veículos farmaceuticamente aceitáveis. Estas podem ser preparadas de acordo com métodos conhecidos daqueles peritos na arte. Por exemplo, as formulações de lipossomas podem ser preparadas como conhecido na arte. Em resumo, os lipossomas tais como as vesículas multilamelares (MLV) podem ser formados por secagem da fosfatidilcolina de ovo e da fosfatidilserina de cérebro (relação molar de 7:3) dentro de um balão. Adiciona-se uma solução de um composto aqui proporcionado em solução salina tamponada com fosfato (PBS) isenta de catiões divalentes e o balão é agitado até a película de lípido estar dispersa. As vesículas resultantes são lavadas para remover o composto não encapsulado, transformadas em pelotas por centrifugação e depois ressuspensas em PBS.

O composto activo é incluído no veículo farmaceuticamente aceitável numa quantidade suficiente para exercer um efeito terapeuticamente útil na ausência de efeitos secundários indesejáveis no doente tratado. A concentração terapeuticamente eficaz pode ser empiricamente determinada por teste dos compostos em sistemas *in vitro* e *in vivo* conhecidos na arte e depois extrapolada a partir deles para doses para humanos.

A concentração do composto activo na composição farmacêutica vai depender das taxas de absorção, inactivação e excreção do composto activo, das características fisicoquímicas do composto, do esquema posológico e da quantidade administrada assim como de outros factores conhecidos daqueles peritos na arte. Por exemplo, a quantidade que é distribuída é suficiente para melhorar um ou mais dos sintomas de doenças hepáticas.

Por exemplo, uma dose terapeuticamente eficaz deve produzir uma concentração sérica de ingrediente activo de cerca de 0,1 ng/ml a cerca de 50-100 µg/ml. As composições farmacêuticas, em certas concretizações, devem proporcionar uma dose de cerca de 0,001 mg a cerca de 2000 mg de composto por quilograma de peso corporal por dia. As formas farmacêuticas de dose unitária são preparadas para proporcionarem de cerca de 1 mg a cerca de 1000 mg e de cerca de 10 a cerca de 500 mg do ingrediente activo essencial ou de uma combinação de ingredientes essenciais por forma de dose unitária.

O ingrediente activo pode ser administrado de uma só vez, ou pode ser dividido num certo número de doses mais pequenas para serem administradas em intervalos de tempo. Sabe-se que a dose precisa e a duração do tratamento são uma função da doença a ser tratada e podem ser empiricamente determinadas utilizando protocolos de teste conhecidos ou por extrapolação a partir de dados de testes *in vivo* ou *in vitro*. Deve-se observar que os valores das concentrações e doses podem também variar com a gravidade da condição a ser aliviada. Deve-se compreender adicionalmente que para um qualquer doente particular, os regimes posológicos específicos devem ser ajustados ao longo do tempo de acordo com a necessidade individual e o juízo profissional da pessoa que administra ou supervisiona a administração das composições, e que os intervalos de concentração aqui descritos são apenas exemplificativos e não se destinam a limitar o âmbito ou prática das composições reivindicadas.

Os derivados farmaceuticamente aceitáveis incluem ácidos, bases, sais, ésteres, hidratos, solvatos e formas de pró-fármacos. O derivado é seleccionado de modo a que as suas propriedades farmacocinéticas sejam superiores ao composto neutro correspondente.

Assim, as concentrações ou quantidades eficazes de um ou mais dos compostos aqui descritos ou seus derivados farmaceuticamente aceitáveis são misturadas com um transportador ou veículo farmaceuticamente aceitável para administração sistémica, cutânea ou local para formar composições farmacêuticas. Os compostos são incluídos numa

quantidade eficaz para melhorar um ou mais sintomas de, ou para tratar ou prevenir doenças hepáticas. A concentração de compostos activos na composição vai depender das taxas de absorção, inactivação, excreção do composto activo, do esquema posológico, da quantidade administrada, da formulação particular, assim como de outros factores conhecidos daqueles peritos na arte.

As composições são destinadas a serem administradas por uma via adequada, incluindo oral, parentérica, rectal, cutânea e localmente. Para administração oral, podem ser utilizadas cápsulas e comprimidos. As composições estão na forma líquida, semi-líquida ou sólida e são formuladas de uma forma adequada para cada via de administração. Numa concretização, os modos de administração incluem os modos de administração parentérica e oral. Em certas concretizações, é contemplada a administração oral.

As soluções ou suspensões utilizadas para aplicação parentérica, intradérmica, subcutânea ou cutânea podem incluir qualquer um dos componentes seguintes: um diluente estéril, tal como água para injecção, solução salina, óleo fixo, polietilenoglicol, glicerina, propilenoglicol, dimetilacetamida ou outro solvente sintético; agentes antimicrobianos tais como álcool benzílico e metilparabenos; antioxidantes, tais como ácido ascórbico e bissulfito de sódio; agentes quelantes, tais como ácido etilenodiaminotetra-acético (EDTA); tampões, tais como acetatos, citratos e fosfatos; e agentes para o ajuste da tonicidade tal como cloreto de sódio ou dextrose. As preparações parentéricas podem ser inseridas em ampolas, seringas descartáveis ou frascos para injectáveis de dose unitária ou múltipla feitos de vidro, plástico ou outro material adequado.

Nos casos em que os compostos exibem solubilidade insuficiente, podem ser utilizados métodos para solubilização de compostos. Tais métodos são conhecidos daqueles peritos na arte, e incluem, mas não estão limitados a, utilização de co-solventes, tal como dimetilsulfóxido (DMSO), utilização de tensioactivos, tal como TWEEN®, ou dissolução em bicarbonato de sódio aquoso.

Após mistura ou adição do(s) composto(s), a mistura resultante pode ser uma solução, suspensão, emulsão ou semelhante. A forma da mistura resultante depende de um certo número de factores, incluindo o modo de administração pretendido e a solubilidade do composto no transportador ou veículo seleccionado. A concentração eficaz é suficiente para melhorar os sintomas da doença, desordem ou condição tratada e pode ser empiricamente determinada.

As composições farmacêuticas podem ser para administração a humanos e animais em formas de dose unitária, tais como comprimidos, cápsulas, pílulas, pós, grânulos, soluções ou suspensões parentéricas estéreis, e soluções ou suspensões orais, e emulsões óleo-água contendo quantidades adequadas dos compostos ou seus derivados farmaceuticamente aceitáveis. Os compostos farmacêutica e terapeuticamente activos e seus derivados são formulados e administrados em formas de dose unitária ou formas de dose múltipla. As formas de dose unitária como aqui utilizadas referem-se a unidades fisicamente descontínuas adequadas para doentes humanos e animais e individualmente acondicionadas como conhecido na arte. Cada dose unitária contém uma quantidade pré-determinada do composto terapeuticamente activo suficiente para produzir o efeito terapêutico desejado, em associação com o transportador, veículo ou diluente farmacêutico necessário. Exemplos de formas de dose unitária incluem ampolas e seringas e comprimidos ou cápsulas individualmente acondicionados. As formas de dose unitária podem ser administradas em fracções ou seus múltiplos. Uma forma de dose múltipla é uma pluralidade de formas de dose unitária idênticas acondicionadas num único recipiente para serem administradas na forma de dose unitária segregada. Exemplos de formas de dose múltipla incluem frascos para injectáveis, frascos de comprimidos ou cápsulas ou frascos de pintos (56,825 cl) e galões (US 3,785 l). Por conseguinte, a forma de dose múltipla é um múltiplo de doses unitárias que não são segregadas no acondicionamento.

Podem também ser preparadas preparações de libertação prolongada. Exemplos adequados de preparações de libertação prolongada incluem matrizes semi-permeáveis de polímeros hidrofóbicos sólidos contendo o composto aqui proporcionado,

matrizes que estão na forma de artigos moldados, por exemplo, películas ou microcápsulas. Exemplos de matrizes de libertação prolongada incluem poliésteres, hidrogeles (por exemplo, poli(2-hidroxietilmacrilato) ou poli(álcool vinílico)), poliláctidos, copolímeros de ácido L-glutâmico e etil-L-glutamato, copolímeros de etileno-vinil-acetato não degradáveis, copolímeros de ácido-láctico-ácido glicólico degradáveis tal como o LUPRON DEPOT™ (microsferas injectáveis compostas por copolímero de ácido láctico-ácido glicólico e acetato de leuprolida) e ácido poli-D-(-)-3-hidroxibutírico. Embora os polímeros tais como etileno-vinil-acetato e ácido láctico-ácido glicólico possibilitem a libertação de moléculas ao longo de 100 dias, certos hidrogeles libertam proteínas durante períodos de tempo mais curtos. Quando o composto encapsulado permanece no corpo durante um longo período de tempo, ele pode desnaturar ou agregar em resultado da exposição à humidade a 37°C, resultando numa perda de actividade biológica e possíveis alterações na sua estrutura. Podem ser idealizadas estratégias racionais para estabilização dependendo do mecanismo de acção envolvido. Por exemplo, se se descobrir que o mecanismo de agregação é a formação intermolecular de ligação S-S através da permuta tio-dissulfito, a estabilização pode ser alcançada por modificação dos resíduos sulfidrilo, liofilização a partir de soluções acídicas, controlo do teor em humidade, utilização de aditivos adequados e desenvolvimento de composições de matriz de polímero específicas.

Podem ser preparadas formas de administração ou composições contendo o ingrediente activo no intervalo de 0,005% a 100% com o equilíbrio feito a partir de veículo não tóxico. Para administração oral, uma composição não tóxica farmaceuticamente aceitável é formada pela incorporação de um qualquer dos excipientes normalmente utilizados, tais como, por exemplo, graus farmacêuticos de manitol, lactose, amido, estearato de magnésio, talco, derivados de celulose, croscarmelose sódica, glucose, sacarose, carbonato de magnésio ou sacarina sódica. Tais composições incluem soluções, suspensões, comprimidos, cápsulas, pós e formulações de libertação prolongada, tais como, mas não limitadas a, implantes e sistemas de distribuição microencapsulados e polímeros biocompatíveis, biodegradáveis,

tais como colagénio, etileno-vinil-acetato, polianidridos, ácido poliglicólico, poliortoésteres, ácido poliláctico e outros. Os métodos para a preparação destas composições são bem conhecidos daqueles peritos na arte. As composições contempladas podem conter 0,001%-100% de ingrediente activo, numa concretização, 0,1-85% ou 75-95% de ingrediente activo.

Os compostos activos ou derivados farmaceuticamente aceitáveis podem ser preparados com veículos que protegem o composto contra a eliminação rápida a partir do corpo, tal como formulações de liberação no tempo ou revestimentos.

As composições podem incluir outros compostos activos para se obter as combinações de propriedades desejadas. Os compostos aqui proporcionados, ou seus derivados farmaceuticamente aceitáveis aqui descritos, podem também ser vantajosamente administrados para fins terapêuticos ou profiláticos em conjunto com um outro agente farmacológico conhecido na arte geral por ser útil no tratamento de doenças hepáticas. Deve-se compreender que uma tal terapêutica de combinação constitui um aspecto adicional das composições e métodos de tratamento aqui proporcionados.

Composições para administração oral

As formas farmacêuticas para administração oral são sólidos, geles ou líquidos. As formas sólidas de administração são comprimidos, cápsulas, grânulos e pós em bruto. Os tipos de comprimidos orais incluem pastilhas mastigáveis, comprimidas e comprimidos que podem ser entericamente revestidos, revestidos com açúcar ou revestidos por película. As cápsulas podem ser cápsulas de gelatina dura ou mole, ao passo que os grânulos e os pós podem ser proporcionados na forma não efervescente ou efervescente com a combinação de outros ingredientes conhecidos daqueles peritos na arte.

Por exemplo, as formulações podem ser formas sólidas de administração, tais como cápsulas ou comprimidos. Os comprimidos, pílulas, cápsulas, pastilhas e semelhantes podem conter um qualquer dos ingredientes seguintes, ou compostos de uma natureza similar: um ligante, um diluente; um agente

desintegrante; um lubrificante, um deslizante; um agente edulcorante; e um agente aromatizante.

Exemplos de ligantes incluem celulose microcristalina, goma tragacanta, solução de glucose, mucilagem de acácia, solução de gelatina, sacarose e pasta de amido. Os lubrificantes incluem talco, amido, estearato de magnésio ou cálcio, licopódio e ácido esteárico. Os diluentes incluem, por exemplo, lactose, sacarose, amido, caulino, sal, manitol e fosfato dicálcico. Os deslizantes incluem, mas não estão limitados a, dióxido de silício coloidal. Os agentes desintegrantes incluem croscarmelose sódica, amidoglicolato de sódio, ácido algínico, amido de milho, amido de batata, bentonite, metilcelulose, ágar e carboximetilcelulose. Os agentes corantes incluem, por exemplo, qualquer um dos corantes FD e C solúveis em água, certificados, aprovados e suas misturas; e corantes FD e C insolúveis em água suspensos em alumina hidratada. Os agentes edulcorantes incluem sacarose, lactose, manitol e agentes edulcorantes artificiais tais como sacarina e um qualquer número de aromatizantes pulverizados secos. Os agentes aromatizantes incluem aromas naturais extractados de plantas tais como frutas e misturas sintéticas de compostos que produzem uma sensação agradável, tal como, mas não limitado a hortelã-pimenta e salicilato de metilo. Os agentes humectantes incluem monostearato de propilenoglicol, mono-oleato de sorbitano, monolaurato de dietilenoglicol e lauril éter de polioxietileno. Os revestimentos entéricos incluem ácidos gordos, gorduras, ceras, shellac, shellac amoniada e acetato-ftalatos de celulose. Os revestimentos por película incluem hidroxietilcelulose, carboximetilcelulose sódica, polietilenoglicol 4000 e acetato-ftalato de celulose.

Se for desejada a administração oral, o composto pode ser proporcionado numa composição que o proteja do meio acídico do estômago. Por exemplo, a composição pode ser formulada num revestimento entérico que mantenha a sua integridade no estômago e liberte o composto activo no intestino. A composição pode também ser formulada em combinação com um antiácido ou um outro destes ingredientes.

Quando a forma de dose unitária é uma cápsula, ela pode conter, adicionalmente ao material do tipo acima, um veículo

líquido tal como óleo gordo. Adicionalmente, as formas de dose unitária podem conter vários outros materiais que modificam a forma física da dose unitária, por exemplo, revestimentos de açúcar e outros agentes entéricos. Os compostos podem também ser administrados como um componente de um elixir, suspensão, xarope, hóstia, gotas (sprinkle), pastilha-elástica ou semelhante. Um xarope pode conter, adicionalmente aos compostos activos, sacarose como um agente edulcorante e certos conservantes, tintas e corantes e aromatizantes.

Os materiais activos podem também ser misturados com outros materiais activos que não prejudicam a acção desejada ou com materiais que suplementam a acção desejada, tais como antiácidos, bloqueadores H₂ e diuréticos. O ingrediente activo é um composto ou seu derivado farmaceuticamente aceitável como aqui descrito. Podem ser incluídas concentrações maiores, até cerca de 98% em peso do ingrediente activo.

Os veículos farmaceuticamente aceitáveis incluídos nos comprimidos são ligantes, lubrificantes, diluentes, agentes desintegrantes, agentes corantes, agentes aromatizantes e agentes humectantes. Os comprimidos entericamente revestidos, devido ao revestimento entérico, resistem à acção do ácido do estômago e dissolvem-se ou desintegram-se nos intestinos neutros ou alcalinos. Os comprimidos revestidos com açúcar são comprimidos comprimidos aos quais são aplicadas camadas diferentes de substâncias farmaceuticamente aceitáveis. Os comprimidos revestidos por película são comprimidos comprimidos que foram revestidos com um polímero ou outro revestimento adequado. Os comprimidos multiplamente comprimidos são comprimidos comprimidos preparados por mais de um ciclo de compressão, utilizando as substâncias farmaceuticamente aceitáveis previamente mencionadas. Os agentes corantes podem também ser utilizados nas formas de administração acima. Os agentes aromatizantes e edulcorantes são utilizados em comprimidos comprimidos, comprimidos revestidos com açúcar, comprimidos multiplamente comprimidos e comprimidos mastigáveis. Os agentes aromatizantes e edulcorantes são especialmente úteis na formação de comprimidos mastigáveis e pastilhas.

As formas líquidas para administração oral incluem soluções aquosas, emulsões, suspensões, soluções e/ou suspensões reconstituídas a partir de grânulos não efervescentes e preparações efervescentes reconstituídas a partir de grânulos efervescentes. As soluções aquosas incluem, por exemplo, elixires e xaropes. As emulsões são óleo-em-água ou água-em-óleo.

Os elixires são preparações hidroalcoólicas, edulcoradas, límpidas. Os veículos farmaceuticamente aceitáveis utilizados em elixires incluem solventes. Os xaropes são soluções aquosas concetradas de um açúcar, por exemplo, sacarose, e podem conter um conservante. Uma emulsão é um sistema em duas fases no qual um líquido é disperso na forma de pequenos glóbulos num outro líquido. Os veículos farmaceuticamente aceitáveis utilizados em emulsões são líquidos não aquosos, agentes emulsionantes e conservantes. As suspensões utilizam agentes de suspensão farmaceuticamente aceitáveis e conservantes. As substâncias farmaceuticamente aceitáveis utilizadas em grânulos não efervescentes, para serem reconstituídos numa forma líquida para administração oral, incluem diluentes, edulcorantes e agentes humectantes. As substâncias farmaceuticamente aceitáveis utilizadas em grânulos efervescentes, para serem reconstituídos numa forma líquida para administração oral, incluem ácidos orgânicos e uma fonte de dióxido de carbono. Os agentes corantes e aromatizantes são utilizados em todas as formas de administração acima.

Os solventes incluem glicerina, sorbitol, álcool etílico e xarope. Exemplos de conservantes incluem glicerina, metil e propilparabeno, ácido benzóico, benzoato de sódio e álcool. Exemplos de líquidos não aquosos utilizados em emulsões incluem óleo mineral e óleo de semente de algodão. Exemplos de agentes emulsionantes incluem gelatina, acácia, tragacanta, bentonite e tensioactivos tais como mono-oleato de polioxietilenossorbitano. Os agentes de suspensão incluem carboximetilcelulose sódica, pectina, tragacanta, Veegum e acácia. Os diluentes incluem lactose e sacarose. Os agentes edulcorantes incluem sacarose, xaropes, glicerina e agentes aromatizantes artificiais tais como sacarina. Os agentes humectantes incluem monostearato de propilenoglicol, mono-

oleato de sorbitano, monolaurato de dietilenoglicol e lauril éter de polioxietileno. Os ácidos orgânicos incluem ácido cítrico e tartárico. As fontes de dióxido de carbono incluem bicarbonato de sódio e carbonato de sódio. Os agentes corantes incluem qualquer um dos corantes FD e C solúveis em água, certificados, aprovados e suas misturas. Os agentes aromatizantes incluem aromas naturais extractados a partir de plantas tais como frutas e misturas sintéticas de compostos que produzem uma sensação de paladar agradável.

Para uma forma sólida de administração, a solução ou suspensão, por exemplo em carbonato de propileno, óleos vegetais ou triglicéridos, pode ser encapsulada numa cápsula de gelatina. Tais soluções e a sua preparação e encapsulamento, são descritos nas Patentes U.S. Nos. 4328245; 4409239; e 4410545. Para uma forma líquida de administração, a solução, por exemplo, num propilenoglicol, pode ser diluída com uma quantidade suficiente de um veículo líquido farmaceuticamente aceitável, por exemplo, água, para ser facilmente medida para administração.

Alternativamente, as formulações orais líquidas ou semi-sólidas podem ser preparadas por dissolução ou dispersão do composto activo ou sal em óleos vegetais, glicóis, triglicéridos, ésteres de propilenoglicol (por exemplo, carbonato de propileno) e outros desses veículos, e encapsulamento destas soluções ou suspensões em envólucros de cápsulas de gelatina dura ou mole. Outras formulações úteis incluem, mas não estão limitadas, àquelas contendo um composto aqui proporcionado, um mono- ou poli-alquilenoglicol dialquilado, incluindo, mas não limitado a, 1,2-dimetoximetano, diglima, triglima, tetraglima, polietilenoglicol 350-éter dimetílico, polietilenoglicol 550-éter dimetílico, polietilenoglicol 750-éter dimetílico, nos quais 350, 550 e 750 se referem ao peso molecular médio aproximado do polietilenoglicol, e um ou mais antioxidantes, tais como hidroxitolueno butilado (BHT), hidroxianisol butilado (BHA), galato de propilo, vitamina E, hidroquinona, hidroxicumarinas, etanolamina, lecitina, cefalina, ácido ascórbico, ácido mágico, sorbitol, ácido fosfórico, ácido tiadipropiónico e seus ésteres e ditiocarbamatos.

Outras formulações incluem, mas não estão limitadas a, soluções alcoólicas aquosas incluindo um acetal farmaceuticamente aceitável. Os álcoois utilizados nestas formulações são quaisquer solventes miscíveis em água farmaceuticamente aceitáveis tendo um ou mais grupos hidroxilo, incluindo, mas não limitados a, propilenoglicol e etanol. Os acetais incluem, mas não estão limitados a, di(alquil inferior)acetais de aldeídos de alquilo inferior tais como dietilacetal de acetaldeído.

As formulações de comprimidos e cápsulas podem ser revestidas como conhecido por aqueles peritos na arte de modo a modificar ou prolongar a dissolução do ingrediente activo. Assim, por exemplo, elas podem ser revestidas com um revestimento digerível entericamente convencional, tal como salicilato de fenilo, ceras e acetato-ftalato de celulose.

Injectáveis, soluções e emulsões

A administração parentérica, geralmente caracterizada por injecção, subcutânea, intramuscular ou intravenosa, é também aqui contemplada. Os injectáveis podem ser preparados em formas convencionais, quer como soluções quer como suspensões líquidas, formas sólidas adequadas para solução ou suspensão em líquido antes da injecção, ou como emulsões. Os excipientes adequados são, por exemplo, água, solução salina, dextrose, glicerol ou etanol. Adicionalmente, se desejado, as composições farmacêuticas a serem administradas podem também conter quantidades menores de substâncias auxiliares não tóxicas tais como agentes humectantes ou emulsionantes, agentes tamponantes de pH, estabilizantes, intensificadores de solubilidade e outros desses agentes, tais como, por exemplo, acetato de sódio, monolaurato de sorbitano, oleato de trietanolamina e ciclodextrinas. É também aqui contemplada a implantação de um sistema de libertação lenta ou de libertação prolongada, de modo a que seja mantido um nível constante de dose. Em resumo, um composto aqui descrito é disperso numa matriz interior sólida, por exemplo, polimetilmetacrilato, polibutilmetacrilato, policloreto de vinilo plastificado ou não plastificado, nylon plastificado, polietilenotereftalato plastificado, borracha natural, poli-isopreno, poli-isobutileno, polibutadieno, polietileno,

copolímeros de etileno-vinil-acetato, borrachas de silicone, polidimetilsiloxanos, copolímeros de carbonato de silicone, polímeros hidrofílicos tais como hidrogeles de ésteres de ácido acrílico e metacrílico, colagénio, poli(álcool vinílico) reticulado e poli(acetato de vinilo) parcialmente hidrolizado reticulado, que é rodeado por uma membrana polimérica exterior, por exemplo, polietileno, polipropileno, copolímeros de etileno/propileno, copolímeros de etileno/acrilato de etilo, copolímeros de etileno/acetato de vinilo, borrachas de silicone, polidimetilsiloxanos, borracha de neopreno, polietileno clorado, policloreto de vinilo, copolímeros de cloreto de vinilo com acetato de vinilo, cloreto de vinilideno, etileno e propileno, ionómero de tereftalato de polietileno, borrachas de epicloro-hidrina de borracha butílica, copolímero de etileno/álcool vinílico, terpolímero de etileno/acetato de vinilo/álcool vinílico e copolímero de etileno/viniloxietanol, que é insolúvel nos fluidos corporais. O composto difunde-se através da membrana exterior polimérica num passo de controlo da velocidade de libertação. A percentagem de composto activo contido em tais composições parentéricas é altamente dependente da sua natureza específica, assim como da actividade do composto e das necessidades do doente.

A administração parentérica das composições inclui administração intravenosa, subcutânea e intramuscular. As preparações para administração parentérica incluem soluções estéreis prontas para injecção, produtos secos solúveis estéreis, tais como pós liofilizados, prontos para serem combinados com um solvente imediatamente antes da utilização, incluindo comprimidos hipodérmicos, suspensões estéreis prontas para injecção, produtos insolúveis secos estéreis prontos para serem combinados com um veículo imediatamente antes de serem utilizados e emulsões estéreis. As soluções podem ser aquosas ou não aquosas.

Se intravenosamente administrado, os veículos adequados incluem solução salina fisiológica ou solução salina tamponada com fosfato (PBS) e soluções contendo agentes espessantes e solubilizantes, tais como glucose, polietilenoglicol e polipropilenoglicol e suas misturas.

Os veículos farmaceuticamente aceitáveis utilizados em preparações parentéricas incluem veículos aquosos, veículos não aquosos, agentes antimicrobianos, agentes isotónicos, tampões, antioxidantes, anestésicos locais, agentes de suspensão e dispersão, agentes emulsionantes, agentes sequestrantes ou quelantes e outras substâncias farmaceuticamente aceitáveis.

Exemplos de veículos aquosos incluem Injecção de Cloreto de Sódio, Injecção de Ringer, Injecção de Dextrose Isotónica, Injecção de Água Estéril, Injecção de Dextrose e Ringer Lactado. Os veículos parentéricos não aquosos incluem óleos fixos de origem vegetal, óleo de semente de algodão, óleo de milho, óleo de sésamo e óleo de amendoim. Os agentes antimicrobianos em concentrações bacteriostáticas ou fungistáticas devem ser adicionados a preparações parentéricas acondicionadas em recipientes de dose múltipla, os quais incluem fenóis ou cresóis, mercuriais, álcool benzílico, clorobutanol, ésteres de metilo e propilo de ácido p-hidroxibenzólico, timerosal, cloreto de benzalcónio e cloreto de benzetónio. Os agentes isotónicos incluem cloreto de sódio e dextrose. Os tampões incluem fosfato e citrato. Os antioxidantes incluem bissulfato de sódio. Os anestésicos locais incluem cloridrato de procaina. Os agentes de suspensão e dispersão incluem carboximetilcelulose sódica, hidroxipropilmetylcelulose e polivinilpirrolidona. Os agentes emulsionantes incluem Polissorbato 80 (TWEEN® 80). Um agente sequestrante ou quelante de iões metálicos inclui EDTA. Os veículos farmacêuticos incluem também álcool etílico, polietilenoglicol e propilenoglicol para veículos miscíveis em água e hidróxido de sódio, ácido clorídrico, ácido cítrico ou ácido láctico para ajuste do pH.

A concentração do composto farmaceuticamente activo é ajustada de modo a que uma injeção proporcione uma quantidade eficaz para produzir o efeito farmacológico desejado. A dose exacta depende da idade, peso e condição do doente ou animal, como é conhecido na arte.

As preparações parentéricas de dose unitária são acondicionadas numa ampola, num frasco para injectáveis ou numa seringa com uma agulha. Todas as preparações para

administração parentérica devem ser estéreis, como é conhecido e praticado na arte.

Ilustrativamente, a perfusão intravenosa e intra-arterial de uma solução aquosa estéril contendo um composto activo é um modo de administração eficaz. Uma outra concretização é uma solução ou suspensão aquosa ou oleosa estéril contendo um material activo injectado quando necessário para produzir o efeito farmacológico desejado.

Os injectáveis são concebidos para administração local e sistémica. Em certas concretizações, uma dose farmaceuticamente eficaz é formulada para conter uma concentração de, pelo menos, cerca de 0,1% p/p até cerca de 90% p/p ou mais, ou mais de 1% p/p do composto activo para o(s) tecido(s) tratado(s). O ingrediente activo pode ser administrado de uma só vez, ou pode ser dividido num certo número de doses mais pequenas para ser administrado a intervalos de tempo. Sabe-se que a dose precisa e a duração do tratamento são uma função do tecido a ser tratado e podem ser empiricamente determinadas utilizando protocolos de teste conhecidos ou por extrapolação a partir de dados de testes *in vivo* ou *in vitro*. Deve-se observar que as concentrações e os valores das doses podem também variar com a idade do indivíduo tratado. Deve ser adicionalmente entendido que para qualquer doente particular, os regimes posológicos específicos devem ser ajustados ao longo do tempo de acordo com a necessidade individual e o juízo profissional da pessoa que administra ou supervisiona a administração das formulações, e que os intervalos de concentração aqui descritos são apenas exemplificativos não se destinando a limitar o âmbito ou prática das formulações reivindicadas.

O composto pode ser suspenso numa forma micronizada ou numa outra forma adequada ou pode ser derivatizado para produzir um produto activo mais solúvel ou para produzir um pró-fármaco. A forma da mistura resultante depende de um certo número de factores, incluindo o modo de administração pretendido e a solubilidade do composto no transportador ou veículo seleccionado. A concentração eficaz é suficiente para melhorar os sintomas da condição e pode ser empiricamente determinada.

Pós liofilizados

São também de interesse aqui, os pós liofilizados, que podem ser reconstituídos para administração como soluções, emulsões e outras misturas. Eles podem ser também reconstituídos e formulados como sólidos ou geles.

O pó liofilizado, estéril, é preparado por dissolução de um composto aqui descrito ou de um seu derivado farmaceuticamente aceitável, num solvente adequado. O solvente pode conter um excipiente que melhore a estabilidade ou um outro componente farmacológico do pó ou solução reconstituída, preparado a partir do pó. Os excipientes que podem ser utilizados incluem, mas não estão limitados a, dextrose, sorbitol, frutose, xarope de milho, xilitol, glicerina, glucose, sacarose ou um outro agente adequado. O solvente pode também conter um tampão, tal como citrato, fosfato de sódio ou potássio ou outro dos tampões conhecidos daqueles peritos na arte a pH próximo de neutro. A filtração estéril subsequente da solução seguida por liofilização sob condições padrão conhecidas daqueles peritos na arte proporciona a formulação desejada. Em geral, a solução resultante vai ser dividida em frascos para injectáveis para liofilização. Cada frasco para injectável contém uma dose única (10-1000 mg ou 100-500 mg) ou doses múltiplas do composto. O pó liofilizado pode ser armazenado sob condições adequadas, tais como desde cerca de 4°C até à temperatura ambiente.

A reconstituição deste pó liofilizado com água para injecção proporciona uma formulação para utilização na administração parentérica. Para reconstituição, adiciona-se cerca de 1-50 mg, 5-35 mg ou cerca de 9-30 mg de pó liofilizado por ml de água estéril ou outro veículo adequado. A quantidade precisa depende do composto seleccionado. Tal quantidade pode ser empiricamente determinada.

Administração cutânea

As misturas cutâneas são preparadas como descrito para administração local e sistémica. A mistura resultante pode ser uma solução, suspensão, emulsão ou semelhante e é

formulada como cremes, geles, pomadas, emulsões, soluções, elixires, loções, suspensões, tinturas, pastas, espumas, aerossóis, irrigações, pulverizadores, supositórios, ligaduras, adesivos transdérmicos ou quaisquer outras formulações adequadas para administração cutânea.

Os compostos ou seus derivados farmaceuticamente aceitáveis podem ser formulados como aerossóis para aplicação cutânea, tal como por inalação (ver, por exemplo, Patentes U.S. Nos. 4044126, 4414209 e 4364923, que descrevem aerossóis para distribuição de um esteróide útil para tratamento de doenças inflamatórias, particularmente, asma). Estas formulações para administração no tracto respiratório podem estar na forma de um aerossol ou solução para um nebulizador, ou como um pó microfino para insuflação, isolado ou em combinação com um veículo inerte tal como lactose. Num tal caso, as partículas da formulação vão ter diâmetros inferiores a 50 micra ou inferiores a 10 micra.

Os compostos podem ser formulados para aplicação local ou cutânea, tal como para aplicação cutânea na pele e membranas mucosas, tal como no olho, na forma de geles, cremes e loções e para aplicação no olho ou para aplicação intracisterna ou intraespinal. A administração cutânea está contemplada para distribuição transdérmica e também para administração nos olhos ou mucosas ou para terapêuticas de inalação. As soluções nasais do composto activo isolado ou em combinação com outros excipientes farmaceuticamente aceitáveis podem também ser administradas.

Estas soluções, particularmente aquelas destinadas a utilização oftálmica, podem ser formuladas como soluções isotónicas a 0,01%-10%, pH de aproximadamente 5-7, com sais adequados.

Composições para outras vias de administração

São aqui também contempladas, outras vias de administração, tal como a aplicação cutânea, adesivos transdérmicos e a administração rectal.

Por exemplo, as formas farmacêuticas para administração rectal são supositórios rectais, cápsulas e comprimidos para

efeito sistémico. Os supositórios rectais que são aqui utilizados significam corpos sólidos para inserção no recto que fundem ou amolecem à temperatura corporal libertando um ou mais ingredientes farmacológica ou terapeuticamente activos. As substâncias farmaceuticamente aceitáveis utilizadas em supositórios rectais são bases ou veículos e agentes para aumentar o ponto de fusão. Exemplos de bases incluem manteiga de cacau (óleo de Theobroma), glicerina-gelatina, carbowax (polioxietilenoglicol) e misturas adequadas de mono-, di- e triglicéridos de ácidos gordos. Podem ser utilizadas associações das várias bases. Os agentes para aumentar o ponto de fusão dos supositórios incluem espermacete e cera. Os supositórios rectais podem ser preparados ou pelo processo de compressão ou por moldagem. Em certas concretizações, o peso de um supositório rectal é de cerca de 2 a 3 g.

Os comprimidos e cápsulas para administração rectal são fabricados utilizando a mesma substância farmaceuticamente aceitável e pelos mesmos métodos que para as formulações para administração oral.

Composições de Libertação Prolongada

Os ingredientes activos tais como os compostos aqui descritos podem ser administrados por meios de libertação controlada ou por dispositivos de distribuição que são bem conhecidos daqueles peritos na arte. Os exemplos incluem, aqueles descritos nas Patentes U.S. Nos.: 3845770; 3916899; 3536809; 3598123; 4008719; 5674533; 5059595; 5591767; 5120548; 5073543; 5639476; 5354556; 5639480; 5733566; 5739108; 5891474; 5922356; 5972891; 5980945; 5993855; 6045830; 6087324; 6113943; 6197350; 6248363; 6264970; 6267981; 6376461; 6419961; 6589548; 6613358 e 6699500. Tais formas de administração podem ser utilizadas para proporcionar a libertação lenta ou controlada de um ou mais ingredientes activos utilizando, por exemplo, hidroxipropilmetilcelulose, outras matrizes de polímeros, geles, membranas permeáveis, sistemas osmóticos, revestimentos multicamada, micro partículas, lipossomas, microsferas, ou uma sua combinação, em várias proporções, para proporcionar o perfil de libertação desejado. As

formulações de libertação controlada adequadas conhecidas daqueles peritos na arte, incluindo aquelas aqui descritas, podem ser rapidamente seleccionadas para utilização com os ingredientes activos aqui proporcionados. Assim, as composições proporcionadas abrangem formas de dose unitária única adequadas para administração oral tais como, mas não limitadas a, comprimidos, cápsulas, cápsulas de gele e comprimidos tipo cápsula que são adaptadas para libertação controlada.

Todos os produtos farmacêuticos de libertação controlada têm um objectivo comum de melhorar a terapêutica com fármaco sobre aquela alcançada pelos seus duplicados não controlados. Idealmente, a utilização de uma preparação de libertação controlada optimamente concebida no tratamento médico é caracterizada pela utilização de um mínimo de substância de fármaco para curar ou controlar a condição numa quantidade mínima de tempo. As vantagens das formulações de libertação controlada incluem actividade prolongada do fármaco, reduzida frequência de administração e aumento da adesão do doente. Adicionalmente, as formulações de libertação controlada podem ser utilizadas para afectar o tempo de início da acção ou outras características, tais como níveis sanguíneos do fármaco podendo assim afectar a ocorrência de efeitos secundários (por exemplo, adversos).

A maioria das formulações de libertação controlada são concebidas para libertar inicialmente uma quantidade de fármaco (ingrediente activo) que produz imediatamente o efeito terapêutico desejado e liberta gradual e continuamente outras quantidades de fármaco para manter este nível de efeito terapêutico ou profiláctivo durante um período de tempo prolongado. De forma a manter este nível de fármaco constante no corpo, o fármaco deve ser libertado a partir da forma de administração a uma velocidade que vai substituir a quantidade de fármaco que é metabolizada e excretada a partir do corpo. A libertação controlada de um ingrediente activo pode ser estimulada por várias condições incluindo, mas não limitadas a, pH, temperatura, enzimas, água ou outras condições fisiológicas ou compostos.

O fármaco pode ser administrado utilizando a perfusão intravenosa, uma bomba osmótica implantável, um adesivo transdérmico, lipossomas ou outros modos de administração. Pode ser utilizada uma bomba (ver, Sefton, *CRC Crit. Ref. Biomed. Eng.* 14:201 (1987); Buchwald *et al.*, *Surgery* 88:507 (1980); Saudek *et al.*, *N. Engl. J. Med.* 321:574 (1989)). Podem ser utilizados materiais poliméricos. Pode ser colocado num doente um sistema de libertação controlada num local adequado determinado por um profissional perito, i.e. requerendo assim apenas uma fracção da dose sistémica (ver, por exemplo, Goodson, *Medical Applications of Controlled Release*, vol. 2, pgs. 115-138 (1984)). Outros sistemas de libertação controlada são discutidos na revisão de Langer (*Science* 249:1527-1533 (1990)). O ingrediente activo pode ser disperso numa matriz interior sólida, por exemplo, polimetilmetacrilato, polibutilmetacrilato, policloreto de vinilo plastificado ou não plastificado, nylon plastificado, polietilenotereftalato plastificado, borracha natural, poli-isopreno, poli-isobutileno, polibutadieno, polietileno, copolímeros de etileno-acetato de vinilo, borrachas de silicone, polidimetilsiloxanos, copolímeros de carbonato de silicone, polímeros hidrofílicos tais como hidrogeles de ésteres de ácido acrílico e metacrílico, colagénio, poli(álcool vinílico) reticulado e poli(acetato de vinilo) hidrolisado parcialmente reticulado, que é rodeado por uma membrana polimérica exterior, por exemplo, polietileno, polipropileno, copolímeros de etileno/propileno, copolímeros de etileno/acrilato de etilo, copolímeros de etileno/acetato de vinilo, borrachas de silicone, polidimetilsiloxanos, borracha de neopreno, polietileno clorado, policloreto de vinilo, copolímeros de cloreto de vinilo com acetato de vinilo, cloreto de vinilideno, etileno e propileno, ionómero de tereftalato de polietileno, borrachas de epicloro-hidrina de borracha butílica, copolímero de etileno/álcool vinílico, terpolímero etileno/acetato de vinilo/álcool vinílico e copolímero de etileno/viniloxietanol, que é insolúvel em fluidos corporais. O ingrediente activo difunde então através da membrana polimérica exterior num passo de controlo da velocidade de libertação. A percentagem de ingrediente activo em tais composições parentéricas é altamente dependente da sua natureza específica, assim como das necessidades do doente.

Formulações Alvo

Os compostos aqui descritos, ou seus derivados farmaceuticamente aceitáveis, podem também ser formulados para serem alvejados num tecido, receptor ou outra área do corpo particular, do doente a ser tratado. Muitos destes métodos de alvo são bem conhecidos daqueles peritos na arte. Todos estes métodos de alvo são aqui contemplados para utilização nas presentes composições. Para exemplos de métodos de alvo, ver, por exemplo, as Patentes U.S. Nos. 6316652, 6274552, 6271359, 6253872, 6139865, 6131570, 6120751, 6071495, 6060082, 6048736, 6039975, 6004534, 5985307, 5972366, 5900252, 5840674, 5759542 e 5709874.

As suspensões lipossomais, incluindo lipossomas alvo de tecido, tais como lipossomas alvo de tumor, podem também ser adequadas como veículos farmaceuticamente aceitáveis. Elas podem ser preparadas de acordo com os métodos conhecidos daqueles peritos na arte. Por exemplo, as formulações de lipossomas podem ser preparadas como descrito na Patente U.S. No. 4522811. Em resumo, os lipossomas tais como vesículas multilamelares (MLVs) podem ser formados por secagem de fosfatidilcolina de ovo e fosfatidilserina de cérebro (relação molar de 7:3) dentro de um balão. Adiciona-se uma solução de um composto aqui descrito em solução salina tamponada com fosfato isenta de catiões divalentes (PBS) e o balão é agitado até se dispersar a película de lípido. As vesículas resultantes são lavadas para remover o composto não encapsulado, transformadas em pelotas por centrifugação e depois ressuspensas em PBS.

Dose e Formas de Dose Unitária

Na terapêutica em humanos, o médico vai determinar a posologia que considera mais apropriada de acordo com o tratamento preventivo ou curativo e de acordo com a idade, peso, fase da doença e outros factores específicos do doente a ser tratado. Em geral, as doses são de cerca de 1 a cerca de 1000 mg por dia para um adulto ou de cerca de 5 a cerca de 250 mg por dia ou de cerca de 10 a 50 mg por dia para um adulto. Em certas concretizações, as doses são de cerca de 5 a cerca de 400 mg por dia ou de 25 a 200 mg por dia por

adulto. São também contemplados intervalos de dose de cerca de 50 a cerca de 500 mg por dia.

Em certas concretizações, a quantidade do composto ou da composição que vai ser eficaz na prevenção ou tratamento da doença hepática ou de um ou mais de seus sintomas vai variar com a natureza e gravidade da doença ou condição e da via pela qual o ingrediente activo é administrado. A frequência e a dose vão também variar de acordo com factores específicos para cada doente dependendo da terapêutica específica (por exemplo, agentes terapêuticos ou profilácticos) administrada, da gravidade da desordem, doença ou condição, da via de administração, assim como da idade, corpo, peso, resposta e história médica passada do doente. As doses eficazes podem ser extrapoladas a partir das curvas de dose-resposta derivadas de sistemas de teste *in vitro* ou de modelo animal.

Doses exemplificativas de uma composição incluem quantidades em milígrama ou micrograma do inibidor MMP por quilograma de doente ou peso de amostra (por exemplo, cerca de 10 microgramas por quilograma a cerca de 50 miligramas por quilograma, cerca de 100 microgramas por quilograma a cerca de 25 miligramas por quilograma ou cerca de 100 microgramas por quilograma a cerca de 10 miligramas por quilograma). Em certas concretizações, a dose administrada a um doente está entre 0,20 mg/kg e 2,00 mg/kg, ou entre 0,30 mg/kg e 1,50 mg/kg do peso corporal do doente.

Em certas concretizações, o intervalo de doses diárias recomendadas do inibidor MMP aqui descrito para as condições aqui descritas situa-se no intervalo de cerca de 0,1 mg a cerca de 1000 mg por dia, dado como uma dose única uma vez por dia ou como doses divididas ao longo de um dia. Numa concretização, a dose diária é administrada duas vezes por dia em doses igualmente divididas. Em particular, um intervalo de doses diárias deve estar entre de cerca de 10 mg a cerca de 200 mg por dia, mais particularmente, entre cerca de 10 mg e cerca de 150 mg por dia, ou ainda mais particularmente entre cerca de 25 e cerca de 100 mg por dia. Nalguns casos, pode ser necessário utilizar doses do ingrediente activo fora dos intervalos aqui descritos, como será evidente para aqueles peritos na arte. Além disso, deve-

se observar que o clínico ou médico assistente vão saber como e quando interromper, ajustar ou terminar a terapêutica em conjunto com a resposta do doente.

Podem ser aplicadas quantidades terapeuticamente eficazes diferentes para diferentes doenças e condições, como será rapidamente reconhecido por aqueles peritos na arte. Similarmente, estão também abrangidas quantidades suficientes para prevenir, controlar, tratar, ou melhorar tais desordens, mas insuficientes para causar, ou suficientes para reduzir, os efeitos adversos associados ao composto aqui descrito pelas quantidades de administração e esquemas de frequência de doses acima descritos. Adicionalmente, quando se administra a um doente doses múltiplas de um composto aqui descrito, nem todas as doses necessitam de ser as mesmas. Por exemplo, a dose administrada ao doente pode estar aumentada para melhorar o efeito profiláctico ou terapêutico do composto ou pode ser diminuída para reduzir um ou mais efeitos secundários num doente particular em experiência.

Numa concretização, a dose do composto aqui descrito administrada para prevenir, tratar, controlar ou melhorar uma desordem, ou um ou mais dos seus sintomas num doente é de 0,1 mg/kg, 1 mg/kg, 2 mg/kg, 3 mg/kg, 4 mg/kg, 5 mg/kg, 6 mg/kg, 10 mg/kg ou 15 mg/kg ou mais de peso corporal de um doente. Numa outra concretização, a dose do composto aqui proporcionado, administrada para prevenir, tratar, controlar ou melhorar uma desordem, ou um ou mais dos seus sintomas num doente é uma dose unitária de 0,1 mg a 200 mg, 0,1 mg a 100 mg, 0,1 mg a 50 mg, 0,1 mg a 25 mg, 0,1 mg a 20 mg, 0,1 mg a 15 mg, 0,1 mg a 10 mg, 0,1 mg a 7,5 mg, 0,1 mg a 5 mg, 0,1 a 2,5 mg, 0,25 mg a 20 mg, 0,25 a 15 mg, 0,25 a 12 mg, 0,25 a 10 mg, 0,25 mg a 7,5 mg, 0,25 mg a 5 mg, 0,5 mg a 2,5 mg, 1 mg a 20 mg, 1 mg a 15 mg, 1 mg a 12 mg, 1 mg a 10 mg, 1 mg a 7,5 mg, 1 mg a 5 mg ou 1 mg a 2,5 mg.

Em certas concretizações, o tratamento ou prevenção podem ser iniciados com uma ou mais doses de carga de um inibidor MMP e/ou inibidor da caspase aqui descrito seguida por uma ou mais doses de manutenção. Em tais concretizações, a dose de carga pode ser, por exemplo, de cerca de 60 a cerca de 400 mg por dia, ou de cerca de 100 a cerca de 200 mg por

dia durante um dia a cinco semanas. A dose de carga pode ser seguida por uma ou mais doses de manutenção. Numa outra concretização, cada dose de manutenção pode ser, independentemente, de cerca de 0,1 mg a cerca de 200 mg por dia, numa concretização, entre cerca de 5 mg e cerca de 150 mg por dia, numa outra concretização, entre cerca de 10 e cerca de 80 mg por dia, numa outra concretização, de cerca de 10 mg a cerca de 200 mg por dia, numa outra concretização, entre cerca de 25 mg e cerca de 150 mg por dia, ou ainda numa outra concretização, entre cerca de 25 e cerca de 80 mg por dia. As doses de manutenção podem ser administradas diariamente e podem ser administradas como doses únicas ou como doses divididas.

Em certas concretizações, uma dose do inibidor MMP aqui descrito pode ser administrada para se alcançar uma concentração no estado estacionário do ingrediente activo no sangue ou soro do doente. A concentração no estado estacionário pode ser determinada por medição de acordo com as técnicas disponíveis para aqueles peritos ou pode ser baseada nas características físicas do doente tal como altura, peso e idade. Em certas concretizações, uma quantidade suficiente de um composto aqui proporcionado é administrada para se alcançar uma concentração no estado estacionário no sangue ou soro do doente de cerca de 300 a cerca de 4000 ng/ml, de cerca de 400 a cerca de 1600 ng/ml, ou de cerca de 600 a cerca de 1200 ng/ml. As doses de carga podem ser administradas para se alcançar as concentrações sanguíneas ou séricas de estado estacionário de cerca de 1200 a cerca de 8000 ng/ml, ou de cerca de 2000 a cerca de 4000 ng/ml durante um a cinco dias. As doses de manutenção podem ser administradas para se alcançar uma concentração no estado estacionário no sangue ou soro do doente de cerca de 300 a cerca de 4000 ng/ml, de cerca de 400 a cerca de 1600 ng/ml ou de cerca de 600 a cerca de 1200 ng/ml.

Em certas concretizações, a administração do mesmo composto pode ser repetida e as administrações podem ser separadas por, pelo menos, 1 dia, 2 dias, 3 dias, 5 dias, 10 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias, 2 meses, 75 dias, 3 meses ou 6 meses. Noutras concretizações, a administração do mesmo agente profiláctico ou terapêutico pode ser repetida e a

administração pode ser separada por, pelo menos, 1 dia, 2 dias, 3 dias, 5 dias, 10 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias, 2 meses, 75 dias, 3 meses ou 6 meses.

São aqui descritas doses unitárias compreendendo um composto, ou um seu derivado farmaceuticamente aceitável, numa forma adequada para administração. Tais formas são descritas com mais detalhe acima. Em certas concretizações, a dose unitária compreende 1 a 1000 mg, 5 a 250 mg ou 10 a 50 mg de ingrediente activo. Por exemplo, a dose unitária compreende cerca de 1, 5, 10, 25, 50, 100, 125, 250, 500 ou 1000 mg de ingrediente activo. Tais doses unitárias podem ser preparadas de acordo com técnicas familiares daqueles peritos na arte.

Artigos de fabrico

Os compostos ou derivados farmaceuticamente aceitáveis podem ser acondicionados como artigos de fabrico contendo material de acondicionamento, um composto ou seu derivado farmaceuticamente aceitável aqui descrito, que é utilizado para tratamento, prevenção ou melhoria de um ou mais sintomas associados a doença hepática, e um rótulo que indica que o composto ou seu derivado farmaceuticamente aceitável é utilizado para o tratamento, prevenção ou melhoria de um ou mais sintomas de doenças hepáticas.

Os artigos de fabrico aqui descritos contêm materiais de acondicionamento. Os materiais de acondicionamento para utilização no acondicionamento de produtos farmacêuticos são bem conhecidos daqueles peritos na arte. Ver, por exemplo, Patentes U.S. Nos. 5323907, 5052558 e 5033252. Exemplos de materiais de acondicionamento farmacêutico incluem, mas não estão limitados a, embalagens de blisters, frascos, bisnagas, inaladores, bombas, sacos, frascos para injectáveis, recipientes, seringas, frascos e qualquer material de acondicionamento adequado para uma formulação seleccionada e destinado ao modo de administração e tratamento. É contemplada uma grande quantidade de formulações dos compostos e composições aqui descritas.

Avaliação da Actividade dos Compostos

A actividade biológica dos compostos pode ser demonstrada por métodos conhecidos de um perito na arte. Por exemplo, Neil Kaplowitz descreveu modelos de ratinho para lesão hepática aguda em *Mechanisms in Liver Injury and Emerging Therapeutics* publicado pela American Association for the Study of Liver Diseases (2006), que é aqui incorporado por referência na sua totalidade.

A TNF- α é uma citocina que está implicada na indução de lesão hepática numa variedade de doenças hepáticas agudas e crónicas tais como HCV crónica e insuficiência hepática aguda. Um modelo *in vivo* exemplificativo para testar agentes farmacológicos contra a lesão induzida por TNF- α é o modelo de TNF- α /D-Gal de lesão hepática em ratinhos. Neste modelo, os ratinhos são tratados com TNF- α /D-Gal e o composto é administrado para avaliar a sua capacidade para proteger contra a lesão hepática. O composto é administrado antes do tratamento, na altura do tratamento ou depois do tratamento com TNF- α /D-Gal e seguido por um período de aproximadamente 6 horas. Permitindo-se que este modelo persista passadas 6 horas é uma variação utilizada para determinar a sobrevivência aumentada proporcionada pelo tratamento com o composto.

São utilizadas para esta avaliação, múltiplas medições dos resultados. Uma destas é a medição dos níveis da enzima hepática ALT no sangue. São regularmente observados, no sangue de doentes que sofrem de uma variedade de doenças hepáticas, níveis elevados de ALT. A medição da ALT é um teste laboratorial muito comum e de importância clínica para a extensão da doença hepática em doentes. Uma segunda medição envolve a avaliação grosseira e histológica da lesão hepática. A extensão da lesão hepática pode ser graduada por exame das amostras de fígado preparadas e microscopicamente avaliadas por observadores treinados. Em certas concretizações, a lesão hepática pode ser suficientemente grave para causar mortalidade. Em certas concretizações, os compostos aqui descritos protegem contra a lesão hepática induzida por TNF- α /D-Gal como determinado por

estes parâmetros. Em certas concretizações, os compostos aqui descritos protegem contra a lesão hepática induzida por Fas como determinado por estes parâmetros. Em certas concretizações, os compostos aqui descritos mostram redução na lesão hepática e fibrose hepática no modelo de ligação de ducto biliar.

Outros modelos de lesão hepática incluem o modelo LPS/D-Gal, o modelo de lesão hepática induzida por α -Fas e o modelo Con A de lesão hepática. Estes modelos são também importantes para a doença em humanos. Todos estes três modelos são complementares uns dos outros.

Em certas concretizações, os compostos aqui descritos mostram inibição da replicação do HCV no teste de replicação de HCV.

TERAPÊUTICA DE COMBINAÇÃO

Em certas concretizações, os inibidores MMP aqui descritos são administrados em combinação com um ou mais segundos agentes conhecidos por tratarem uma doença hepática. As doses dos segundos agentes que devem ser utilizadas em terapêuticas de combinação são conhecidas na arte. Em certas concretizações, são utilizadas nas terapêuticas de combinação aqui proporcionadas, doses inferiores às que têm sido ou estão a ser presentemente utilizadas para prevenir ou tratar a doença hepática, tal como hepatite B ou C. As doses recomendadas dos segundos agentes podem ser obtidas a partir do conhecimento dos peritos. Para aqueles segundos agentes que estão aprovados para utilização clínica, as doses recomendadas são descritas em, por exemplo, Schiff's Diseases of the Liver 10^a edição (2006), Lippincott, Williams e Wilkins, Hardman et al., eds., 1996, Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis Of Basis Of Therapeutics 9^a Ed, McGraw-Hill, Nova Iorque; Physician's Desk Reference (PDR) 57^a Ed., 2003, Medical Economics Co., Inc., Montvale, NJ, que são aqui incorporados por referência na sua totalidade.

Em várias concretizações, as terapêuticas (por exemplo, um composto aqui proporcionado e o segundo agente) são administradas com menos de 5 minutos de diferença, menos de

30 minutos de diferença, 1 hora de diferença, cerca de 1 hora de diferença, cerca de 1 hora a cerca de 2 horas de diferença, cerca de 2 horas a cerca de 3 horas de diferença, cerca de 3 horas a cerca de 4 horas de diferença, cerca de 4 horas a cerca de 5 horas de diferença, cerca de 5 horas a cerca de 6 horas de diferença, cerca de 6 horas a cerca de 7 horas de diferença, cerca de 7 horas a cerca de 8 horas de diferença, cerca de 8 horas a cerca de 9 horas de diferença, cerca de 9 horas a cerca de 10 horas de diferença, cerca de 10 horas a cerca de 11 horas de diferença, cerca de 11 horas a cerca de 12 horas de diferença, cerca de 12 horas a 18 horas de diferença, 18 horas a 24 horas de diferença, 24 horas a 36 horas de diferença, 36 horas a 48 horas de diferença, 48 horas a 52 horas de diferença, 52 horas a 60 horas de diferença, 60 horas a 72 horas de diferença, 72 horas a 84 horas de diferença, 84 horas a 96 horas de diferença ou 96 horas a 120 horas de diferença. Em certas concretizações, são administradas duas ou mais terapêuticas na mesma visita do doente.

Em certas concretizações, o composto aqui descrito e o segundo agente são ciclicamente administrados. A terapêutica de ciclo envolve a administração de uma primeira terapêutica (por exemplo, um primeiro agente profiláctico ou terapêutico) durante um período de tempo, seguida pela administração de uma segunda terapêutica (por exemplo, um segundo agente profiláctico ou terapêutico) durante um período de tempo, seguida pela administração de uma terceira terapêutica (por exemplo, um terceiro agente profiláctico ou terapêutico) durante um período de tempo, etc., e repetição desta administração sequencial, i.e., o ciclo de forma a reduzir o desenvolvimento de resistência a um dos agentes, para evitar ou reduzir os efeitos secundários de um dos agentes e/ou melhorar a eficácia do tratamento.

Em certas concretizações, o composto aqui descrito e um segundo agente são administrados a um doente, por exemplo, um mamífero, tal como um humano, numa sequência e num intervalo de tempo de modo a que o composto aqui proporcionado possa actuar em conjunto com o outro agente para proporcionar um benefício aumentado relativamente a quando eles são de outro modo administrados. Por exemplo, o segundo agente activo pode

ser administrado ao mesmo tempo ou sequencialmente em qualquer ordem a diferentes tempos; no entanto, se não administrado ao mesmo tempo, eles devem ser administrados de modo suficientemente próximo no tempo de forma a proporcionar o efeito terapêutico ou profiláctico desejado. Numa concretização, o composto aqui proporcionado e o segundo agente activo exercem o seu efeito em momentos que se sobrepõem. Cada segundo agente activo pode ser administrado separadamente, em qualquer forma adequada e por qualquer via adequada. Noutras concretizações, o composto aqui proporcionado é administrado antes, concorrentemente ou após administração do segundo agente activo.

Em certas concretizações, o composto aqui descrito e o segundo agente activo são administrados num ciclo inferior a cerca de 3 semanas, cerca de uma vez em cada duas semanas, cerca de uma vez em cada 10 dias ou cerca de uma vez em cada semana. Um ciclo pode compreender a administração de um composto aqui proporcionado e de um segundo agente por perfusão durante cerca de 90 minutos em cada ciclo, cerca de 1 hora em cada ciclo, cerca de 45 minutos em cada ciclo. Cada ciclo pode compreender, pelo menos, 1 semana de repouso, pelo menos, 2 semanas de repouso, pelo menos, 3 semanas de repouso. O número de ciclos administrados é de cerca de 1 a cerca de 12 ciclos, mais tipicamente, de cerca de 2 a cerca de 10 ciclos e mais tipicamente de cerca de 2 a cerca de 8 ciclos.

Em certas concretizações, a administração do mesmo agente pode ser repetida e as administrações podem ser separadas por, pelo menos, 1 dia, 2 dias, 3 dias, 5 dias, 10 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias, 2 meses, 75 dias, 3 meses ou 6 meses. Noutras concretizações, o composto aqui proporcionado e o segundo agente são administrados com cerca de 2 a 4 dias de diferença, com cerca de 4 a 6 dias de diferença, com cerca de 1 semana de diferença, com cerca de 1 a 2 semanas de diferença ou com mais de 2 semanas de diferença.

Noutras concretizações, os cursos de tratamento são administrados concorrentemente a um doente, i.e., doses individuais do segundo agente são administradas separadamente

contudo num intervalo de tempo de modo a que o composto aqui proporcionado possa trabalhar em conjunto com o segundo agente activo. Por exemplo, um componente pode ser administrado uma vez por semana em combinação com os outros componentes que podem ser administrados uma vez cada duas semanas ou uma vez cada três semanas. Por outras palavras, os regimes posológicos são realizados concorrentemente mesmo se as terapêuticas não forem administradas simultaneamente ou durante o mesmo dia.

O segundo agente pode actuar aditivamente ou sinergicamente com o composto aqui descrito. Numa concretização, o composto aqui descrito é administrado concorrentemente com um ou mais agentes na mesma composição farmacêutica. Numa outra concretização, um composto aqui descrito é administrado concorrentemente com um ou mais segundo(s) agente(s) em composições farmacêuticas separadas. Ainda numa outra concretização, um composto aqui descrito é administrado antes ou subsequentemente à administração de um segundo agente. É também contemplada a administração de um composto aqui descrito e de um segundo agente pela mesma ou diferentes vias de administração, por exemplo, oral e parentérica. Em certas concretizações, quando o composto aqui descrito é administrado concorrentemente com um segundo agente que produz potencialmente efeitos secundários adversos incluindo, mas não limitados a, toxicidade, o segundo agente activo pode ser vantajosamente administrado numa dose que caia abaixo do limiar a que são induzidos efeitos secundários adversos.

Em certas concretizações, um composto aqui descrito é administrado em combinação com um segundo agente. Noutras concretizações, um segundo agente é administrado em combinação com dois segundos agentes. Ainda noutras concretizações, um segundo agente é administrado em combinação com dois ou mais segundos agentes.

Na terapêutica de combinação, as doses eficazes de dois ou mais agentes são administradas em conjunto, ao passo que na terapêutica de passo alternado ou sequencial, uma dose eficaz de cada agente é administrada em série ou sequencialmente. As doses dadas vão depender das taxas de

absorção, inactivação e excreção do fármaco assim como de outros factores conhecidos daqueles peritos na arte. Deve-se observar que os valores das doses vão também variar com a gravidade da condição a ser aliviada. Deve-se compreender adicionalmente que para qualquer doente particular, os regimes e esquemas posológicos específicos devem ser ajustados ao longo do tempo de acordo com a necessidade do indivíduo e o juízo profissional da pessoa que administra ou supervisiona a administração das composições.

Em certas concretizações, as utilizações aqui proporcionadas envolvem a administração de inibidor MMP aqui descrito em combinação com outro agente, tal como Intrão A, Peginterferão alfa-2a (Pegasys R), Peginterferão alfa-2a + ribavirina (Pegasys e Copegus, ver, por exemplo, Hoofnagle *et al.* em *N. enel. J. Med.* 355:23), lamivudina, adefovir, entecavir, emtricitabina (FTC), telbivudina (L-dT), valtorcitabina (Val-LdC), elvucitabina (L-Fd4C), clevudina, Racivir, BAM 205, NOV-205 (BAM 205), HepeX-B, Amdoxovir (DAPD), ANA 380 (LB80380), Pradefovir (Remofovir), EHT 899, Pradefovir, Zadaxin (timosina-alfa), UT 231-B, EP-HBS, Core do HBV, MIV 210, SpecifEx-HepB, Pentacept (L-3'-FD4C), Bay 41-4109 INTM-191 ou VX-950 (telaprevir).

Em certas concretizações, o segundo agente é seleccionado a partir dos seguintes:

Inibidores da protease: exemplos incluem Inibidor da Protease de HCV Medivir (Medivir/Tobotec); ITMN-191 (InterMune), SCH 503034 (Schering) e VX950 (Vertex). Outros exemplos de inibidores da protease incluem inibidores da protease NS3 à base de substrato (Attwood *et al.*, Antiviral peptide derivatives, PCT WO 98/22496, 1998; Attwood *et al.*, *Antiviral Chemistry and Chemotherapy* 1999, 10, 259-273; Attwood *et al.*, Preparation and use of amino acid derivatives as anti-viral agents, Patente Alemã Pub. DE 19914474; Tung *et al.* Inhibitors of serine proteases, particularly hepatitis C virus NS3 protease, PCT WO 98/17679), incluindo alfa-cetoamidas e hidrazinoureas e inibidores que terminam num electrólito tal como ácido borónico ou fosfonato (Llinas-Brunet *et al.*, Hepatitis C inhibitor peptide analogues, PCT WO 99/07734); inibidores da protease NS3 de base não

substrato tais como derivados 2,4,6-tri-hidroxi-3-nitrobenzamida (Sudo K. et al., *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1997, 238, 643-647; Sudo K. et al. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, 1998, 9, 186), incluindo RD3-4082 e RD3-4078, o primeiro substituído na amida com uma cadeia de 14 átomos de carbono e o último processando um grupo para-fenoxifenilo; e Sch 68631, uma fenantrenoquinona, um inibidor da protease HCV (Chu M. et al., *Tetrahedron Letters* 37:7229-7232, 1996).

O SCH 351633, isolado a partir do fungo *Penicillium griseofulvum*, foi identificado como um inibidor da protease (Chu M. et al., *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 9:1949-1952). Eglin c, isolado a partir de sanguessuga, é um potente inibidor de várias serina-proteases tais como proteases A e B de *S. griseus*, α -quimotripsina, quimase e subtilisina. Qasim M.A. et al., *Biochemistry* 36:1598-1607, 1997.

As patentes U.S. que descrevem inibidores da protease para o tratamento de HCV incluem, por exemplo, a Patente U.S. No. 6004933 de Spruce et al. que descreve uma classe de inibidores da protease cisteína para inibição da endopeptidase 2 de HCV; a Patente U.S. No. 5990276 de Zhang et al. que descreve inibidores sintéticos da protease NS3 de vírus da hepatite C; a Patente U.S. No. 5538865 de Reyes et al.; WO 02/008251 de Corvas International, Inc, e US 7169760, US2005/176648, WO 02/08187 e WO 02/008256 de Schering Corporation. Os tripéptidos inibidores de HCV são descritos nas Patentes US Nos. 6534523, 6410531 e 6420380 da Boehringer Ingelheim e WO 02/060926 da Bristol Myers Squibb. Os diarilpéptidos como inibidores da serina-protease NS3 de HCV são descritos na WO 02/48172 e US 6911428 da Schering Corporation. As imidazoleidinonas como inibidores da serina-protease NS3 de HCV são descritas na WO 02/08198 e US 6838475 da Schering Corporation e WO 02/48157 e US 6727366 da Bristol Myers Squibb. As patentes U.S. 7109172; 6909000; 6617390; 6608067; 6265380 e a publicação international no. WO 98/17679 de Vertex Pharmaceuticals e WO 02/48116 da Bristol Myers Squibb descrevem também inibidores da protease de HCV. Outros exemplos de inibidores da protease de HCV são descritos nas patentes U.S. nos. 7153848; 7138376; 7135462; 7132504;

7112601; e nas publicações U.S. nos. 2007/0010455; 2006/0276511; 2006/0257980; 2006/0258720; 2006/0252715 da InterMune, Inc.

Derivados tiazolidina que mostram inibição importante num teste de HPLC de fase reversa com uma proteína de fusão NS3/4A e substrato NS5A/5B (Sudo K. et al., *Antiviral Research*, 1996, 32, 9-18), especialmente o composto RD-1-6250, possuindo uma porção cinamoílo fundida substituída com uma cadeia de alquilo longa, RD4 6205 e RD4 6193;

Tiazolidinas e benzanilidas identificadas em Kakiuchi N. et al. *J. EBS Letters* 421, 217-220; Takeshita N. et al. *Analytical Biochemistry*, 1997, 247, 242-246;

Uma fenantrenoquinona possuindo actividade contra a protease num teste de SDS-PAGE e autorradiografia, isolada a partir de caldo de cultura de fermentação de *Streptomyces* sp., Sch 68631 (Chu M. et al., *Tetrahedron Letters*, 1996, 37, 7229-7232), e Sch 351633, isolado a partir do fungo *Penicillium griseofulvum*, que demonstra actividade num teste de proximidade de cintilação (Chu M. et al., *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 9, 1949-1952);

Inibidores da helicase (Diana G.D. et al., Compounds, compositions and methods for treatment of hepatitis C, Patente U.S. No. 5633358; Diana G.D. et al., Piperidine derivatives, pharmaceutical compositions thereof and their use in the treatment of hepatitis C, PCT WO 97/36554);

Inibidores da nucleotido-polimerase e gliotoxina (Ferrari R. et al. *Journal of Virology*, 1999, 73, 1649-1654), e a cerulenina de produto natural (Lohmann V. et al., *Virology*, 1998, 249, 108-118);

Os antivirais à base de ARN de interferência (ARNi), incluindo antivirais à base de ARN de interferência curta (ARNsi), tais como Sima-034 e outros descritos nas Publicações de Patente Internacional Nos. WO/03/070750 e WO 2005/012525 e na Publicação de Patente US No. US 2004/0209831.

Os fosforotioato-oligodesoxinucleótidos anti-sentido (S-ODN) complementares de alongamentos de sequências na região de não-codificação 5' (NCR) do vírus (Alt M. et al., *Hepatology*, 1995, 22, 707-717) ou os nucleótidos 326-348 compreendendo a extremidade 3' da NCR e os nucleótidos 371-388 localizados no núcleo da região de codificação do ARN de HCV (Alt M. et al., *Archives of Virology*, 1997, 142, 589-599; Galderisi U. et al., *Journal of Cellular Physiology*, 1999, 181, 251-257);

Os inibidores de tradução dependentes de IRES (Ikeda N. et al., *Agent for the prevention and treatment of hepatitis C*, Patente Japonesa Pub. JP-08268890; Kai Y. et al. *Prevention and treatment of viral diseases*, Patente Japonesa Pub. JP-10101591);

Ribozimas, tais como ribozimas resistentes a nuclease (Maccjak, D. J. et al., *Hepatology* 1999, 30, resumo 995) e aquelas descritas na Patente U.S. No. 6043077 de Barber et al., e as Patentes U.S. Nos. 5869253 e 5610054 de Draper et al.; e

Análogos nucleósido descritos nas Publicações Internacionais Nos. WO 01/90121 e WO 01/92282; WO 01/32153; WO 01/60315; WO 02/057425; WO 02/057287; WO 02/18404; WO 01/79246; WO 02/32920 e WO 02/48165. Certas patentes US e pedidos de patentes descrevendo a utilização de análogos nucleósido que podem ser utilizados como segundos agentes para tratar o vírus da hepatite C incluem: US 7202224; 7125855; 7105499 e 6777395 da Merck & Co., Inc. ; US 2006/0040890; 2005/0038240; 2004/0121980; 6846810; 6784166 e 6660721 da Roche; US 2005/0009737; US 2005/0009737; 7094770 e 6927291 de Pharmasset, Ltd.

A Publicação PCT No. WO 99/43691 de Emory University, entitulada "2'-Fluoronucleosides" descreve a utilização de certos 2'-fluoronucleósidos para tratar HCV.

Outros compostos mistos incluindo 1-amino-alquilciclohexanos (Patente U.S. No. 6034134 de Gold et al.), alquil-lípidos (Pat. U.S. No. 5922757 de Chojkier et al.), vitamina E e outros antioxidantes (Pat. U.S. No. 5922757 de Chojkier

et al.), esqualeno, amantadina, ácidos biliares (Pat. U.S. No. 5846964 de Ozeki *et al.*), ácido N-(fosfonoacetil)-L-aspártico, (Pat. U.S. No. 5830905 de Diana *et al.*), benzenodicarboxamidas (Pat. U.S. No. 5633388 de Diana *et al.*), derivados de ácido poliadenílico (Pat. U.S. No. 5496546 de Wang *et al.*), 2',3'-didesoxi-inosina (Pat. U.S. No. 5026687 de Yarchoan *et al.*), benzimidazóis (Pat. U.S. No. 5891874 de Colacino *et al.*), extractos de plantas (Patente U.S. No. 5837257 de Tsai *et al.*, Patente U.S. No. 5725859 de Omer *et al.*, e Patente U.S. No. 6056961) e piperidenos (Patente U.S. No. 5830905 de Diana *et al.*).

Qualquer outro composto actualmente em desenvolvimento pré-clínico ou clínico para o tratamento do vírus da hepatite C pode ser utilizado em combinação com os compostos aqui descritos. Em certas concretizações, os compostos que podem ser utilizados em combinação com os inibidores MMP aqui descritos incluem: Interleucina-10 da Schering-Plough, IP-501 de Interneuron, Merimebodib (VX-497) de Vertex, AMANTADINE® (Symmetrel) de Endo Labs Solvay, HEPTAZYME® de RPI, XTL-002 de XTL., HCV/MF59 de Chiron, CIVACIR® (Imunoglobulina da Hepatite C) de NABI, LEVOVIRIN® de ICN/Ribapharm, VIRAMIDINE® de ICN/Ribapharm, ZADAXIN® (timosina alfa-1) de Sci Clone, timosina mais interferão peguilado de Sci Clone, CEPLENE® (dicloridrato de histamina) de Maxim, VX 950/LY 570310 de Vertex/Eli Lilly, ISIS 14803 de Isis Pharmaceutical/Elan, JTK 003 de AKROS Pharma, BILN-2061 da Boehringer Ingelheim, CellCept (micofenolato de mofetil) da Roche, T67, um inibidor da β -tubulina, de Tularik, uma vacina terapêutica dirigida para E2 de Innogenetics, FK788 de Fujisawa Healthcare, Inc., IdB 1016 (Siliphos, fitosoma de silibin-fosfatidilcolina oral), inibidores da replicação do ARN (VP50406) de ViroPharma/Wyeth, vacina terapêutica de Intercell, vacina terapêutica de Epimmune/Genencor, inibidor IRES de Anadys, ANA 245 e ANA 246 de Anadys, imunoterapêutica (Therapore) de Avant, inibidor da protease de Corvas/Schering, inibidor da helicase de Vertex, inibidor de fusão de Trimeris, terapêutica com células T de CellExSys, inibidor da polimerase de Biocryst, química de ARN alvo de PTC Therapeutics, Dication de Immtech, Int., inibidor da protease de Agouron, inibidor da protease de Chiron/Medivir, terapêutica anti-sentido de AVI BioPharma, terapêutica anti-

sentido de Hybridon, hemopurificador de Aethlon Medical, vacina terapêutica de Merix, inibidor da protease da Bristol-Myers Squibb/Axys, Chron-VacC, uma vacina terapêutica, de Tripep, UT 231B de United Therapeutics, inibidores da protease, helicase e polimerase de Genelabs Technologies, inibidores IRES de Immusol, R803 de Rigel Pharmaceuticals, INFERGEN® (interferão alfacon-1) de InterMune, OMNIFERON® (interferão natural) de Viragen, ALBUFERON® de Human Genome Sciences, REBIF® (interferão beta-1a) de Ares-Serono, Interferão Omega de BioMedicine, interferão gama, interferão tau e Interferão gama-1b de InterMune.

Numa concretização, um ou mais compostos aqui descritos podem ser administrados em combinação ou alternadamente com a terapêutica da hepatite C actualmente disponível ou que está actualmente a ser desenvolvida. Numa concretização, um ou mais compostos aqui descritos podem ser administrados em combinação ou alternadamente a um interferão anti-vírus da hepatite C, tal como Intron A® (interferão alfa-2b) e Pegasys® (Peginterferão alfa-2a); Roferon A® (Interferão recombinante alfa-2a), Infergen® (interferão de consenso; interferão alfacon-1), PEG-Intron® (interferão peguilado alfa-2b) e Pegasys® (interferão peguilado alfa-2a).

Numa concretização, o interferão anti-vírus da hepatite C é infergen, IL-29 (PEG-Interferão lambda), R7025 (Maxi-alfa), Belerofon, Interferão Oral alfa, BLX-883 (Locteron), interferão omega, multiferão, interferão medusa, Albuferon ou REBIF®.

Numa concretização, um ou mais compostos aqui descritos podem ser administrados em combinação ou alternadamente com um inibidor da polimerase anti-vírus da hepatite C, tal como ribavirina, viramidina, NM 283 (valopicitabina), R7128/PSI-6130, R1626, HCV-796 ou R1479.

Em certas concretizações, um ou mais compostos aqui descritos podem ser administrados em combinação com ribavarina e um interferão anti-vírus da hepatite C, tal como Intron A® (interferão alfa-2b) e Pegasys® (Peginterferão alfa-2a); Roferon A® (Interferão recombinante alfa-2a), Infergen® (interferão de consenso; interferão alfacon-1),

PEG-Intron® (interferão peguilado alfa-2b) e Pegasys® (interferão peguilado alfa-2a).

Em certas concretizações, RO-113-0830 é administrado em combinação com um interferão anti-vírus da hepatite C, tal como Intron A® (interferão alfa-2b) e Pegasys® (Peginterferão alfa-2a); Roferon A® (Interferão recombinante alfa-2a), Infergen® (interferão de consenso; interferão alfacon-1), PEG-Intron® (interferão peguilado alfa-2b) e Pegasys® (interferão peguilado alfa-2a). Em certas concretizações, RO-113-0830 é administrado em combinação com ribavarina. Em certas concretizações, RO-113-0830 é administrado em combinação com ribavarina e um interferão anti-vírus da hepatite C, tal como Intron A® (interferão alfa-2b) e Pegasys® (Peginterferão alfa-2a); Roferon A® (Interferão recombinante alfa-2a), Infergen® (interferão de consenso; interferão alfacon-1), PEG-Intron® (interferão peguilado alfa-2b) e Pegasys® (interferão peguilado alfa-2a).

Numa concretização, um ou mais compostos aqui descritos podem ser administrados em combinação ou alternadamente com um inibidor da protease anti-vírus da hepatite C tal como ITMN-191, SCH 503034, VX950 (telaprevir) ou Inibidor da Protease de HCV Medivir.

Numa concretização, um ou mais compostos aqui descritos podem ser administrados em combinação ou alternadamente com uma vacina anti-vírus da hepatite C, tal como TG4040, PeviPROTM, CGI-5005, HCV/MF59, GV1001, IC41 ou INNO0101 (E1).

Numa concretização, um ou mais compostos aqui descritos podem ser administrados em combinação ou alternadamente com um anticorpo monoclonal anti-vírus da hepatite C, tal como AB68 ou XTL-6865 (anteriormente HepX-C); ou um anticorpo policlonal anti-vírus da hepatite C, tal como cicavir.

Numa concretização, um ou mais compostos aqui descritos podem ser administrados em combinação ou alternadamente com um imunomodulador anti-vírus da hepatite C, tal como Zadaxin® (timalfasina), NOV-205 ou Oglufanida.

Numa concretização, um ou mais compostos aqui descritos podem ser administrados em combinação ou alternadamente com

Nexavar, doxorrubicina, PI-88, amantadina, JBK-122, VGX-410C, MX-3253 (Ceglosivir), Suvus (BIVN-401 ou virostato), PF-03491390 (anteriormente IDN-6556), G126270, UT-231B, DEBIO-025, EMZ702, ACH-0137171, MitoQ, ANA975, AVI-4065, Bavituxinab (Tarvacina), Alinia (nitrazoxanida) ou PYN 17.

Foi reconhecido que as variantes resistentes ao fármaco de HBV podem surgir após tratamento prolongado com um agente antiviral. A resistência ao fármaco ocorre mais tipicamente por mutação de um gene que codifica uma enzima utilizada no ciclo de vida viral, e mais tipicamente no caso de HBV, ADN-polimerase. Recentemente, foi demonstrado que a eficácia de um fármaco contra a infecção por HBV pode ser prolongada, aumentada ou restabelecida por administração do composto em combinação ou alternadamente com um segundo, e talvez terceiro, composto antiviral que induza uma mutação diferente da causada pelo fármaco principal. Alternativamente, a farmacocinética, biodistribuição ou outro parâmetro do fármaco podem ser alterados por uma tal terapêutica de combinação ou alternada. Em geral, a terapêutica de combinação é tipicamente preferida sobre a terapêutica alternada porque induz múltiplos stressses simultâneos no vírus.

A actividade anti-vírus da hepatite B dos compostos aqui descritos, pode ser intensificada por administração de dois ou mais destes compostos em combinação ou alternadamente. Alternativamente, por exemplo, um ou mais compostos aqui descritos podem ser administrados em combinação ou alternadamente com qualquer outro agente anti-vírus da hepatite B conhecido, tal como entecivir, cis-2-hidroximetil-5-(5-fluorocitosina-1-il)-1,3-oxatiolano, de preferência substancialmente na forma do isómero (-)-óptico ("FTC", ver WO 92/14743); o (-)-enantiómero de cis-2-hidroximetil-5-(citosina-1-il)-1,3-oxatiolano (3TC); nucleósidos β -D-1,3-dioxolano-purina como descritos nas Pat. U.S. Nos. 5444063 e 5684010; nucleósidos β -D-dioxolano tais como β -D-dioxolanil-guanina (DXG), β -D-dioxolanil-2,6-diaminopurina (DAPD) e β -D-dioxolanil-6-cloropurina (ACP), L-FDDC (5-fluoro-3'-tia-2',3'-didesoxicitidina), L-enantiómeros de 3'-fluoro-modificado-beta-2'-desoxirribonucleósido-5'-trifosfatos, carbovir, interferão, penciclovir e famciclovir, L-FMAU,

famciclovir, penciclovir, BMS-200475, bis pom PMEA (adefovir, dipivoxil); lobucavir, ganciclovir, ribavarina, INTM-191, VX-950 (telaprevir) ou qualquer outro composto que exiba uma CE_{50} inferior a 15 micromolar em células 2.2.15; ou seus pró-fármacos ou sais farmaceuticamente aceitáveis. Vários outros exemplos de agentes anti-HBV são proporcionados na Publicação de Pedido de Patente U.S. No. 20050080034, que é aqui incorporada por referência na sua totalidade.

Numa outra concretização, um composto aqui descrito é administrado em combinação ou alternadamente com um imunomodulador ou outro modificador da replicação viral farmaceuticamente activo, incluindo um material biológico tal como uma proteína, péptido, oligonucleótido ou gammaglobulina, incluindo mas não limitada a interferão, interleucina, ou um oligonucleótido anti-sentido para genes que expressam ou regulam a replicação da hepatite B.

Pode ser utilizado um qualquer método alternado que proporcione o tratamento ao doente. Exemplos não limitantes de modelos alternados incluem 1-6 semanas de administração de uma quantidade eficaz de um agente seguidas por 1-6 semanas de administração de uma quantidade eficaz de um segundo agente. O esquema alternado pode incluir períodos sem tratamento. A terapêutica de combinação inclui geralmente a administração simultânea de uma relação eficaz de doses de dois ou mais agentes activos.

Os compostos aqui descritos podem também ser administrados em combinação com antibióticos, outros compostos antivirais, agentes antifúngicos ou outros agentes farmacêuticos administrados para o tratamento de infecções secundárias.

Sabe-se que a descrição detalhada precedente e os exemplos que a acompanham são meramente ilustrativos.

EXEMPLOS

Preparação de RO-113-0830

A 2,7-dioxa-espiro[3.5]nonano-1-ona (10,8 g), que pode ser preparada como descrito na patente U.S. no. 5932595, é

dissolvida em N,N-dimetilformamida (95 ml) e lentamente adicionada a uma solução contendo o sal de sódio de 4-(4-clorofenoxy)tiófenol (produzido pela adição de pó de hidreto de sódio (2,14 g, 89,2 mmoles) a uma solução de 4-(4-clorofenoxy)tiófenol (15,83 g, 66,8 mmoles) em N,N-dimetilformamida (19 ml) a 0°C e agitação durante 30 minutos) durante um período de 10-15 minutos e depois agitada durante 15 minutos adicionais. A lama resultante é aquecida a 40°C, agitada durante 5 minutos, adiciona-se terc-butanol (2 ml) e a mistura é arrefecida até à temperatura ambiente durante 20 minutos. A maioria da N,N-dimetilformamida é removida *in vacuo*, o pH ajustado a 9,2, a lama resultante diluída com éter etílico-hexanos a 30% (120 ml) e filtrada. O bolo filtrado é lavado com porções adicionais de éter (3 vezes 70 ml), acidificado até pH 3,5 com ácido clorídrico aquoso 2N e extractado em cloreto de metíleno (4x350 ml). As fases orgânicas combinadas são secas sobre sulfato de magnésio e concentradas *in vacuo*. O resíduo sólido é recristalizado a partir da quantidade mínima de cloreto de metíleno-hexanos para dar o ácido 4-[4-(4-clorofenoxy)feniltiometil]tetra-hidropirano-4-carboxílico puro.

Avaliação *in vivo* de RO-113-0830

A eficácia *in vivo* de RO-113-0830 foi avaliada em ratinhos C57B1/6 macho (Simonsen Labs) em dois modelos de lesão hepática bem estabelecidos. Os ratinhos foram deixados aclimatizar durante pelo menos três dias.

No modelo de TNF- α de lesão hepática, a D-Galactosamina (D-Gln) (800 mg/kg) e o TNF α (20 ou 40 μ g/kg) foram injectados IP. O RO-113-0830 (0,001-30 mg/kg) foi administrado PO por sonda esofágica (gavage) 30 minutos antes da agressão. Seis horas mais tarde, os animais foram anestesiados com Nembutal (50 mg/kg IP) e o sangue foi colhido por punção cardíaca. A actividade plasmática da ALT foi determinada utilizando um estojo de Sigma-Aldrich. O RO-113-0830 reduziu de forma dependente da dose a actividade plasmática da ALT no modelo de TNF- α . A DE₅₀ média a partir de 4 estudos foi de 0,26 \pm 0,08 mg/kg.

Para se determinar o benefício na sobrevivência, no modelo de TNF- α , a D-Galactosamina (D-Gln) (800 mg/kg) e o

TNF- α (20 ou 40 μ g/kg) foram injectados IP e os ratinhos foram deixados sobreviver durante 24 horas após a agressão. Todos os ratinhos mórbidos sofreram eutanásia com 125 mg/kg de Nembutal IP. A sobrevivência média em 24 horas a partir de 3 estudos foi de $27 \pm 7,3\%$ e $55 \pm 7,6\%$ ($p=0,03$) nos ratinhos de controlo TNF α /D-Gln e nos ratinhos tratados com RO-113-0830, respectivamente.

Num modelo de lesão hepática conduzida por Fas, um anticorpo antivante para Fas (Jo-2) foi administrado IV. Seis horas mais tarde, os animais foram anestesiados com Nembutal (50 mg/kg IP) e o sangue foi colhido por punção cardíaca. A actividade plasmática da ALT foi determinada utilizando um estojo de Sigma-Aldrich. O RO-113-0830 (10 mg/kg; PO) reduziu significativamente a elevação induzida por Fas na actividade plasmática da ALT numa média de 50% em 2 estudos ($p<0,05$ em cada estudo).

Os resultados destes estudos demonstram que, em certas concretizações, o RO-113-0830 é protector na presença de duas citocinas pró-inflamatórias importantes envolvidas nas doenças hepáticas. A redução da lesão e inflamação hepáticas foi determinada por redução dos níveis plasmáticos de ALT relativamente aos animais de controlo. A ALT é um marcador clinicamente importante de lesão hepática sendo utilizada regularmente para avaliar a extensão da lesão e da inflamação hepáticas em curso em doentes. Adicionalmente, o RO-113-0830 demonstrou um benefício na sobrevivência após administração de TNF- α .

Inibição da replicação do HCV no teste de replicação

Uma linha de células de hepatoma humano Huh7 (a linha de células 21-5), ver, Pietschmann, T. *et al.*, *J. Virol.* 76, 2002, 4008-4021, que contém um replicão de HCV de comprimento total com três mutações adaptativas de cultura de células foi utilizada neste estudo para demonstrar a capacidade do RO-113-0830 para inibir a replicação do replicão de ARN de HCV em células. O teste foi realizado como descrito por Pietschmann, T. *et al.*, *supra*.

Os efeitos de RO-113-0830 a seis concentrações semi-log, cada uma em quadruplicado, foram examinados no teste de

avaliação antiviral de replicação de ARN de HCV. O interferão humano alfa-2b foi incluído em cada corrida como um composto de controlo positivo. As culturas subconfluentes na linha ET foram plaqueadas em placas de 96 cavidades que estavam dedicadas para a análise de números de células (citotoxicidade) ou actividade antiviral e no dia seguinte adicionaram-se os fármacos às cavidades adequadas. As células foram processadas 72 h mais tarde quando as células eram ainda sub-confluentes. Os níveis de replicação de ARN de HCV e a concentração tóxica de fármaco que reduz o número de células, como indicado pelos níveis de ARN ribossomal (ARNr) de células hospedeiras, foram avaliados por TaqMan RT-PCR. Calcularam-se os valores de CE_{50} (concentração de inibição da replicação do vírus em 50%), CI_{50} (concentração decrescente da viabilidade das células em 50%) e IS_{50} (índice selectivo: CI_{50}/CE_{50}).

O RO-113-0830 inibiu de uma forma dependente da dose a replicação do HCV alcançando 50% de inibição (CE_{50}) a uma concentração de 70 nM. A CI_{50} para a citotoxicidade neste teste foi de aproximadamente 25 μ M, alcançando assim um índice de selectividade (CI_{50}/CE_{50}) de aproximadamente 350. Estes dados demonstram que, em certas concretizações, o RO-113-0830 alcança uma inibição potente da replicação do vírus da hepatite C em doses que não têm impacto na viabilidade das células.

Estudos *in vitro* no Modelo de Ligação de Ducto Biliar

O modelo de ligação de ducto biliar é um modelo de fibrose hepática bem caracterizado. Em resumo, os ratinhos de tipo selvagem C57/BL6 de 6 a 8 semanas de idade foram submetidos a ligação de ducto biliar (BDL) durante 14 dias. Foram utilizados como controlos ratinhos de tipo selvagem operados por simulação. O RO-113-0830 ou a CMC (carboximetilcelulose) foram administrados por sonda esofágica numa dose de 10 mg/kg de peso corporal uma vez por dia. A apoptose de hepatócitos foi quantificada pelo teste de TUNEL e imunofluorescência para as caspases 3/7 activadas. A lesão hepática foi avaliada por histopatologia e quantificação dos infartos biliares. A fibrose hepática foi avaliada por coloração com vermelho da Síria e morfometria

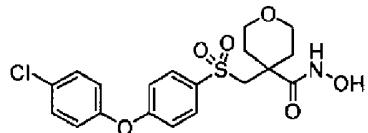
quantitativa. A reacção em cadeia de polimerase (PCR) a tempo real foi utilizada para medir os transcritos de ARNm para o colagénio 1alfa (I) e actina do músculo liso alfa.

Após 14 dias de BDL, os ratinhos de tipo selvagem tratados com RO-113-0830 demonstraram uma redução de 3 vezes em TUNEL e uma redução de 5 vezes nos hepatócitos positivos a caspase 3/7 ($p<0,01$) quando comparados com os animais tratados com o veículo. O exame histológico dos fígados dos animais de tipo selvagem de BDL tratados com RO-113-0830 demonstrou também uma redução $>70\%$ no número de infartos biliares quando comparados com os ratinhos BDL tratados com veículo. Os transcritos hepáticos para a actina do músculo liso alfa, um marcador para a activação de células estreladas e o colagénio I estavam aumentados em 6 e 8 vezes nos ratinhos BDL de 14 dias quando comparados com os controlos operados por simulação. O ARNm para estes transcritos foi reduzido em $>60\%$ nos animais tratados com RO-113-0830 vs. os animais BDL tratados com veículo. A coloração com vermelho da Síria do colagénio hepático estava também reduzida em 3 vezes em ratinhos de tipo selvagem BDL tratados com RO-113-0830. Finalmente, a sobrevivência global dos animais após 14 dias de BDL estava também significativamente aumentada no grupo que recebeu o fármaco activo ($p<0,05$). Estes dados demonstram que, em certas concretizações, a lesão hepática e a fibrose hepática são reduzidas após tratamento com o inibidor MMP RO-113-0830.

Lisboa, 2011-10-13

REIVINDICAÇÕES

1. Inibidor de metaloproteinase de matriz para utilização no tratamento da hepatite C viral crónica, em que o inibidor de metaloproteinase de matriz é:



2. Inibidor de metaloproteinase de matriz para utilização de acordo com a reivindicação 1, em que o inibidor de metaloproteinase de matriz é preparado para ser administrado a um doente que tem sido pré-tratado com outra medicação para a doença hepática, ou que está a ser tratado com outra medicação para a doença hepática.

3. Inibidor de metaloproteinase de matriz para utilização de acordo com a reivindicação 1, em que o inibidor de metaloproteinase de matriz é para utilização na redução de uma lesão hepática associada a hepatite C viral crónica.

4. Inibidor de metaloproteinase de matriz para utilização de acordo com a reivindicação 1, em que o inibidor de metaloproteinase de matriz é para utilização na inibição da replicação do vírus da hepatite C numa célula infectada pelo vírus da hepatite C.

5. Inibidor de metaloproteinase de matriz para utilização de acordo com a reivindicação 1, em que o inibidor de metaloproteinase de matriz é para utilização na inibição da replicação do vírus da hepatite C num doente infectado pelo vírus da hepatite C.

6. Inibidor de metaloproteinase de matriz para utilização de acordo com a reivindicação 1 ou 2, em que o inibidor de metaloproteinase de matriz é preparado para ser administrado adicionalmente a um segundo agente.

7. Inibidor de metaloproteinase de matriz para utilização de acordo com a reivindicação 6, em que o segundo agente é seleccionado a partir de interferão anti-vírus da hepatite C, ribavirina ou uma sua combinação.