



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 362 404**

51 Int. Cl.:

A61K 31/35 (2006.01)

A61K 31/426 (2006.01)

A61K 31/4523 (2006.01)

A61K 31/47 (2006.01)

A61P 31/18 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **99931861 .1**

96 Fecha de presentación : **23.06.1999**

97 Número de publicación de la solicitud: **1088098**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **04.04.2001**

54

Título: **Medicamento para el tratamiento de mamíferos infectados con VIH.**

30

Prioridad: **23.06.1998 US 90393 P**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
04.07.2011

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
04.07.2011

73

Titular/es: **The United States of America,
Represented by the Secretary, Department of
Health and Human Services
National Institutes of Health
Office of Technology Transfer, Suite 325
6011 Executive Boulevard
Rockville, Maryland 20852, US
The Board of Trustees of the University of Illinois**

72

Inventor/es: **Erickson, John, W.;**
Gulnik, Sergei, V.;
Mitsuya, Hiroaki y
Gosh, Arun K.

74

Agente: **Izquierdo Faces, José**

ES 2 362 404 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Medicamento para el tratamiento de mamíferos infectados con VIH.

CAMPO TECNICO DE LA INVENCION

5 La presente invención se refiere al uso de un compuesto en la preparación de un medicamento para tratar a un mamífero infectado con VIH, en combinación con un agente antiviral seleccionado del grupo consistente de ritonavir, indinavir y saquinavir.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

10 El desarrollo de la resistencia a los fármacos es uno de los retos más confusos en el campo de la medicina. Uno de las causas más comunes del fallo del fármaco en el tratamiento de enfermedades que implican entidades biológicas replicantes, por ejemplo, el cáncer y enfermedades infecciosas, es la aparición de la resistencia al fármacos. Uno de los ejemplos más trágicos y dramáticos de resistencia a los fármacos se puede encontrar en relación con la terapia antiviral del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).

15 El SIDA es una enfermedad fatal, los casos notificados de la misma han aumentado dramáticamente en los últimos años. Las estimaciones de casos notificados en el futuro cercano también continúan aumentando dramáticamente.

20 El virus del SIDA fue identificado por primera vez en 1983. Se le ha conocido por varios nombres y acrónimos. Es el tercer virus T-linfocito (HTLV-III) conocido, y tiene la capacidad de replicarse dentro de las células del sistema inmunológico, causando una profunda destrucción celular. El virus del SIDA es un retrovirus, un virus que usa la transcriptasa inversa durante la replicación. Este retrovirus particular es también conocido como virus de la linfadenopatía asociada (LAV), virus relacionado con el SIDA (ARV) y, más recientemente, como virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Se han descrito hasta la fecha dos familias distintas del VIH, concretamente VIH-1 y VIH-2. EL acrónimo VIH será usado en la presente para referirse a los virus VIH genéricamente.

25 Específicamente, el VIH es conocido por ejercer un profundo efecto citopático en las Células T cooperadoras/inductoras CD4+, comprometiendo severamente de este modo el sistema inmunológico. La infección de VIH resulta también en un deterioro neurológico y, en última instancia, en la muerte del individuo infectado.

30 El campo de los quimioterapéuticos virales se ha desarrollado en respuesta a la necesidad de agentes efectivos contra los retrovirus, en particular el VIH. Por ejemplo se conocen agentes anti-retrovirales, como el 3'-azido-2',3'-dideoximidina (AZT), 2'3'-dideoxicitidina (ddC), y 2'3'-dideoxiinosina (ddI) que inhiben la transcriptasa inversa. También existen agentes antivirales que inhiben la proteína transactivador. Los análogos de nucleosidos, como el AZT, están disponibles actualmente para la terapia antiviral. A pesar de ser muy útiles, la utilidad del AZT y compuestos relacionados está limitada por la toxicidad y los insuficientes índices terapéuticos para una terapia totalmente adecuada.

35 Los inhibidores de la proteasa retroviral también han sido identificados como una clase de agentes anti-retrovirales. La proteasa retroviral procesa los precursores de poliproteína en proteínas de estructura viral y enzimas replicativos. Este procesamiento es esencial para la formación y maduración de viriones completamente infecciosos. Por lo tanto, el diseño de inhibidores de la proteasa se mantiene como un objetivo terapéutico importante en el tratamiento del SIDA.

40 El uso de inhibidores de la proteasas del VIH, en combinación con agentes que tienen diferentes mecanismos antirretrovirales (por ejemplo, AZT, ddI y ddT), también ha sido descrito. Por ejemplo, se ha observado sinergia contra el VIH-1 entre ciertos inhibidores del VIH simétricos C₂ y el AZT (Kageyama y otros, Antimicrob. Agents Chemother., 35, 926-933 (1992)).

45 Se han diseñado numerosas clases de potentes inhibidores peptídicos de la proteasa utilizando el lugar de escisión natural de las poliproteínas precursoras como punto de partida. Estos inhibidores son típicamente análogos de sustrato péptido en los que el lazo amido P₁-P₁' escindible ha sido reemplazado por un isómero no-hidrolizable con geometría tetraédrica (Moore y otros, Perspect. Drug Dis. Design, 1, 85 (1993); Tomasselli y otros, Int. J. Chem. Biotechnology, 6 (1991); Huff, J. Med. Chem., 34, 2305 (1991); Norbeck y otros, Ann. Reports Med. Chem., 26, 141 (1991); y Meek, J. Enzyme Inhibition, 6, 65 (1992)). A pesar de que estos inhibidores son efectivos impidiendo que funcione la proteasa retroviral, los inhibidores sufren de algunas desventajas diferentes. Generalmente, los peptidomiméticos a menudo hacen fármacos pobres, debido a sus potenciales propiedades farmacológicas adversas, es decir, pobre absorción oral, estabilidad pobre, y metabolismo rápido (Plattner y otros, Drug Discovery Technologies, Clark y otros., eds., Ellish Horwood, Chichester, Inglaterra (1990)).

50 El diseño de inhibidores de la proteasa del VIH-1 basados en el concepto de mimética del estado de transición ha llevado a la generación de una variedad de análogos péptidos altamente activos contra la replicación viral *in vitro* (Erickson y otros, Science, 249, 527-533 (1990); Kramer y otros, Science, 231, 1580-1584 (1986); McQuade y otros, Science, 247, 454-456 (1990); Meek y otros, Nature (Londres), 343, 90-92 (1990); y Roberts y otros, Science, 248, 358-361 (1990)). Estos agentes activos contienen un isómero dipeptídico, no hidrolizable, como el hidroxietileno (McQuade y otros, supra; Meek y otros, Nature (Londres), 343, 90-92 (1990); y Vacca y otros, J.

Med. Chem., 34, 1225-1228 (1991)) o hidroxietilamina (Ghosh y otros, Bioorg. Med. Chem. Lett., 8, 687-690 (1998); Ghoah y otros, J. Med. Chem., 36, 292-295 (1993); Rich y otros., J. Med.Chem., 33, 1285-1288 (1990); y Roberts y otros., Science, 248, 358-361 (1990)) como una fracción activa que imita el estado de transición putativo de la reacción catalizada por proteasa aspártica.

5 Los inhibidores simétricos dobles (C_2) de la proteasa del VIH representan otra clase de potentes inhibidores de la proteasa del VIH, los cuales fueron creados por Erickson y otros, en base a la simetría tridimensional del sitio activo del enzima (Erickson y otros (1990), *supra*). Típicamente, sin embargo, la utilidad de los inhibidores de la proteasa del VIH actualmente disponibles en el tratamiento del SIDA ha sido limitada por la relativamente corta vida media del plasma, pobre biodisponibilidad oral, y la dificultad técnica de la síntesis a aumento progresivo (Meek y otros (1992), *supra*).

10 En un esfuerzo continuado para abordar el problema de la corta vida media del plasma y la pobre biodisponibilidad, se han identificado nuevos inhibidores de la proteasa del VIH. Por ejemplo, inhibidores de la proteasas del VIH incorporando el isómero 2,5-diamino-3,4-disustituido-1,6-difenilhexano son descritos en Ghost y otros, Bioorg. Med. Chem. Lett., 8, 687-690 (1998) y en las Patente U.S. N° 5.728.718 (Randad y otros). Los inhibidores de la proteasa del VIH, que incorporan el isómero hidroxietilamina, son descritos en las Patentes U.S. N° 5.502.060 (Thompson y otros), 5.703.076 (Talley y otros), y 5.475.027 (Talley y otros).

15 Estudios recientes, sin embargo, han revelado, la aparición de cepas mutantes del VIH, en las que la proteasa es resistente a los inhibidores simétricos C_2 (Otto y otros, PNAS USA, 90, 7543 (1993); HO y otros, J. Virology, 68, 2016-2020 (1994); y Kaplan y otros, PNAS USA, 91, 5597-5601 (1994)). En un estudio, la mutación más abundantemente encontrada en respuesta al inhibidor basado en la simetría C_2 fue Arg a Gln en la posición 8 (R8Q), que afecta fuertemente al S_3/S_3 , subsitio del dominio de la unión de la proteasa. En este estudio, la reducción de los residuos P_3/P_3 resultó en inhibidores que fueron equipotentes hacia las proteasas de tipo salvaje y mutantes R8Q (Majer y otros, 13th American Peptide Symposium, Edmonton, Canadá (1993)). Los inhibidores han sido truncados a P_2/P_2 , sin una pérdida significativa de la actividad (Lyle y otros, J. Med. Chem., 34, 1230 (1991); y Bone y otros, J.Am. Chem. Soc., 113, 9382 (1991)). Estos resultados sugieren que los inhibidores pueden ser truncados y mantener todavía la interacción crucial necesaria para un enlace fuerte. Los beneficios del mencionado enfoque incluyen la eliminación de dos o más enlaces péptidos, la reducción del peso molecular, y la disminución del potencial para el reconocimiento por enzimas de degradación.

20 Más recientemente, han aparecido nuevas cepas mutantes del VIH que son resistentes a múltiples, estructuralmente diversos, inhibidores de la proteasa retroviral quimioterapéuticos y experimentales. Las mencionadas cepas de VIH resistentes a múltiples fármacos son típicamente encontradas en pacientes infectados, que se han sometido a tratamiento con una combinación de inhibidores de la proteasa del VIH o una serie de diferentes inhibidores de la proteasa del VIH. El número de casos comunicados de pacientes infectados con VIH resistente a múltiples fármacos está aumentando dramáticamente. Trágicamente para estos pacientes, las opciones disponibles para quimioterapia de SIDA y/o manejo del VIH están limitadas severamente o es, de otro modo, completamente inexistente.

25 La resistencia a los fármacos es, desafortunadamente, la razón más común de fallos de fármacos en general. Uno de los ejemplos más dramáticos de fallo de fármacos debido a la resistencia es en la terapia del VIH. Una vez que se ha obtenido resistencia del VIH a la terapia de primera línea, las posibilidades de éxito futuras disminuyen en gran medida por el desarrollo de la resistencia cruzada a múltiples fármacos. Otras enfermedades que implican agentes infecciosos (por ejemplo, virus, bacterias, protozoos, y priones) u otras células causantes de enfermedades (por ejemplo células tumorales) presentan retos similares en que la resistencia a los fármacos es una causa principal del fallo del fármaco.

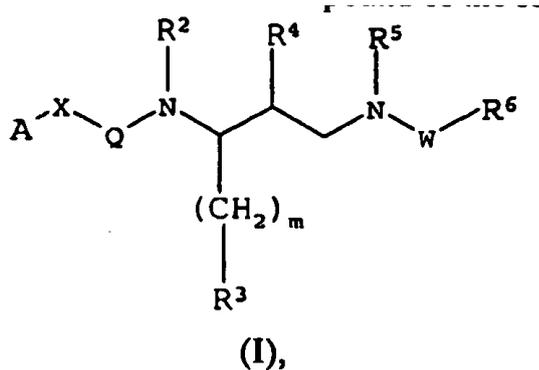
30 En vista de los problemas anteriores, existe una necesidad para determinar si un mutante será capaz de replicarse en presencia de un fármaco. También existe una necesidad para un método para predecir si es probable que la resistencia a un fármaco aparezca en una enfermedad que implique una entidad biológica que se replica. Existe también la necesidad de un método para elaborar un régimen terapéutico a largo plazo que minimice la probabilidad de que ocurra la resistencia en una enfermedad que implique una entidad biológica. Además, hay una necesidad de un método de evitar o inhibir el desarrollo de la resistencia a los fármacos en tales enfermedades.

35 La presente invención proporciona los mencionados métodos. Estas y otras ventajas de la presente invención, así como características inventivas adicionales, serán aparentes de la descripción de la invención proporcionada en la presente.

BREVE RESUMEN DE LA INVENCION

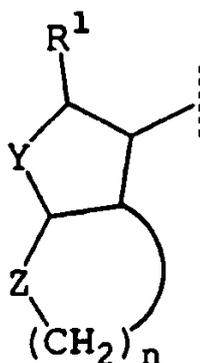
40 La presente invención está relacionada con el uso de un compuesto de fórmula:

55



15 o una sal farmacéuticamente aceptable, un profármaco, o un éster de la misma, o una composición farmacéuticamente aceptable del mencionado compuesto, de la mencionada sal, del mencionado profármaco, o del mencionado éster de la misma, en donde:

A es un grupo de fórmula:



35 R^1 es H o un alquilo, un alqueno, un alquino, un cicloalquilo, un cicloalquilalquilo, un arilo, un aralquilo, un heterocicloalquilo, un heterocicloalquilalquilo, un heteroarilo, o un heteroaralquilo, en el que al menos un átomo de hidrógeno está opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado del grupo consistente de OR^7 , SR^7 , CN, NO_2 , N_3 , y un halógeno, en donde R^7 es H, un alquilo no sustituido, un alqueno no sustituido, o un alquino no sustituido;

40 Y y Z son iguales o diferentes y cada uno es seleccionado del grupo consistente de CH_2 , O, S, SO, SO_2 , NR^8 , $R^8C(O)N$, $R^8C(S)N$, $R^8OC(O)N$, $R^8OC(S)N$, $R^8SC(O)N$, $R^8R^9NC(O)N$, y $R^8R^9NC(S)N$, en donde R^8 y R^9 son iguales o diferentes y cada uno es seleccionado del grupo consistente de H, un alquilo no sustituido, un alqueno no sustituido, y un alquino no sustituido;

n es un entero de 1 a 5;

45 X es un enlace covalente, CHR^{10} , $CHR^{10}CH_2$, CH_2CHR^{10} , O, NR^{10} , o S, en donde R^{10} es H, un alquilo no sustituido, un alqueno no sustituido, o un alquino no sustituido;

Q es C(O), C(S), o SO_2 ;

R^2 es H, un C_1 - C_6 alquilo, un C_2 - C_6 alqueno, o un C_2 - C_6 alquino;

M es un entero de 0 a 6;

50 R^3 es un cicloalquilo, un heterocicloalquilo, un arilo, o un heteroarilo en el que al menos un átomo de hidrógeno está opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado del grupo consistente de alquilo, $(CH_2)_pR^{11}$, OR^{12} , SR^{12} , CN, N_3 , NO_2 , $NR^{12}R^{13}$, $C(O)R^{12}$, $C(S)R^{12}$, CO_2R^{12} , $C(O)SR^{12}$, $C(O)NR^{12}R^{13}$, $C(S)NR^{12}R^{13}$, $NR^{12}C(O)R^{13}$, $NR^{12}C(S)R^{13}$, $NR^{12}CO_2R^{13}$, $NR^{12}C(O)SR^{13}$, o un halógeno en donde:

p es un entero de 0 a 5;

R^{11} es un cicloalquilo, un heterocicloalquilo, un arilo, o un heteroarilo en el que al menos un átomo de hidrógeno está opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado del grupo consistente de un halógeno, OH, OCH_3 , NH_2 , NO_2SH , y CN; y

55 R^{12} y R^{13} son iguales o diferentes y cada uno es seleccionado del grupo consistente de H, un alquilo no sustituido, un alqueno no sustituido, y un alquino no sustituido;

R^4 es OH, =O (ceto) o NH_2 , en donde, cuando R^4 es OH, está opcionalmente en la forma de un éster o profármaco farmacéuticamente aceptable, y cuando R^4 es NH_2 , es opcionalmente una amida, un hidroxilamino, un carbamato, una urea, un alquilamino, un dialquiloamino, una sal prótica del mismo, o una sal tetraalquiloamonio del mismo;

5 R^5 es H, un radical C_1 - C_6 alquilo, un radical C_2 - C_6 alquenoilo, o $(CH_2)_qR^{14}$ en donde q es un entero de 0 a 5, y R^{14} es un cicloalquilo, un heterocicloalquilo, un arilo, o un radical heteroarilo en el que al menos un átomo de hidrógeno está opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado del grupo consistente de un halógeno, OH, OCH_3 , NH_2 , NO_2 , SH, and CN;

W es C(O), C(S), o SO_2 ; y

10 R^6 es un cicloalquilo, un heterocicloalquilo, arilo, o radical heteroarilo en el que al menos un átomo de hidrógeno está opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado del grupo consistente de un halógeno, OR^{15} , SR^{15} , $S(O)R^{15}$, SO_2R^{15} , $SO_2NR^{15}R^{16}$, $SO_2N(OH)R^{15}$, CN, $CR^{15}=NR^{16}$, $CR^{15}=N(OR^{16})$, N_3 , NO_2 , $NR^{15}R^{16}$, $N(OH)R^{15}$, $C(O)R^{15}$, $C(S)R^{15}$, CO_2R^{15} , $C(O)SR^{15}$, $C(O)NR^{15}R^{16}$, $C(S)NR^{15}R^{16}$, $C(O)N(OH)R^{15}$, $C(S)N(OH)R^{15}$, $NR^{15}C(O)R^{16}$, $NR^{15}C(S)R^{16}$, $N(OH)C(O)R^{15}$, $N(OH)C(S)R^{15}$, $NR^{15}CO_2R^{16}$, $N(OH)CO_2R^{15}$, $NR^{15}C(O)SR^{16}$, $NR^{15}C(O)NR^{16}R^{17}$, $NR^{15}C(S)NR^{16}R^{17}$, $N(OH)C(O)NR^{15}R^{16}$, $N(OH)C(S)NR^{15}R^{16}$, $NR^{15}C(O)N(OH)R^{16}$, $NR^{15}C(S)N(OH)R^{16}$, $NR^{15}SO_2R^{16}$, $NHSO_2NR^{15}R^{16}$, $NR^{15}SO_2NHR^{16}$, $P(O)(OR^{15})(OR^{16})$, un alquilo, un alcoxi, un alquiltio, un alquilamino, un cicloalquilo, un cicloalquilalquilo, un heterocicloalquilo, un heterocicloalquilalquilo, un arilo, un ariloxi, un arilamino, un ariltio, un arilalquilo, un ariloxialquilo, un ariloaminoalquilo, un arilalcoxi, un (ariloxi)alcoxi, un (arilamino)alcoxi, un (ariltio)alcoxi, un aralquilamino, un (ariloxi)alquilamino, un (arilamino)alquilamino, un (ariltio)alquilamino, un aralquiltio, un (ariloxi)alquiltio, un (arilamino)alquiltio, un (ariltio)alquiltio, un heteroarilo, un heteroariloxi, un heteroarilamino, un heteroariltio, un heteroaralquilo, un heteroaralcoxi, un heteroaralquilamino, y un heteroaralquiltio.

en donde R^{15} , R^{16} , y R^{17} son H, un alquilo no sustituido, o un alquenoilo no sustituido,

25 en donde, cuando al menos un átomo de hidrógeno de R^6 es sustituido con un sustituyente que no sea un halógeno, OR^{15} , SR^{15} , CN, N_3 , NO_2 , $NR^{15}R^{16}$, $C(O)R^{15}C(S)R^{15}$, CO_2R^{15} , $C(O)SR^{15}$, $C(O)NR^{15}R^{16}$, $C(S)NR^{15}R^{16}$, $NR^{15}C(O)R^{16}$, $NR^{15}C(S)R^{16}$, $NR^{15}CO_2R^{16}$, $NR^{15}C(O)SR^{16}$, $NR^{15}C(O)NR^{16}R^{17}$, o $NR^{15}C(S)NR^{16}R^{17}$, al menos un átomo de hidrógeno en el mencionado sustituyente es opcionalmente sustituido con un halógeno, OR^{15} , SR^{15} , CN, N_3 , NO_2 , $NR^{15}R^{16}$, $C(O)R^{15}$, $C(S)R^{15}$, CO_2R^{15} , $C(O)SR^{15}$, $C(O)NR^{15}R^{16}$, $C(S)NR^{15}R^{16}$, $NR^{15}C(O)R^{15}$, $NR^{15}C(S)R^{16}$, $NR^{15}CO_2R^{16}$, $NR^{15}C(O)SR^{16}$, $NR^{15}C(O)NR^{16}R^{17}$, o $NR^{15}C(S)NR^{16}R^{17}$; en la preparación de un medicamento para el tratamiento de un mamífero infectado por el VIH, en combinación con un agente antiviral seleccionado del grupo consistente de ritonavir, indinavir, y saquinavir.

BREVE DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 ilustra la síntesis de un núcleo isómero de sulfonamida particular de un compuesto.

35 La Figura 2 ilustra la síntesis de un ligando bis-tetrahidrofurano y la resolución óptica del mismo.

La Figura 3A ilustra la síntesis de un compuesto vía acoplamiento de un ligando bis-tetrahidrofurano a un isómero de sulfonamida.

La Figura 3B ilustra la síntesis de un compuesto vía acoplamiento de un ligando bis-tetrahidrofurano a un isómero de sulfonamida.

40 La Figura 4 ilustra en general el presente método de sintetizar un compuesto.

Las Figuras 5A-5D ilustran las estructuras de compuestos particulares que fueron probados contra varias mutaciones DE VIH resistente a los fármacos.

DESCRIPCION DE LA REALIZACION PREFERIDA

45 La "vitalidad" de un objetivo bioquímico de una entidad biológica mutante replicante en relación con el objetivo bioquímico de su predecesor puede ser usada para predecir la condición biológica de un mutante bajo la presión de selección de un inhibidor del objetivo bioquímico. La "vitalidad" de un objetivo bioquímico de una entidad biológica mutante replicante en relación con la "vitalidad" del objetivo bioquímico de su predecesor es definida en la presente como "condición bioquímica".

50 La "vitalidad" como se utiliza en la presente describe la capacidad de un "objetivo" biomolecular particular (es decir, una especie bioquímica que se pretende sea inhibida por un inhibidor particular) para realizar su función bioquímica en la presencia del inhibidor. La vitalidad bioquímica es una función de al menos dos variables: la capacidad de un inhibidor particular para inhibir un objetivo bioquímico de la entidad biológica replicante en cuestión, y la capacidad de las células del objetivo bioquímico para realizar inherentemente su función bioquímica (con independencia de un inhibidor). La vitalidad bioquímica también puede incluir otros factores que efectúan la capacidad de un objetivo bioquímico de realizar su función bioquímica en la presencia de un inhibidor.

55 El objetivo bioquímico en cuestión puede incluir, por ejemplo, una especie bioquímica con una o más funciones biológicas conocidas o desconocidas. El objetivo bioquímico puede ser, por ejemplo, una especie

bioquímica que tiene una o más funciones bioquímicas específicas, o puede ser una especie bioquímica que efectúa o influencia una función bioquímica directamente o indirectamente. Los objetivos bioquímicos adecuados incluyen, por ejemplo, enzimas, proteínas, oligómeros, receptores, y similares. Enzimas adecuados incluyen, por ejemplo, transcriptasas inversa, proteasas (por ejemplo, proteasas retrovirales, plasmepsinas, y similares), metilasas, oxidasas, esterases, acil transferasas, y similares. Enzimas adecuados también incluyen, por ejemplo, helicasas virales y no virales, topoisomerasas, girasas de ADN, polimerasas de ADN y ARN, proteasas de parásitos codificadas, y similares.

Proteínas adecuadas incluyen, por ejemplo, proteínas que incorporan un cambio conformacional como un requisito funcional principal, y similares. Ejemplos de las mencionadas proteínas incluyen VIH gp41 y otras proteínas y péptidos virales fusogénicas, topoisomerasas, y todos los enzimas de ADN, y similares.

Oligómeros adecuados incluyen, por ejemplo, oligómeros que requieren oligomerización para realizar su función biológica. Ejemplos de los mencionados oligómeros incluyen la proteasa de VIH, proteínas de fusión retroviral, péptidos, VIH gp41, proteínas de fusión de membrana virales y no virales, proteínas supresoras de tumores (por ejemplo, p53, y similares), priones, ribosomas, y similares.

La capacidad de un inhibidor particular para inhibir un objetivo bioquímico de una entidad biológica replicante particular puede ser determinada por cualquier método adecuado y/o puede ser obtenida de cualquier fuente adecuada. La capacidad de un inhibidor particular para inhibir una función bioquímica de una entidad biológica replicante puede ser determinada, por ejemplo, en base a una propiedad medible, o a una relación de propiedades medible, que se correlacionan con la capacidad del inhibidor para inhibir el objetivo. Métodos adecuados para determinar la capacidad del inhibidor para inhibir el objetivo incluyen, por ejemplo, análisis, y similares. En algunas situaciones, la capacidad del inhibidor para inhibir el objetivo puede ser obtenida de una o más fuentes adecuadas, por ejemplo, datos de análisis de una base de datos, un libro de texto, o la bibliografía.

Cuando el objetivo bioquímico es una proteína, se puede medir la capacidad de un inhibidor para inhibir la proteína, por ejemplo, obteniendo la constante de disociación de equilibrio (K_d) del fármaco enlazando con el objetivo donde el enlace del fármaco interfiere con la función de la proteína.

Cuando el objetivo bioquímico es un enzima, la capacidad de un inhibidor para inhibir el enzima puede ser determinada, por ejemplo, obteniendo la constante de inhibición (K_{inh}), o similar. La constante de inhibición puede ser en términos de constante de inhibición del fármaco para el efecto del fármaco en catálisis de sustrato (por ejemplo, K_i) o constante de disociación para el enlace del fármaco por ejemplo, K_d) donde el enlace del fármaco se correlaciona con la inhibición de la función del enzima.

Cuando el objetivo bioquímico es un oligómero, la capacidad de un inhibidor de inhibir el oligómero puede ser determinada, por ejemplo, obteniendo la constante de disociación de equilibrio (K_d) para el enlace del fármaco donde el enlace del fármaco interfiere con la oligomerización del objetivo.

Donde el objetivo bioquímico es una proteína que requiere un cambio conformacional para su función, se puede determinar el uso de la capacidad de un inhibidor para inhibir el cambio conformacional, por ejemplo, obteniendo la constante de disociación de equilibrio (K_d) para el enlace del fármaco donde el enlace del fármaco interfiere con el cambio conformacional del objetivo.

Cuando el objetivo bioquímico es una proteína que es requerida para enlazar con un ligando, macromolécula, o complejo macromolecular para realizar su función bioquímica, la capacidad de un inhibidor para inhibir la función de la proteína puede ser determinada obteniendo la constante de disociación de equilibrio (K_d) para el enlace del fármaco donde el enlace del fármaco interfiere con el enlace del ligando, enlace macromolecular, o enlace del complejo macromolecular.

Cuando el objetivo bioquímico es un ácido nucleico enlazando la proteína, la capacidad de un inhibidor para inhibir la función del ácido nucleico enlazando la proteína puede ser determinada obteniendo la constante de disociación de equilibrio (K_d) para el enlace del fármaco donde el enlace del fármaco interfiere con el enlace de ácido nucleico.

La vitalidad también es una función de la capacidad del objetivo bioquímico realizar inherentemente su función bioquímica (con independencia de un inhibidor). La capacidad del objetivo bioquímico para realizar inherentemente su función bioquímica puede ser determinada por cualquier método adecuado y/o puede ser obtenida de cualquier fuente adecuada. La capacidad del objetivo bioquímico para realizar inherentemente su función bioquímica puede ser determinada, por ejemplo, sobre la base de una propiedad medible, o relación medible de propiedades, que se correlaciona con la capacidad de la capacidad del objetivo bioquímico para realizar inherentemente su función bioquímica. Métodos adecuados para determinar la capacidad del objetivo bioquímico para realizar inherentemente su función bioquímica incluyen, por ejemplo, análisis bioquímicos, y similares. En algunos casos, la capacidad del objetivo bioquímico de la célula para realizar inherentemente su función bioquímica puede ser obtenida de una o más fuentes adecuadas, por ejemplo, datos de análisis de una base de datos, un libro de texto, o la bibliografía.

5 Cuando el objetivo bioquímico es un enzima, la capacidad del enzima para realizar inherentemente su función bioquímica puede ser determinada, por ejemplo, determinando la eficiencia catalítica del enzima. Por ejemplo, la eficiencia catalítica para enzimas que muestran cinéticas Michaelis-Menten puede ser determinada obteniendo la proporción k_{cat}/K_M , o por un método similar, en donde k_{cat} es la proporción catalítica y K_M es la constante Michaelis.

Cuando el objetivo bioquímico es una proteína, la capacidad de la proteína para realizar inherentemente su función bioquímica puede ser determinada, por ejemplo, obteniendo la constante de equilibrio (K_{eq}) para la función bioquímica de la proteína, o similar.

10 Cuando el objetivo bioquímico es un oligómero, la capacidad de un inhibidor para realizar su función biológica puede ser determinada, por ejemplo, obteniendo la constante de equilibrio (K_{eq}) que está asociada con la oligomerización.

Donde el objetivo bioquímico es una proteína que requiere un cambio conformacional para su función, la capacidad del objetivo para realizar su función puede ser determinada, por ejemplo, obteniendo la constante de equilibrio (K_{eq}) que está asociada con el cambio conformacional.

15 Cuando el objetivo bioquímico es una proteína que se requiere para enlazar a un ligando para realizar su función, la capacidad del objetivo para realizar su función puede ser determinada, por ejemplo, obteniendo la constante de disociación de equilibrio (K_d) para el enlace ligando.

Cuando el objetivo bioquímico es un ácido nucleico enlazando la proteína, la capacidad de un inhibidor de realizar su función puede ser determinada obteniendo la constante de disociación de equilibrio (K_d) para el ácido nucleico enlazando.

20 Se apreciará que la vitalidad también puede ser una función de otros factores que efectúan la capacidad de un objetivo bioquímico para realizar su función bioquímica en la presencia del inhibidor. Si el objetivo bioquímico es una especie dimérica, por ejemplo, otros factores que influyen la vitalidad bioquímica pueden incluir la capacidad de especies para dimerizar en la presencia y/o en la ausencia del inhibidor. Si, a modo de ejemplo, una mutación causa que la tasa de dimerización se convierta en un factor en la función bioquímica del objetivo bioquímico del mutante en relación a su predecesor, entonces la tasa de dimerización puede ser incluida en la determinación de la vitalidad.

25 Las vitalidades bioquímicas de una entidad biológica replicante mutante y su predecesor, cuando se comparan, describen la condición bioquímica del objetivo de la célula mutante. Se ha encontrado que la condición bioquímica se relaciona con la condición biológica del mutante en la presencia de un inhibidor. Cuando el valor para la vitalidad bioquímica del objetivo del mutante excede el valor para vitalidad bioquímica del objetivo de un predecesor del mutante, el objetivo del mutante tiene mayor condición bioquímica en la presencia del inhibidor. En esos casos, la entidad biológica replicante mutante está favorecida sobre el predecesor y la resistencia al inhibidor que es usado para tratar al predecesor es probable que se desarrolle.

30 La vitalidad bioquímica puede ser determinada de muchas maneras diferentes que adecuadamente relacionan los diversos factores relacionados con la vitalidad bioquímica del objetivo. Por ejemplo, una función matemática puede ser usada para relacionar los diversos factores. A modo de ilustración, cuando el objetivo bioquímico es un enzima, la vitalidad puede ser determinada como una función de K_{inh} (por ejemplo, K_i o K_d) y la eficiencia enzimática o catalítica (por ejemplo, K_{cat}/K_M). La vitalidad puede ser determinada como el producto de K_{inh} y la eficiencia enzimática, por ejemplo, $(K_{inh}) \times$ (eficiencia catalítica), o $(K_i) \times$ eficiencia catalítica o (K_d) (eficiencia catalítica). Alternativamente, la vitalidad puede ser determinada, por ejemplo, como el logaritmo del producto de K_{inh} y la eficiencia enzimática, por ejemplo, $\log [(K_{inh}) \times$ (eficiencia catalítica)], o $\log [(K_i) \times$ (eficiencia catalítica)] o $\log [(K_d) \times$ (eficiencia catalítica)]. De manera similar, para los enzimas que muestran cinéticas de Michaelis-Menten, la vitalidad puede ser determinada como una función de K_{inh} y k_{cat}/K_M , por ejemplo, $(K_{inh}) \times (k_{cat}/K_M)$, en donde K_{inh} es K_i o K_d . En una realización preferida, el objetivo bioquímico es un enzima y la vitalidad es $(K_i) \times (k_{cat}/K_M)$, o $\log [(K_i) \times (k_{cat}/K_M)]$.

35 "Condición", a menos que se indique lo contrario, significa condición bioquímica. "Condición bioquímica" como se utiliza en la presente es un valor que representa la vitalidad de un objetivo bioquímico de una entidad biológica replicante mutante en relación a la vitalidad del objetivo bioquímico de su predecesor. La condición bioquímica es determinada comparando la vitalidad de un objetivo bioquímico de una entidad biológica replicante mutante en relación a la de su predecesor. Cualquier comparación adecuada de la vitalidad de un objetivo bioquímico de una entidad biológica replicante mutante en relación a la de su predecesor puede ser usada en la determinación de la condición. Por ejemplo, la condición bioquímica puede ser determinada como la diferencia entre la vitalidad bioquímica de un objetivo bioquímico de un predecesor (vitalidad bioquímica_{pred}) y la vitalidad bioquímica del objetivo bioquímico de una entidad biológica replicante mutante particular que puede evolucionar del predecesor (vitalidad bioquímica_{mut}), por ejemplo, (vitalidad bioquímica_{mut}) - (vitalidad bioquímica_{pred}). Si la condición bioquímica es determinada en base a esta diferencia, entonces un valor positivo indica que el mutante tiene una condición más alta en relación a su predecesor en la presencia del inhibidor, mientras que un valor negativo indica que el mutante

tiene menos condición en relación a su predecesor. Un valor de cero indica que la condición del mutante y el predecesor son iguales. Un valor positivo más alto indica una mayor posibilidad de que surja la resistencia al inhibidor, mientras que un valor negativo más alto indica una posibilidad más baja de que surja la resistencia al inhibidor.

5 Alternativamente, y preferiblemente, la condición puede ser determinada como un cociente de dos vitalidades bioquímicas, por ejemplo, como el cociente de un objetivo bioquímico de una entidad biológica replicante mutante particular y la vitalidad bioquímica del objetivo bioquímico de un predecesor, por ejemplo,

10

$$\text{Condición} = \frac{\text{vitalidad}_{\text{mut}}}{\text{vitalidad}_{\text{pred}}}$$

15

Si la condición es determinada es determinada en base a este cociente, entonces un valor mayor que uno indica que el mutante tiene una condición más alta en relación a su predecesor, en la presencia del inhibidor. Un valor de uno indica que la condición del mutante y del predecesor es igual. Un valor menor que uno indica que el mutante tiene menor condición en relación a su predecesor. Un valor más alto indica una mayor posibilidad que surja esa resistencia al inhibidor/fármaco, mientras que un valor más bajo indica una posibilidad menor que la resistencia al inhibidor/fármaco surja. Un valor menor que uno indica que el mutante no surgirá en presencia del inhibidor/fármaco.

20

Alternativamente, la condición puede ser determinada como el logaritmo del cociente de dos vitalidades bioquímicas, por ejemplo, como el logaritmo del cociente de un objetivo bioquímico de una entidad biológica replicante mutante particular y la vitalidad bioquímica del objetivo bioquímico de un predecesor, por ejemplo,

25

$$\text{Condición} = \log \left[\frac{\text{vitalidad}_{\text{mut}}}{\text{vitalidad}_{\text{pred}}} \right]$$

30

Si la condición es determinada en base a este logaritmo, entonces un valor mayor que cero indica que el mutante tiene una condición más alta en relación a su predecesor, en presencia del inhibidor. Un valor negativo indica que el mutante tiene menor condición en relación a su predecesor. Un valor de cero indica que la condición del mutante y el predecesor es igual. Un valor positivo más alto indica una mayor posibilidad que surja la resistencia al inhibidor/fármaco, mientras que un valor positivo más bajo indica una menor posibilidad de que la resistencia al inhibidor/fármaco surja. Un valor negativo indica que el mutante no surgirá en presencia del inhibidor/fármaco.

35

La condición puede ser determinada en presencia de cualquier compuesto adecuado que inhiba a un objetivo bioquímico de realizar su función biológica. El inhibidor, por ejemplo, puede ser un compuesto que inhiba un enzima. Inhibidores de enzima adecuados incluyen, por ejemplo, inhibidores de proteasa, inhibidores de transcriptasa inversa, inhibidores de polimerasa de ADN, inhibidores de metilasa, inhibidores de oxidas, inhibidores de esterasa, inhibidores de acil transferasa, y similares.

40

Inhibidores de proteasa adecuados incluyen, por ejemplo, inhibidores de proteasa viral, inhibidores de plasmepsina, e inhibidores de catepsina D. En una realización preferida, el inhibidor es un inhibidor de la proteasa viral, más preferiblemente un inhibidor de la proteasa viral, aún más preferiblemente un inhibidor de la proteasa del VIH-1 o del VIH-2, y más preferiblemente un inhibidor de la proteasa del VIH-1. Ejemplos de inhibidores de la proteasa del VIH-1 incluyen, por ejemplo, saquinavir, ritonavir, indinavir, nelfinavir, amprenavir, e inhibidores de la proteasa del VIH-1 que están sometidos a ensayos clínicos, por ejemplo, tipranavir (PNU-140690).

45

Inhibidores de la plasmepsina adecuados incluyen, por ejemplo, inhibidores de plasmepsina I ó II, incluyendo inhibidores de la plasmepsina I ó II que tienen actividad antipalúdica. Inhibidores de catepsina D adecuados incluyen, por ejemplo, inhibidores de la catepsina D que inhiben la catepsina D en los tejidos de cáncer de mama primarios, incluyendo inhibidores de catepsina D que inhiben la catepsina D en tejidos de cáncer de mama primarios y se espera que disminuyan el riesgo de metástasis y/o una menor supervivencia sin recaída en pacientes con cáncer de mama. Ver, por ejemplo, Gulnik y otros, J. Mol. Biol., 227, 265-270 (1992).

50

55

Inhibidores de la transcriptasa inversa adecuados incluyen, por ejemplo, inhibidores de la transcriptasa inversa retroviral, por ejemplo, AZT, 3TC, ddl, ccD, D4T, y similares.

Inhibidores de proteína adecuados incluyen, por ejemplo, compuestos que inhiben un cambio conformacional en una proteína, y similares. Inhibidores de oligomerización adecuados incluyen, por ejemplo, inhibidor péptido T-20, o fusión de VIH-1 y otros compuestos que inhiben oligómeros de oligomerizarse en la superficie de una célula o dentro de una membrana celular.

5 La condición en la presencia de un inhibidor puede ser determinada para una entidad biológica que produce o incluye un objetivo biológico del inhibidor. La entidad biológica es preferiblemente una entidad biológica replicante, por ejemplo, un virus, un parásito, o una célula, preferiblemente una célula causante de enfermedades. Las entidades biológicas replicantes causantes de enfermedades incluyen, por ejemplo, células tumorales, células cancerosas, y organismos infecciosos (por ejemplo, hongos, protozoos, bacterias, y similares) y priones.

10 Las células cancerosas, incluyen, por ejemplo, células asociadas con el cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de pulmón, y similares. La condición puede ser determinada para una célula tumoral de rápido crecimiento.

Los hongos incluyen, por ejemplo, *Candida albicans*, y similares. Los protozoos incluyen, por ejemplo, especies de tripanosomas, especies schistosomiales, protozoos palúdicos, por ejemplo especies de *Plasmodium*. Las especies de *Plasmodium* incluyen, por ejemplo, *Plasmodium Falciparum*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, y similares. Las bacterias incluyen, por ejemplo, *Helicobacter pylori*; *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus anthrax*, *Mycobacterium tuberculosis*, gripe *Hemophilus*, y similares. Los virus incluyen, por ejemplo, retrovirus, (por ejemplo, VIH-1 y VIH-2), virus de herpes, citomegalovirus, virus de gripe, virus de Epstein-barr (EBV), virus de herpes del sarcoma de Kaposi (KSHV), virus de la varicela-zoster (VZV), virus del papiloma humano (HPV), ehuovirus, picornavirus, rinovirus, virus de la polio, virus *Coxsackie*, sarampión, paperas, virus de leucemia de las células-T humano (HTLV-1), rubeola, rotavirus, virus de la fiebre amarilla, virus del ebola, y otros virus patógenicos, y similares.

15 Las entidades biológicas replicantes también incluyen organismos multicelulares, por ejemplo, microorganismos infecciosos, por ejemplo, helmintos. Los helmintos incluyen, por ejemplo, anquilostomas, (por ejemplo, *Ancylostoma duodenale*) *strongyloides stercoralis*, *fasciola hepatica*, *trichuris trichiura*, *trichinella spiralis*, *taenia solium*, *taenia saginata*, y similares.

20 Se cree que la resistencia al fármaco es el resultado evolutivo de la selección basada en la condición de células/microorganismos mutantes en presencia de un fármaco (o cualquier compuesto que tiene actividad biológica). La aparición (o no aparición) de resistencia a los fármacos en una enfermedad causada por una entidad biológica replicante causante de enfermedades puede ser predicha determinando la condición de un objetivo bioquímico de un mutante en presencia de un fármaco. Por lo tanto, la aparición (o no aparición) de la resistencia a los fármacos puede ser predicha en base a la condición bioquímica. Mientras que los perfiles de resistencia pueden, en algunas situaciones, reflejar la condición, no se puede asumir que la aparición de la resistencia a los fármacos para un mutante particular puede ser directamente predicha en base a su resistencia sólo al perfil.

25 Un análisis puede ser provisto que puede ser usado para predecir la condición biológica de una entidad biológica replicante en presencia de un inhibidor particular. Un análisis puede ser provisto para determinar la condición bioquímica de un objetivo bioquímico de una entidad biológica replicante mutante en relación a su predecesor. De acuerdo al análisis, un predecesor al mutante puede ser obtenido, la vitalidad bioquímica del objetivo bioquímico del predecesor es determinada en presencia de un compuesto capaz de inhibir el objetivo bioquímico del predecesor, la vitalidad bioquímica del objetivo bioquímico del mutante es determinada en presencia del compuesto, y son comparadas la vitalidad bioquímica del objetivo bioquímico del mutante en relación a la vitalidad bioquímica del predecesor.

30 El análisis puede ser usado con una amplia variedad de microorganismos infecciosos, como se ha descrito anteriormente, incluyendo, por ejemplo, un virus, un hongo, un protozoo, o bacteria, un retrovirus, incluyendo el VIH-1 t el VIH-2, y células cancerosas. Cuando el microorganismo infeccioso es un protozoo, es preferible un parásito palúdico, que es más preferible una especie de *Plasmodium*.

35 En otra realización, el predecesor es una célula cancerosa, que es preferiblemente una célula tumoral de crecimiento rápido, por ejemplo, una célula cancerosa de crecimiento rápido encontrada en cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de pulmón, una célula tumoral de un origen linfoide, una célula derivada de tumor con un alto potencial metastásico, o similares.

40 El análisis puede ser aplicado a cualquier objetivo bioquímico adecuado, preferiblemente a un objetivo bioquímico cuya vitalidad bioquímica puede ser determinada utilizando propiedades medibles que pueden ser obtenidas por análisis. Deseablemente, el objetivo bioquímico es uno que juega un papel importante en la replicación y crecimiento de la entidad. A modo de ejemplo, el objetivo bioquímico del predecesor (y del mutante) puede ser un enzima y el compuesto puede ser un inhibidor del enzima del predecesor.

45 El enzima puede ser un enzima viral. Ejemplos de enzimas virales son un enzima de proteasa viral, una transcriptasa inversa viral, una integrasa viral, una polimerasa viral, una proteína viral con actividad enzimática, o un enzima retroviral, incluyendo un enzima del VIH-1 y VIH-2. Los enzimas de proteasa viral, incluyen una proteasa

retroviral, como una proteasa de VIH-1 o una proteasa de VIH-2, Los enzimas de integrasa viral incluyen, por ejemplo, integrasa de VIH-1, integrasa de VIH-2, y similares. La polimerasa viral puede ser una polimerasa retroviral, incluyendo una polimerasa de VIH-1 o una polimerasa de VIH-2. Una proteína viral con actividad enzimática puede ser una proteína retroviral, como una proteína de VIH-1 o una proteína de VIH-2.

El enzima también puede ser una enzima protozoaria, incluyendo una enzima de proteasa protozoaria. La proteasa protozoaria puede ser una proteasa palúdica. La proteasa palúdica puede ser una plasmepsina, incluyendo plasmepsina I o plasmepsina II. El enzima palúdico puede ser un enzima plasmódico o una proteína con actividad enzimática.

El objetivo bioquímico del predecesor es un oligómero y el compuesto inhibe la oligomerización del oligómero del predecesor. En otra realización, el objetivo bioquímico del predecesor es una proteína y el compuesto inhibe un cambio conformacional en la proteína del predecesor.

La determinación de la vitalidad bioquímica puede tener también en cuenta otros factores, preferiblemente factores medibles, que efectúan la capacidad de un objetivo bioquímico para realizar su función bioquímica en presencia de un inhibidor. Cuando el objetivo bioquímico es un enzima y el compuesto es un inhibidor del enzima, la vitalidad bioquímica del enzima de la entidad biológica replicante mutante preferiblemente se corresponde con $K_{inh-mut}$, $k_{cat-mut}$, K_M-mut y la vitalidad bioquímica del enzima del predecesor preferiblemente se corresponde con $K_{inh-pred}$, $k_{cat-pred}$, y K_M-pred , K_{inh} es una constante de inhibición del compuesto, k_{cat} es la tasa catalítica bioquímica, y K_M es la constante de Michaelis. Más preferiblemente, la vitalidad del enzima se corresponde con K_{inh} , k_{cat} , y K_M , y la vitalidad bioquímica del enzima de la entidad biológica replicante mutante es definida por la relación $K_{inh-mut}(k_{cat-mut}/K_M-mut)$ (es decir, $(K_{inh-mut}) \times (k_{cat-mut}/K_M-mut)$) y la vitalidad bioquímica del enzima del predecesor es definida por la relación $K_{inh-pred}(k_{cat-pred}/K_M-pred)$. Las variables $K_{inh-mut}$, $K_{inh-pred}$, $k_{cat-mut}$, $k_{cat-pred}$, K_M-mut y K_M-pred pueden ser obtenidas por cualquier medio adecuado, y son preferiblemente obtenidas por medición (por ejemplo, de un análisis). Cuando la vitalidad es determinada en base a estas relaciones, la condición bioquímica en presencia de un inhibidor/fármaco dado preferiblemente es definida por la ecuación:

$$\frac{K_{inh-mut} (k_{cat-mut} / K_M-mut)}{K_{inh-pred} (k_{cat-pred} / K_M-pred)}$$

$$\log \left[\frac{K_{inh-mut} (k_{cat-mut} / K_M-mut)}{K_{inh-pred} (k_{cat-pred} / K_M-pred)} \right]$$

K_{inh} puede ser determinada por cualquier método adecuado, pero típicamente es determinado en base a K_i o K_d .

Se puede proporcionar un método para la administración de un compuesto terapéutico, este método aumenta las posibilidades de la terapia exitosa a largo plazo. Se puede proporcionar un método para la administración de un compuesto terapéutico que inhibe a un objetivo bioquímico de una entidad biológica replicante causante de enfermedades replicante (predecesor causante de enfermedades), incluyendo la identificación de al menos un mutante capaz de evolucionar del predecesor causante de enfermedades. Son determinados, una primera vitalidad bioquímica del objetivo bioquímico del predecesor causante de enfermedades en presencia de un primer compuesto capaz de inhibidor al objetivo bioquímico del predecesor causante de enfermedades, y una primera vitalidad bioquímica del objetivo bioquímico del mutante en presencia del primer compuesto.

Se determinan también, vitalidades bioquímicas adicionales del objetivo bioquímico de la entidad biológica replicante causante de enfermedades en presencia de compuestos adicionales capaces de inhibir el objetivo bioquímico de la célula causante de enfermedades, y vitalidades bioquímicas adicionales del objetivo bioquímico del mutante en presencia de compuestos adicionales.

Las condiciones en presencia de diferentes inhibidores/fármacos pueden ser comparadas y un compuesto terapéutico administrado en base a la comparación. Una primera condición bioquímica del objetivo bioquímico del mutante en relación con el predecesor causante de enfermedades es determinada comparando la primera vitalidad bioquímica del objetivo bioquímico del mutante con la primera vitalidad bioquímica del objetivo bioquímico del predecesor causante de enfermedades, y una segunda condición bioquímica del objetivo bioquímico del mutante en relación con la entidad biológica replicante causante de enfermedades es determinada comparando la segunda

vitalidad bioquímica del objetivo bioquímico del mutante con la segunda vitalidad bioquímica del objetivo bioquímico de la entidad biológica replicante causante de enfermedades. Se puede hacer una determinación adicional de la condición bioquímica en presencia de compuestos adicionales. Son comparados los valores de la condición bioquímica para uno o más mutantes en presencia de cada compuesto. Un compuesto terapéutico es después administrado de entre el primer y el compuesto adicional, este compuesto terapéutico produce los valores de condición bioquímica más bajos.

De acuerdo con el método, la entidad biológica replicante causante de enfermedades replicantes es menos probable que desarrolle resistencia en presencia del compuesto terapéutico. El compuesto terapéutico puede ser administrado de entre cualquier conjunto particular de compuestos, que pueden tener el mismo objetivo bioquímico o diferentes objetivos bioquímicos respecto a cada uno. El método de administrar un compuesto no está, por lo tanto, limitado a comparar condiciones en presencia de compuestos que actúan en el mismo objetivo bioquímico.

La entidad biológica replicante causante de enfermedades es un organismo infeccioso, por ejemplo, un virus, un hongo, un protozoo, o una bacteria, más preferiblemente un virus o un protozoo, Cuando el microorganismo infeccioso es un virus, es preferible un retrovirus, que es más preferiblemente el VIH-1 o VIH-2, y más preferiblemente el VIH-1. Cuando el microorganismo infeccioso es un protozoo, es preferiblemente un parásito, palúdico, que es más preferible una especie plasmodium.

La entidad biológica replicante causante de enfermedades es una célula cancerosa, que es preferiblemente una célula tumoral de rápido crecimiento, por ejemplo, una célula cancerosa de rápido crecimiento encontrada en el cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de pulmón, o similares.

El método de administrar un compuesto puede ser aplicado a cualquier objetivo bioquímico adecuado, preferiblemente un objetivo bioquímico cuya vitalidad bioquímica pueda ser determinada utilizando propiedades medibles que pueden ser obtenidas por análisis. El objetivo bioquímico del predecesor (y del mutante) es un enzima y el compuesto inhibe un enzima del predecesor. El enzima puede ser cualquier enzima cuya vitalidad bioquímica pueda ser medida incluyendo, por ejemplo, un enzima descrito en la presente en relación con el análisis de condición.

El objetivo bioquímico de la entidad biológica replicante causante de enfermedades es un oligómero y el compuesto inhibe la oligomerización del oligómero del predecesor. El objetivo bioquímico del objetivo de la entidad biológica replicante causante de enfermedades es una proteína y el compuesto inhibe un cambio conformacional en la proteína del predecesor.

La vitalidad bioquímica puede ser determinada de cualquier manera adecuada. Por ejemplo, la vitalidad puede ser determinada como se describe en la presente, por ejemplo, como se describe en relación con el análisis.

Cuando un microorganismo infeccioso es examinado de acuerdo con el análisis, el predecesor puede ser una especie de tipo salvaje, o el predecesor puede ser el mismo una especie mutante. El predecesor es un retrovirus, que es más preferiblemente una cepa de VIH-1 o VIH-2 de tipo salvaje, más preferiblemente VIH-1. Cuando el predecesor es un a cepa de VIH de tipo salvaje, la entidad biológica replicante mutante preferiblemente tiene al menos una mutación en el objetivo bioquímico del mismo. Cuando el predecesor tiene al menos una mutación en el objetivo bioquímico del mismo, el mutante preferiblemente tiene al menos dos mutaciones en el objetivo bioquímico del mismo.

De manera similar, cuando el método de administrar un compuesto terapéutico es usado en relación con un microorganismo infeccioso, la entidad biológica replicante causante de enfermedades puede ser una especie del tipo salvaje, o la entidad causante de enfermedades puede ser ella misma una especie mutante. La entidad biológica replicante causante de enfermedades es un retrovirus. Que es más preferiblemente una cepa de VIH-1 o VIH-2 de tipo salvaje, más preferiblemente VIH-1. Cuando la entidad biológica replicante causante de enfermedades es un a cepa de VIH de tipo salvaje, el mutante tiene preferiblemente al menos una mutación en el objetivo bioquímico del mismo. Cuando la entidad biológica replicante causante de enfermedades tiene al menos una mutación en el objetivo bioquímico de la misma, el mutante preferiblemente tiene al menos dos mutaciones en el objetivo bioquímico del mismo.

Cuando el predecesor o la entidad biológica replicante causante de enfermedades en el análisis o en el método de administrar un compuesto, es una cepa de VIH de tipo salvaje, el objetivo bioquímico del mutante preferiblemente tiene al menos una mutación de sitio activa. Cuando el predecesor en el análisis tiene al menos una mutación, y la entidad biológica replicante mutante tiene al menos dos mutaciones, el objetivo bioquímico del predecesor o del mutante tiene preferiblemente al menos una mutación de sitio activa. Cuando la entidad biológica replicante causante de enfermedades en el método tiene al menos una mutación en el objetivo bioquímico de la misma, y el mutante tiene al menos dos mutaciones en el objetivo bioquímico del mismo, el objetivo bioquímico de la entidad causante de enfermedades o el mutante preferiblemente tiene al menos una mutación de sitio activa.

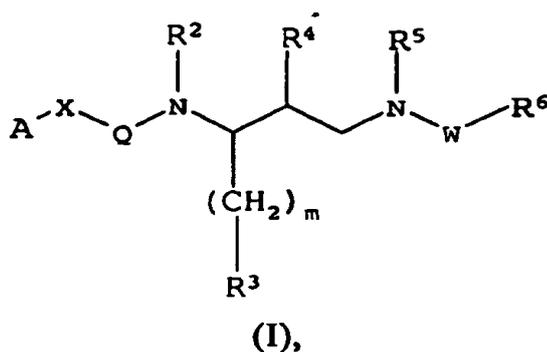
Se puede proporcionar un análisis fluorogénico continuo para medir la actividad de proteasa anti-VIH de un inhibidor de proteasa, este método comprende añadir una solución de proteasa de VIH a una solución patrón de

sustrato, en la que el sustrato tiene la fórmula Ala-ARG-Val-Tyr-Phe(NO₂)-Glu-Ala-Nle-NH₂, para proporcionar una solución de reacción del sustrato. La fluorescencia de la solución de reacción del sustrato es después medida a intervalos de tiempo especificados. La solución de proteasa de VIH es después añadida a la solución del inhibidor de proteasa y a la solución patrón del sustrato, para proporcionar una solución de reacción del sustrato-inhibidor. La fluorescencia de la solución de reacción del sustrato-inhibidor es después medida a intervalos de tiempo especificados. La velocidad inicial de la solución de reacción del sustrato-inhibidor es entonces calculada aplicando la ecuación:

$V = V_0 / 2E_t \{ [K_i(1+S/K_m) + I_t - E_t]^2 + 4K_i(1+S/K_m)E_t \}^{1/2} - [K_i(1+S/K_m) + I_t - E_t]$ en donde V es la velocidad inicial de la solución de reacción del inhibidor, V₀ es la velocidad inicial de la solución de reacción del sustrato, K_m es la constante de Michaelis-Menten, S es la concentración del sustrato, E_t es la concentración de proteasa, e I_t es la concentración del inhibidor.

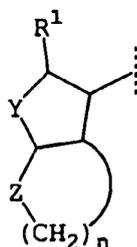
El método de análisis descrito en la presente es altamente sensible y particularmente útil para la predicción de la actividad inhibidora antiviral de un compuesto contra el VIH mutante, más particularmente VIH mutante múltiple, específicamente virus de la inmunodeficiencia humana resistentes a múltiples fármacos. El ensayo fluorogénico continuo es claramente ventajoso en que es más sensible que los análisis estándar para determinar la actividad de los inhibidores de la proteasa contra el VIH resistente a múltiples fármacos. El análisis fluorogénico continuo es revelado en más detalle en los ejemplos que siguen. Los datos inhibitorios obtenidos de acuerdo con este análisis fluorogénico continuo pueden ser utilizados para determinar la vitalidad y condición para la proteasa del VIH-1 en presencia de un inhibidor de la proteasa.

La presente invención proporciona un compuesto de fórmula:



o una sal, un profármaco, o un éster farmacéuticamente aceptables de la misma, o una composición farmacéuticamente aceptable del mencionado compuesto, de la mencionada sal, del mencionado profármaco, o del mencionado éster de la misma, en donde:

A es un grupo de la fórmula:



R¹ es H o un alquilo, un alquenilo, un alquinilo, un cicloalquilo, un cicloalquilalquilo, un arilo, un aralquilo, un heterocicloalquilo, un heterocicloalquilalquilo, un heteroarilo, o un heteroaralquilo, en el que al menos un átomo de hidrógeno es opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado del grupo consistente de OR⁷, SR⁷, CN, NO₂, N₃, y un halógeno, en donde R⁷, es H, un alquilo no sustituido, un alquenilo no sustituido, o un alquinilo no sustituido.

Y y Z son iguales o diferentes y cada una es seleccionada del grupo consistente de CH₂, O, S, SO, SO₂, NR⁸, R⁸C(O)N, R⁸C(S)N, R⁸OC(O)N, R²OC(S)N, R⁸SC(O)N, R⁸R⁹NC(O)N, y R⁸R⁹NC(S)N, en donde R⁸ y R⁹ son iguales o diferentes y cada una es seleccionada del grupo consistente de H, un alquilo no sustituido, un alquenilo no sustituido, y un alquinilo no sustituido;

n es un entero de 1 a 5;

X es un enlace covalente, CHR¹⁰, CHR¹⁰CH₂, CH₂CHR¹⁰, O, NR¹⁰, o S, en donde R¹⁰ es H, un alquilo no sustituido, una alquenoilo no sustituido, o un alquinoilo no sustituido;

Q es C(O), C(S), o SO₂;

R² es H, un C₁-C₆ alquilo, un C₂-C₆ alquenoilo, o un C₂-C₆ alquinoilo;

5 M es un entero de 0 a 6;

R³ es un cicloalquilo, un heterocicloalquilo, un arilo, o un heteroarilo en el que al menos uno de los átomos de hidrógeno es opcionalmente sustituido con un sustituyente del grupo consistente de alquilo, (CH₂)_pR¹¹, OR¹², SR¹², CN, N₃, NO₂, NR¹²R¹³, C(O)R¹², C(S)R¹², CO₂R¹², C(O)SR¹², C(O)NR¹²R¹³, C(S)NR¹²R¹³, NR¹²C(O)R¹³, NR¹²C(S)R¹³, NR¹²CO₂R¹³, NR¹²C(O)SR¹³, y un halógeno, en donde:

10 p es un entero de 0 a 5;

R¹¹ es un cicloalquilo, un heterocicloalquilo, un arilo, o un heteroarilo en el que al menos uno de los átomos de hidrógeno es opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado del grupo consistente de halógeno, OH, OCH₃, NH₂, NO₂, SH, y CN; y

15 R¹² y R¹³ son iguales o diferentes y cada una es seleccionada del grupo consistente de H, un alquilo no sustituido, un alquenoilo no sustituido, y un alquinoilo no sustituido.

R⁴ es =H, =O (ceto) o NH₂, en donde, cuando R⁴ es OH, está opcionalmente en la forma de un éster o profármaco farmacéuticamente aceptable, y cuando R⁴ es NH₂, es opcionalmente, una amida, un hidroxilamino, un carbamato, un urea, un alquilamino, un dialquilamino, o una sal prótica de los mismos, o una sal tetraalquilamonio de los mismos;

20 R⁵ es H, un radical C₁-C₆ alquilo, un radical C₂-C₆ alquenoilo, o (CH₂)_qR¹⁴, en donde q es un entero de 0 a 5, y R¹⁴ es un cicloalquilo, un heterocicloalquilo, un arilo, p un radical heteroarilo en el que al menos un átomo de hidrógeno es opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado del grupo consistente de un halógeno, OH, OCH₃, NH₂, NO₂, SH, y CN;

W es C(O), C(S), o SO₂; y

25 R⁶ es un cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo, o radical heteroarilo en el que al menos un átomo de hidrógeno es opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado del grupo consistente de un halógeno, OR¹⁵, SR¹⁵, S(O)R¹⁵, SO₂R¹⁵, SO₂NR¹⁵R¹⁶, SO₂N(OH)R¹⁵, CN, CR¹⁵=NR¹⁶, CR¹⁵=N(OR¹⁶), N₃, NO₂, NR¹⁵R¹⁶, N(OH)R¹⁵, C(O)R¹⁵, C(S)R¹⁵, CO₂R¹⁵, C(O)SR¹⁵, C(O)NR¹⁵R¹⁶, C(S)NR¹⁵R¹⁶, C(O)N(OH)R¹⁵, C(S)N(OH)R¹⁵, NR¹⁵C(O)R¹⁶, NR¹⁵C(S)R¹⁶, N(OH)C(O)R¹⁵, N(OH)C(S)R¹⁵, NR¹⁵CO₂R¹⁶, N(OH)CO₂R¹⁵, NR¹⁵C(O)SR¹⁶, NR¹⁵C(O)NR¹⁶R¹⁷, NR¹⁵C(S)NR¹⁶R¹⁷, N(OH)C(O)NR¹⁵R¹⁶, N(OH)C(S)NR¹⁵R¹⁶, NR¹⁵C(O)N(OH)R¹⁶, NR¹⁵C(S)N(OH)R¹⁶, NR¹⁵SO₂R¹⁶, NHSO₂NR¹⁵R¹⁶, NR¹⁵SO₂NHR¹⁶, P(O)(OR¹⁵)(OR¹⁶), un alquilo, un alcoxi, un laquiltio, un alquilamino, un cicloalquilo, un cicloalquilalquilo, un heterocicloalquilo, un heterocicloalquilalquilo, un arilo, un ariloxi, un arilamino, un ariltio, un aralquilo, un ariloxialquilo, un ariloaminoalquilo, un aralcoxi, un (ariloxi)alcoxi, un (arilamino)alcoxi, un (ariltio)alcoxi, un aralquilamino, un (ariloxi)alquilamino, un (arilamino)alquilamino, un (ariltio)alquilamino, un aralquiltio, un (ariloxi)alquiltio, un (arilamino)alquiltio, un (ariltio)alquiltio, un heteroarilo, un heteroariloxi, un heteroarilamino, un heteroariltio, un heteroaralquilo, un heteroaralcoxi, un heteroaralquilamino, y un heteroaralquiltio.

En donde R¹⁵, R¹⁶, y R¹⁷ son H, un alquilo no sustituido, o un alquenoilo no sustituido,

40 En donde, cuando al menos uno de los átomos de hidrógeno de R⁶ está sustituido con un sustituyente que no sea un halógeno, OR¹⁵, SR¹⁵, CN, N₃, NO₂, NR¹⁵R¹⁶, C(O)R¹⁵, C(S)R¹⁵, CO₂R¹⁵, C(O)SR¹⁵, C(O)NR¹⁵R¹⁶, C(S)NR¹⁵R¹⁶, NR¹⁵C(O)R¹⁶, NR¹⁵C(S)R¹⁶, NR¹⁵CO₂R¹⁶, NR¹⁵C(O)SR¹⁶, NR¹⁵C(O)NR¹⁶R¹⁷, o NR¹⁵C(S)NR¹⁶R¹⁷, al menos un átomo de hidrógeno en el mencionado sustituyente es opcionalmente sustituido con un halógeno, OR¹⁵, SR¹⁵, CN, N₃, NO₂, NR¹⁵R¹⁶, C(O)R¹⁵, C(S)R¹⁵, CO₂R¹⁵, C(O)SR¹⁵, C(O)NR¹⁵R¹⁶, C(S)NR¹⁵R¹⁶, NR¹⁵C(O)R¹⁵, NR¹⁵C(S)R¹⁶, NR¹⁵CO₂R¹⁶, NR¹⁵C(O)SR¹⁶, NR¹⁵C(O)NR¹⁶R¹⁷, o NR¹⁵C(S)NR¹⁶R¹⁷; en la preparación de un medicamento para tratar un mamífero infectado con VIH, en combinación con un agente antiviral seleccionado del grupo consistente de ritonavir, indinavir, y saquinavir.

En la práctica del uso de prevenir la aparición de resistencia a los fármacos en un mamífero infectado con VIH, es preferible que un virus mutante que es capaz de evolucionar de la infección tenga condición baja, en relación con el virus infectante, en presencia del compuesto o combinación de compuestos que son administrados.

50 Como se utiliza en la presente, el término "alquilo" significa una cadena lineal o radical alquilo ramificado que contiene de alrededor de 1 a alrededor de 20 átomos de carbono de cadena, preferiblemente de alrededor de 1 a alrededor de 10 átomos de carbono, más preferiblemente de alrededor de 1 a alrededor de 8 átomos de carbono, aún más preferiblemente de alrededor de 1 a alrededor de 6 átomos de carbono. Ejemplos de los mencionados sustituyentes incluyen metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, tert-butilo, pentilo, isoamilo, hexilo, octilo, dodecanilo, y similares.

El término "alquenoilo" significa una cadena lineal o radical alquenoilo de cadena ramificada que tiene uno o más enlaces dobles y que contiene de alrededor de 2 a alrededor de 20 átomos de carbono de cadena,

preferiblemente de alrededor de 2 a alrededor de 10 átomos de carbono, más preferiblemente de alrededor de 2 a alrededor de 8 átomos de carbono, aún más preferiblemente de alrededor de 2 a alrededor de 6 átomos de carbono. Ejemplos de los mencionados sustituyentes incluyen. Vinilo, alilo, 1-4-butadienilo, isopropenilo, y similares.

5 El término "alquinilo" significa una cadena lineal o radical alquinilo de cadena ramificada que tiene uno o más enlaces triples y que contiene de alrededor de 2 a alrededor de 20 átomos de carbono de cadena, preferiblemente de alrededor de 2 a alrededor de 10 átomos de carbono, más preferiblemente de alrededor de 2 a alrededor de 8 átomos de carbono, aún más preferiblemente de alrededor de 2 a alrededor de 6 átomos de carbono. Ejemplos de los mencionados radicales incluyen, etinil, propinil (propargil), butinilo, y similares.

10 El término "alcoxi" significa un radical éter alquilo, en donde el término "alquilo" es como se ha definido anteriormente. Ejemplos de radicales alcoxi incluyen metoxi, etoxi, n-propoxi, isopropoxi, n-butoxi, isobutoxi, sec-butoxi, tert-butoxi, hexanoxi, y similares.

15 El término "alquiltio" significa un radical tioéter alquilo, en donde el término "alquilo" es como se ha definido anteriormente. Ejemplos de radicales alquiltio incluyen metiltio (SCH_3), etiltio (SCH_2CH_3), n-propiltio, isopropiltio, n-butiltio, isobutiltio, sec-butiltio, tert-butiltio, n-hexiltio, y similares.

El término "alquilamino" significa un radical amino alquilo, en donde el término "alquilo" es como se ha definido anteriormente. Ejemplos de radicales alquilamino incluyen metilamino (NHCH_3), etilamino (NHCH_2CH_3), n-propilamino, isopropilamino, n-butilamino, isobutilamino, sec-butilamino, tert-butilamino, n-hexilamino, y similares.

20 EL término "cicloalquilo" significa un radical alquilo monocíclico o policíclico definido por uno o más anillos carbocíclicos alquilos, que pueden ser iguales o diferentes cuando el cicloalquilo es un radical policíclico que tiene de 3 a alrededor de 10 átomos de carbono en el esqueleto carbocíclico en cada anillo, preferiblemente de alrededor de 4 a alrededor de 7 átomos de carbono, más preferiblemente de 5 a 6 átomos de carbono. Ejemplos de radicales cicloalquilos monocíclicos incluyen ci-cloropropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclodecilo, y similares. Ejemplos de radicales cicloalquilos policíclicos incluyen decahidronaftilo, biciclo [5.4.0]undecilo, adamantilo, y similares.

25 El término "cicloalquilalquilo" significa un radical alquilo como se define en la presente, en el que al menos un átomo de hidrógeno en el radical alquilo es reemplazado por un radical cicloalquilo como se define en la presente. Ejemplos de radicales cicloalquilalquilos incluyen ciclohexilmetilo, 3-ciclopentilbutilo, y similares.

30 El término "heterocicloalquilo" significa un radical cicloalquilo como se define en la presente (incluyendo policíclicos), en donde al menos un carbono que define el esqueleto carbocíclico es sustituido con un heteroátomo como, por ejemplo, O, N, o S, opcionalmente comprendiendo uno o más enlaces dobles dentro del anillo, siempre que el anillo no sea heteroarilo como se define en la presente. El heterocicloalquilo preferiblemente tiene de 3 a alrededor de 10 átomos (miembros) en el esqueleto carbocíclico de cada anillo, preferiblemente de alrededor de 4 a alrededor de 7 átomos, más preferiblemente 5 a 6 átomos. Ejemplos de radicales heterocicloalquilos incluyen epoxi, aziridilo, oxetanilo, tetrahidrofurano, dihidrofurano, piperadilo, piperidinilo, piperazilo, piperazinilo, piranilo, morfolinilo, y similares.

35 El término "heterocicloalquilalquilo" significa un radical alquilo como se define en la presente, en el que al menos un átomo de hidrógeno en el radical alquilo es reemplazable por un radical heterocicloalquilo como se define en la presente. Ejemplos de radicales heterocicloalquilalquilos incluyen 2-morfolinometilo, 3-(4-morfolino)-propilo, 4-(2-tetrahidrofurano)-butilo, y similares.

40 El término "arilo" se refiere a un radical carbocíclico aromático, como es comúnmente entendido en la técnica, e incluye aromáticos monocíclicos y policíclicos como, por ejemplo, radicales fenilos y naftilos, opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo consistente de un halógeno, un alquilo, alcoxi, amino, ciano, nitro, y similares.

45 El término "ariloxi" significa arilo como se define en la presente, en donde un átomo de hidrógeno es reemplazado por un oxígeno. Ejemplos de radicales ariloxi incluyen fenoxi, naftoxi, 4-fluorofenoxi, y similares.

El término "arilamino" significa arilo como se define en la presente, en donde un átomo de hidrógeno es reemplazado por un amino. Ejemplos de radicales arilaminos incluyen fenilamino, naftilamino, 3-nitrofenilamino, 4-aminofenilamino, y similares.

50 El término "ariltio", significa arilo como se define en la presente, en donde un átomo de hidrógeno es reemplazado por un átomo de sulfuro. Ejemplos de radicales ariltios incluyen feniltio, naftiltio, 3-nitrofeniltio, 4-tiofeniltio, y similares.

El término "aralquilo" significa alquilo como se define en la presente, en donde un átomo de hidrógeno alquilo es reemplazado por un arilo como se define en la presente. Ejemplos de radicales aralquilos incluyen benzilo, fenetilo, 3-(2-naftilo)-butilo, y similares.

55 El término "ariloxialquilo" significa alquilo como se define en la presente, en donde un átomo de hidrógeno alquilo es reemplazado por un ariloxi como se define en la presente. Ejemplos de radicales ariloxialquilos incluyen fenoxietilo, 4-(3aminofenoxi)-1-butilo, y similares.

El término “ariloaminoalquilo” significa alquilo como se define en la presente, en donde un átomo de hidrógeno alquilo es reemplazado por un ariloamino como se define en la presente. Ejemplos de radicales ariloaminoalquilos incluyen fenilaminoetilo, 4-(3-metoxifenilamino)-1-butilo, y similares.

5 El término “aralcoxi” significa alcoxi como se define en la presente, en donde un átomo de hidrógeno alquilo es reemplazado por un arilo como se define en la presente. Ejemplos de radicales aralcoxi incluyen 2-feniletoksi, 2-fenil-1-propoxi, y similares.

El término “(ariloxi)alcoxi” significa alcoxi como se define en la presente, en donde un átomo de hidrógeno alquilo es reemplazado por un ariloxi como se define en la presente. Ejemplos de radicales (ariloxi)alcoxi incluyen 2-fenoxietoksi, 4-(3-aminofenoxi)-1-butoxi, y similares.

10 El término “(ariloamino)alcoxi” significa alcoxi como se define en la presente, en donde un átomo de hidrógeno alquilo es reemplazado por un ariloamino como se define en la presente. Ejemplos de radicales (ariloamino)alcoxi incluyen 2-(fenilamino)-etoxi, 2-(2-naftiloamino)-1-butoxi, y similares.

15 El término “(ariltio)alcoxi” significa alcoxi como se define en la presente, en donde un átomo de hidrógeno alquilo es reemplazado por un ariltio como se define en la presente. Ejemplos de radicales (ariltio)alcoxi incluyen 2-(feniltio)-etoxi, y similares.

El término “aralquilamino” significa alquilamino como se define en la presente, en donde un átomo de hidrógeno alquilo es reemplazado por un arilo como se define en la presente. Ejemplos de radicales aralquilamino incluyen 2-feniletilamino, 4-fenil-n-butilamino, y similares.

20 El término “(ariloxi)alquilamino” significa alquilamino como se define en la presente, en donde un átomo de hidrógeno alquilo es reemplazado por un ariloxi como se define en la presente. Ejemplos de radicales (ariloxi)alquilamino incluyen 3-fenoxi-n-propilamino, 4-fenoxibutilamino, y similares.

El término “(arilamino)alquilamino” significa alquilamino como se define en la presente, en donde un átomo de hidrógeno alquilo es reemplazado por un ariloamino como se define en la presente. Ejemplos de radicales (ariloamino)alquilamino incluyen 3-(naftiloamino)-1-propilamino, 4-(fenilamino)-1-butilamino, y similares.

25 El término “(ariltio)alquilamino” significa alquilamino como se define en la presente, en donde un átomo de hidrógeno alquilo es reemplazado por un ariltio como se define en la presente. Ejemplos de radicales (ariltio)alquilamino incluyen 2-(feniltio)-etilamino, y similares.

30 El término “aralquiltio” significa alquiltio como se define en la presente, en donde un átomo de hidrógeno alquilo es reemplazado por un arilo como se define en la presente. Ejemplos de radicales aralquiltio incluyen 3-fenil-2-propiltio, 2-(2-naftilo)-etiltio, y similares.

El término “(ariloxi)alquiltio” significa alquiltio como se define en la presente, en donde un átomo de hidrógeno alquilo es reemplazado por un ariloxi como se define en la presente. Ejemplos de radicales (ariloxi)alquiltio incluyen 3-fenoxipropiltio, 4-(2-fluorofenoxi)-butiltio, y similares.

35 El término “(arilamino)alquiltio” significa alquiltio como se define en la presente, en donde un átomo de hidrógeno alquilo es reemplazado por un arilamino como se define en la presente. Ejemplos de radicales (arilamino)alquiltio incluyen 2-(fenilamino)-etiltio, 3-(2-naftilamino)-n-propiltio, y similares.

El término “(ariltio)alquiltio” significa alquiltio como se define en la presente, en donde un átomo de hidrógeno alquilo es reemplazado por un ariltio como se define en la presente. Ejemplos de radicales (ariltio)alquiltio incluyen 2-(naftiltio)-etiltio, 3-(feniltio)-propiltio, y similares.

40 El término “heteroarilo” significa un radical definido como un anillo heterocíclico aromático como es comúnmente entendido en la técnica, incluyendo radicales monocíclicos como, por ejemplo, radicales de imidazol, tiazol, pirazol, pirrol, furano, pirazolona, tiofeno, oxazol, isoxazol, piridina, piridona, pirimidina, pirazina y triazina, y también incluyendo policíclicos como, por ejemplo radicales de quinolina, isoquinolina, indol, y benzotiazol, estos radicales heteroarilos son opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo
45 consistente de un halógeno, un alquilo, alcoxi, amino, ciano, nitro, y similares. Se apreciará que los sustituyente heterocicloalquilos y heteroarilos pueden ser acoplados a los compuestos de la presente invención via un heteroátomo, como el nitrógeno (por ejemplo, 1-imidazolilo).

50 El término “heteroariloxi” significa heteroarilo como se define en la presente, en donde un átomo de hidrógeno en el anillo heteroarilo es reemplazado por un oxígeno. Radicales heteroariloxi incluyen, por ejemplo, 4-piridiloxi, 5quinoliloxi, y similares.

El término “heteroarilamino” significa heteroarilo como se define en la presente, en donde un átomo de hidrógeno en el anillo heteroarilo es reemplazado por un nitrógeno. Radicales heteroarilamino incluyen, por ejemplo, 4-tiazolilamino, 2-piridilamino, y similares.

55 El término “heteroariltio” significa heteroarilo como se define en la presente, en donde un átomo de hidrógeno en el anillo heteroarilo es reemplazado por un sulfuro. Radicales heteroariltio incluyen, por ejemplo, 3-piridiltio, 3-quinoliltio, 4-imidazoliltio, y similares.

El término "heteroaralquilo" significa alquilo como se define en la presente, en donde un átomo de hidrógeno alquilo es reemplazado por un heteroarilo como se define en la presente. Ejemplos de radicales heteroaralquilos incluyen 2-piridilmetilo, 3-(4-tiazolil)-propilo, y similares.

El término "heteroaralcoxi" significa alcoxi como se define en la presente, en donde un átomo de hidrógeno alquilo es reemplazado por un heteroarilo como se define en la presente. Ejemplos de radicales heteroaralcoxi incluyen 2-piridilmetoxi, 4-(1-imidazolil)-butoxi, y similares.

El término "heteroaralquilamino" significa alquilamino como se define en la presente, en donde un átomo de hidrógeno alquilo es reemplazado por un heteroarilo como se define en la presente. Ejemplos de radicales heteroaralquilamino incluyen 4-piridilmetilamino, 3-(2-furanil)-propilamino, y similares.

El término "heteroaralquiltio" significa alquiltio como se define en la presente, en donde un átomo de hidrógeno alquilo es reemplazado por un heteroarilo como se define en la presente. Ejemplos de radicales heteroaralquiltio incluyen 3-piridilmetiltio, 3-(4-tiazolil)-propiltio, y similares.

De acuerdo a una realización preferida,

cuando R^1 es un alquilo, es un alquilo C_1-C_6 ;

cuando R^1 es un alquenilo, es un alquenilo C_2-C_6 ;

cuando R^1 es un cicloalquilo, un heterocicloalquilo, un arilo, o un heteroarilo, R^1 es un anillo de 4-7 eslabones;

cuando R^7 , R^8 o R^9 es un alquilo no sustituido, es un alquilo no sustituido C_1-C_6 ;

cuando R^7 , R^8 o R^9 es un alquenilo no sustituido, es un alquenilo no sustituido C_2-C_6 ;

R^3 es un anillo de 4-7 eslabones;

R^{11} es un anillo de 4-7 eslabones;

cuando R^{12} o R^{13} es un alquilo no sustituido, es un alquilo no sustituido C_1-C_6 ;

cuando R^{12} o R^{13} es un alquenilo no sustituido, es un alquenilo no sustituido C_2-C_6 ;

cuando R^{14} es un cicloalquilo, un heterocicloalquilo, un arilo, o un heteroarilo, R^{14} es un anillo de 4-7 eslabones;

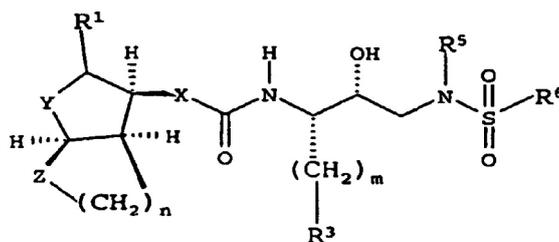
cuando R^6 es un cicloalquilo, un heterocicloalquilo, un arilo, o un heteroarilo, R^6 es un anillo de 4-7 eslabones;

cuando R^6 es sustituido con un sustituyente que es un alquilo, un alquiltio, o un alquilamino, el sustituyente comprende de uno a seis átomos de carbono; y

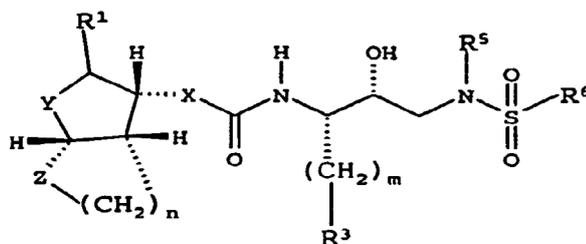
cuando R^6 es sustituido con un sustituyente que es un cicloalquilo, un heterocicloalquilo, un arilo, o un heteroarilo, el sustituyente es un anillo de 4-7 eslabones;

o una sal farmacéuticamente aceptable, un profármaco, o un éster del mismo. De acuerdo a otra realización, Q es $C(O)$, R^2 es H, y W es SO_2 , o una sal farmacéuticamente aceptable, un profármaco, o un éster del mismo.

De acuerdo a otra realización, el mencionado compuesto es de la fórmula:



(IA) o

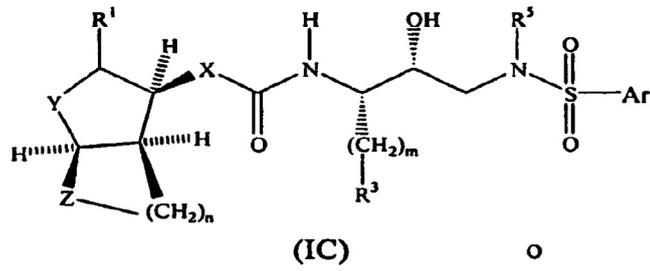


(IB).

De acuerdo a una realización, el mencionado compuesto es de fórmula:

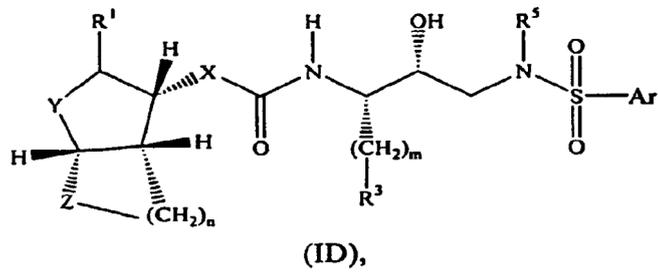
5

10



15

20



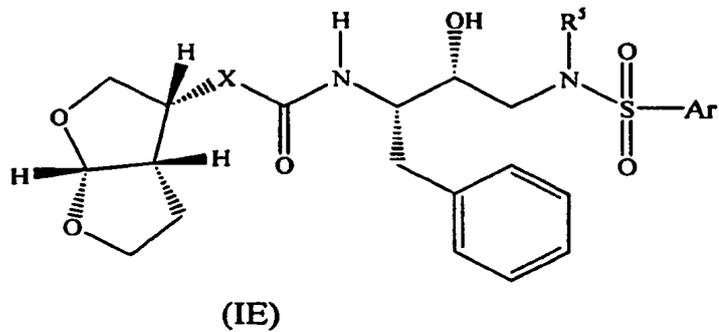
25

en donde Ar es un fenilo que es opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado del grupo consistente de metilo, amino, hidroxilo, metoxi, metililo, hidroximetilo, aminometilo, y metoximetilo.

De acuerdo a otra realización, el mencionado compuesto es de fórmula:

30

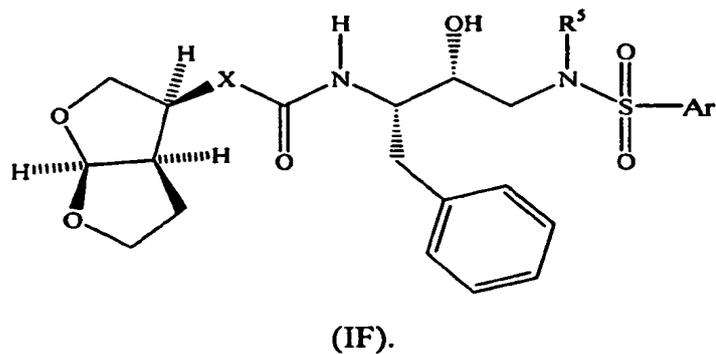
35



40

45

50



55

De acuerdo a una realización, X es oxígeno.

De acuerdo a otra realización, R⁵ es isobutilo.

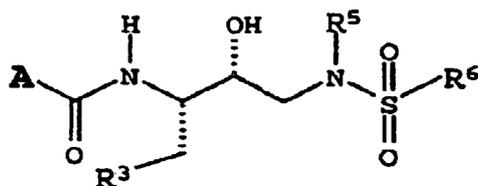
De acuerdo a otra realización, Ar es un fenilo sustituido en la posición para.

De acuerdo a una realización, Ar es un fenilo sustituido en la posición meta.

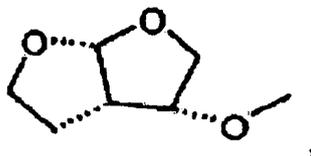
De acuerdo a otra realización, Ar es un fenilo sustituido en la posición orto.

De acuerdo a otra realización, Ar es seleccionado del grupo consistente de para-aminofenilo, para-tolilo, para-metoxifenilo, meta-metoxifenilo, y meta-hidroximetilfenilo.

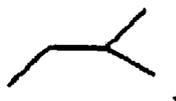
De acuerdo a una realización, el mencionado compuesto es de fórmula:



en donde A es



R³ es Ph, R⁵ es



y R⁶ es



De acuerdo a otra realización, el mencionado mamífero infectado con VIH está infectado con un VIH de tipo salvaje.

De acuerdo a aún otra realización, el mencionado mamífero infectado con VIH, está infectado con un VIH mutante con al menos una mutación de proteasa.

De acuerdo a una realización, el mencionado mamífero infectado con VIH está infectado por un VIH mutante que tiene al menos una mutación de la transcriptasa inversa.

De acuerdo a otra realización, el fármaco es para inhibir la proteasa de un retrovirus mutante en un mamífero infectado con un retrovirus mutante para inhibir la proliferación del mencionado retrovirus mutante en el mencionado mamífero.

De acuerdo a aún otra realización, el fármaco es para tratar una infección retroviral mutante en un mamífero infectado con un retrovirus mutante.

De acuerdo a una realización, el mencionado retrovirus mutante es un retrovirus mutante resistente a múltiples fármacos.

De acuerdo a otra realización, el mencionado retrovirus mutante es un retrovirus de VIH resistente a múltiples fármacos.

De acuerdo a aún otra realización, en donde el mencionado retrovirus mutante es un retrovirus de VIH-1 resistente a múltiples fármacos.

Sustituyentes de Ar adecuados incluyen grupos fenilos que son sustituidos en la posición para, la posición meta, y/o en la posición orto. Ejemplos de sustituyentes de Ar adecuados son mostrados en la Tabla 4, y en las Figuras 3 y 5A-5D.

5 Una cantidad efectiva inhibidora de la resistencia es una cantidad suficiente para producir una concentración o nivel de fármaco in vivo en la que la vitalidad bioquímica de un VIH mutante es menor que la vitalidad bioquímica del VIH (predecesor) infectando al mamífero infectado de VIH. Por ejemplo, una cantidad efectiva inhibidora de la resistencia es una cantidad suficiente para producir una concentración o nivel de fármaco in vivo donde el valor de la condición bioquímica es menos que uno, cuando se determina por la proporción de la vitalidad bioquímica del mutante con la vitalidad bioquímica del predecesor. El compuesto puede ser administrado a un mamífero infectado con VIH de tipo salvaje para prevenir la aparición de la resistencia de primera línea, o puede ser administrada a un mamífero infectado con un VIH mutante para prevenir la aparición de la resistencia a fármacos debido a mutaciones adicionales.

15 El compuesto puede ser administrado en la forma de una composición farmacéutica. La composición farmacéutica preferiblemente incluye un portador farmacéuticamente aceptable y una cantidad efectiva inhibidora de la resistencia de al menos uno de los compuestos mencionados anteriormente, sola o en combinación con otro compuesto antirretroviral como, por ejemplo, un inhibidor de la proteasa del VIH de tipo salvaje, un inhibidor de la proteasa retroviral del VIH mutante, o un inhibidor de la transcriptasa inversa. Generalmente, la composición farmacéutica de la presente invención comprende una cantidad efectiva inhibidora de la resistencia de al menos un compuesto de Fórmula (I), como se revela en la presente, y un portador farmacéuticamente aceptable.

20 Puede ser administrada una composición farmacéutica que comprende una cantidad efectiva inhibidora de la resistencia de al menos un compuesto de Fórmula (IA) o Fórmula (IB), o una sal farmacéuticamente aceptable, profármaco, o éster de la misma, y un portador farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica puede comprender una cantidad efectiva inhibidora de la resistencia de al menos un compuesto de Fórmula (IC) o Fórmula (ID), o una sal farmacéuticamente aceptable, profármaco, o éster de la misma, y un portador farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica puede comprender una cantidad efectiva inhibidora de la resistencia de al menos un compuesto de Fórmula (IE), y sales farmacéuticamente aceptables, profármacos, y esteres de la misma, y un portador farmacéuticamente aceptable.

30 Los portadores farmacéuticamente aceptables son bien conocidos para aquellos expertos en la materia. La elección de un portador será determinada en parte por la composición particular, así como por el modo de administración particular. Por consiguiente, hay una amplia variedad de formulaciones adecuadas para la administración.

35 La composición farmacéutica puede ser administrada en una forma adecuada para el uso oral como, por ejemplo, comprimidos, grageas, pastillas, suspensiones o soluciones acuosas o aceitosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, capsulas duras o blandas, jarabes o elixires. Las composiciones destinadas para el uso oral pueden ser preparadas de acuerdo a cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas, y tales composiciones pueden contener uno o más agentes como, por ejemplo, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes, y agentes conservantes para proporcionar una preparación farmacéuticamente elegante y/o agradable. Los comprimidos pueden contener el ingrediente activo mezclado con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos que sean adecuados para la fabricación de comprimidos. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes como, por ejemplo, carbonato cálcico, lactosa, fosfato cálcico, o fosfato sódico; agentes de granulación y desintegración como, por ejemplo, almidón de maíz o ácido alginico; agentes aglutinantes como, por ejemplo, almidón, gelatina o acacia, y agentes lubricantes como, por ejemplo, ácido esteárico o talco. Los comprimidos pueden ser sin recubrimiento o pueden ser recubiertos por técnicas conocidas para retrasar la desintegración y absorción en el tracto gastrointestinal y así proporcionar una acción sostenida durante un periodo más largo. Por ejemplo, pueden ser empleados un material de retraso de tiempo como el monoeseasato de glicerilo o diestearato de glicerilo solos o con cera.

45 Las formulaciones para el uso oral pueden ser presentadas también como capsulas de gelatina duras en donde el ingrediente activo está mezclado con un diluyente sólido inerte, por ejemplo carbonato cálcico, fosfato cálcico o caolín, o como capsulas de gelatina blandas en donde el ingrediente activo está mezclado con agua o con un medio oleoso, por ejemplo aceite de arachis, aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

50 Las suspensiones acuosas contienen típicamente los materiales activos en mezcla con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Dichos excipientes son agentes de suspensión, por ejemplo, carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma tragacanto, goma de acacia; los agentes dispersores o humectantes pueden ser un fosfolípido natural, por ejemplo, lecitina, o productos de la condensación de un óxido alquilenos con ácidos grasos, por ejemplo estearato de polioxi-etileno, o productos de la condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo heptadecaetilenoxietanol, o productos de la condensación de óxido de etileno con ésteres parciales

derivados de ácidos grasos y un hexitol como el monooleato de polioxietileno sorbitol, o productos de la condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo mono-oleato de polioxietileno sorbitán. Las suspensiones acuosas pueden también contener uno o más conservantes, por ejemplo, etilo o benzoato de p-hidroxi n-propil, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes aromatizantes y uno o más agentes edulcorantes como, por ejemplo, sacarosa o sacarina.

Las suspensiones aceitosas pueden ser formuladas suspendiendo el ingrediente activo en un aceite vegetal, por ejemplo aceite de arachis, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco, o en un aceite mineral como la parafina líquida. Las suspensiones aceitosas pueden contener un agente espesante, por ejemplo cera de abejas, parafina dura o alcohol cetílico. Se pueden añadir agentes edulcorantes, como los establecidos anteriormente, y agentes aromatizantes para proporcionar una preparación oral agradable. Estas composiciones pueden ser conservadas por la adición de un antioxidante como, por ejemplo, ácido ascórbico.

Los polvos y gránulos dispersables adecuados para la preparación de una suspensión acuosa por la adición de agua proporcionan el ingrediente activo mezclado con un agente de dispersión o humectante, agente de suspensión y uno o más conservantes. Agentes de dispersión o humectantes adecuados y agentes de suspensión son ejemplificados por aquellos ya mencionados anteriormente. También pueden estar presentes excipientes adicionales, por ejemplo agentes edulcorantes, aromatizantes y colorantes.

La composición farmacéutica puede ser también administrada en forma de emulsiones de aceite en agua. La fase aceitosa puede ser un aceite vegetal, por ejemplo, aceite de oliva o aceites de arachis, o un aceite mineral, por ejemplo parafina líquida o mezclas de estos. Agentes emulsionantes adecuados pueden ser gomas naturales, por ejemplo goma de acacia, o goma tragacanto, fosfolípidos naturales, por ejemplo lecitina de semilla de soja, y ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo mono-oleato de sorbitán, y productos de la condensación de los mencionados ésteres parciales y óxido de etileno, por ejemplo mono-oleato polioxietileno sorbitán. Las emulsiones pueden también contener agentes edulcorantes y aromatizantes.

La composición farmacéutica puede también ser administrada en la forma de jarabes y elixires, que son típicamente formulados con agentes edulcorantes como, por ejemplo, glicerol, sorbitol o sacarosa. Dichas formulaciones pueden contener un demulcente, un conservante y agentes aromatizantes y colorantes.

Además, la composición farmacéutica puede ser administrada en la forma de una preparación inyectable estéril, por ejemplo, como una suspensión acuosa u oleaginosa inyectable estéril. Las suspensiones adecuadas para la administración parenteral pueden ser formuladas de acuerdo a la técnica conocida utilizando aquellos agentes dispersores o humectantes adecuados y agentes suspensores que han sido mencionados anteriormente. Las formulaciones adecuadas para la administración parenteral incluyen, por ejemplo, soluciones de inyección estériles isotónicas acuosas y no acuosas, que pueden contener anti-oxidantes, amortiguadores, bactericidas, y solutos que hacen la formulación isotónica con la sangre del recipiente pretendido, y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes suspensores, solubilizantes, agentes espesantes, estabilizantes, y conservantes. La preparación inyectable estéril puede ser una solución o una suspensión en diluyente o disolvente parenteralmente aceptable no tóxico, por ejemplo, como una solución en agua o 1,3-butanediol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden ser empleados, por ejemplo, están el agua, la solución de Ringer y la solución de cloruro de sodio isotónica. Además, aceites fijos, estériles son convencionalmente empleados como un medio disolvente o de suspensión. Para este propósito cualquier aceite fijo suave puede ser empleado incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Además los ácidos grasos como, por ejemplo, ácido oleico encuentran uso en la preparación de inyectables.

Además, el compuesto puede ser administrado en forma de supositorios para la administración rectal del fármaco. Estas composiciones pueden ser preparadas mezclando el fármaco con cualquier excipiente adecuado no irritante que es sólido a temperaturas normales pero líquido a temperatura rectar y por lo tanto se derretirá en el recto para liberar el fármaco. Tales materiales incluyen, por ejemplo, manteca de cacao y glicoles de polietileno. Las formulaciones adecuadas para la administración vaginal pueden ser presentadas como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, y espumas.

Las formulaciones adecuadas para la administración tópica pueden ser presentadas como crema, gel, pastas, o espumas, conteniendo además del ingrediente activo, los portadores que son conocidos en el estado de la técnica como apropiados.

La composición puede ser hecha en una formulación de aerosol para ser administrada por inhalación. Tales formulaciones de aerosol pueden ser colocadas en propelentes aceptables presurizados, como el clorodifluorometano, propano, nitrógeno, y similares. También pueden ser formuladas como farmacéuticos para preparaciones no presurizadas como en un nebulizador o un atomizador.

Las formulaciones pueden ser presentadas en contenedores sellados monodosis o multidosis, como ampollas y viales, y pueden ser guardadas en condición liofilizada requiriendo sólo la adición del excipiente líquido estéril, por ejemplo, agua, para inyecciones, inmediatamente antes del uso. Se pueden preparar soluciones y

suspensiones de inyección extemporáneas para polvos estériles, gránulos y comprimidos del tipo descrito anteriormente.

5 Cualquier nivel de dosificación puede ser empleado en las composiciones farmacéuticas. La dosis administrada a un animal, particularmente un humano, en el contexto de la presente invención debería ser suficiente para provocar una respuesta profiláctica o terapéutica en el animal en una franja de tiempo razonable. La cantidad de ingrediente activo que puede ser combinada con los materiales portadores para producir una única forma de dosificación variarán dependiendo del huésped tratado y el modo particular de administración. El tamaño de la dosis será también determinada por la existencia, naturaleza, y extensión de cualquier efecto secundario adverso que pueda acompañar la administración de una composición particular. Las dosis adecuadas y los regímenes de dosificación para la prevención de la resistencia al fármaco pueden ser determinados por comparaciones con los agentes quimioterapéuticos antirretrovirales que se sabe inhiben la proliferación de un retrovirus en un individuo infectado. La dosificación preferida es la cantidad que resulta en la inhibición de la aparición de retrovirus resistentes a los fármacos mutantes, particularmente la aparición de VIH retroviral resistente a múltiples fármacos, sin efectos secundarios significativos. En dosis apropiadas y con la administración adecuada de ciertos compuestos, son posibles un amplio rango de composiciones quimioterapéuticas antirretrovirales. Una dosis adecuada incluye una dosis o dosificación que sería insuficiente para suprimir completamente el crecimiento de un virus de tipo salvaje o predecesor, pero sería suficiente para inhibir o suprimir efectivamente el crecimiento de un mutante.

10 Las dosificaciones diarias individuales para combinaciones con un agente antiviral seleccionado del grupo consistente de títonavir, indinavir y saquinavir pueden variar de alrededor de una quinta parte de las dosis mínimas clínicamente recomendadas a los niveles máximos recomendados para las entidades cuando son dadas individualmente.

15 Se puede proporcionar un método de prevenir la aparición de retrovirus resistentes a múltiples fármacos en un mamífero infectado con VIH, el método comprende administrar al mamífero una cantidad efectiva inhibidora de la resistencia a múltiples fármacos de un compuesto de la presente invención, para inhibir la aparición de un retrovirus resistente a múltiples fármacos en el mamífero. La dosis administrada a un animal, particularmente a un humano en el contexto de la presente invención, debe ser suficiente para producir una respuesta terapéutica en el animal en una franja de tiempo razonable. La dosis será determinada por la fuerza de la composición particular empleada y la condición del animal, así como por el peso corporal del animal a ser tratado. El tamaño de la dosis será también determinada por la existencia, madurez, y extensión de cualquier efecto secundario adverso que pueda acompañar a la administración de un compuesto particular. Otros factores que afectan a la dosificación adecuada incluyen, por ejemplo, la biodisponibilidad, el perfil metabólico, y las farmacodinamias asociadas con el compuesto particular a ser administrado en un paciente particular. Alguien experto en la materia reconocerá que el nivel de dosificación adecuado para cualquier paciente particular dependerá de una variedad de factores incluyendo, por ejemplo, la actividad del compuesto específico empleado, la edad, el peso corporal, salud general, sexo, dieta, tiempo de administración, ruta de administración, tasa de excreción, combinación de fármacos, recuento de CD4, la potencia del compuesto activo con respecto a la cepa retroviral mutante particular a ser inhibida, y la severidad de los síntomas presentes antes o durante el transcurso de la terapia. Lo que constituye una cantidad efectiva inhibidora de la resistencia puede ser determinada, en parte, por el uso de uno o más de los análisis descritos en la presente, particularmente el análisis de condición de la presente invención.

20 Alguien experto en la materia apreciará que los métodos adecuados para administrar compuestos y las composiciones farmacéuticas están disponibles, y a pesar que se puede usar más de una ruta para administrar una composición particular, una ruta particular puede proporcionar una reacción más inmediata y/o más efectiva que otra ruta.

25 Se han identificado numerosos compuestos que muestran actividad antirretroviral potente, en particular actividad de proteasa retroviral, contra el VIH de tipo salvaje. Sin embargo, entre los quince agentes antirretrovirales actualmente aprobados por la FDA que son todos conocidos como inhibidores potentes del VIH de tipo salvaje, cinco de ellos son inhibidores potentes de la proteasa del VIH de tipo salvaje, ninguno de estos compuestos tiene la capacidad de prevenir la aparición de mutaciones resistentes a los fármacos que están asociadas con un alto nivel de resistencia cruzada. Por lo tanto, estos inhibidores no tienen la habilidad de suprimir retrovirus mutantes suficientemente adecuados que pueden (y casi seguro que lo harán) aparecer bajo la presión de selección de estos inhibidores.

30 Sorprendentemente, se ha descubierto que el compuesto 32 (mostrado en la Figura 3^a), que es un potente inhibidor del VIH de tipo salvaje, posee una actividad inhibidora de amplio espectro potente y sin precedentes contra un grupo de objetivos de proteasa de VIH mutante recombinante. Estas enzimas representan las mutaciones de resistencia primaria o claves, la mayoría de las cuales ocurren en la región del sitio activo. Basándonos en este descubrimiento, el compuesto fue probado contra un grupo de aislados de pacientes mutantes resistentes a los

fármacos del VIH y se encontró que poseía un amplio espectro de actividad antiviral contra un amplio rango de virus de la inmunodeficiencia humana clínicamente aislados, resistentes a múltiples fármacos. Otros compuestos descritos en la presente mostraron una actividad similar. Los virus mutantes fueron obtenidos de humanos infectados que habían recibido varios fármacos antivirales. A pesar de que los solicitantes no desean profundizar en una teoría particular, se cree que la combinación del ligando bicíclico (vii) con el isómero (vi) da a los compuestos retrovirales de la presente invención la capacidad única de enlazar con el sitio activo de las proteasas mutantes de múltiples virus de la inmunodeficiencia humana resistentes a los fármacos en general, esta característica no ha sido hasta ahora informada respecto a ningún quimioterapéutico y/o inhibidor de la proteasa del VIH experimental. Se utilizó una criba preliminar de tipo salvaje para determinar la actividad antirretroviral de los análogos contra el VIH del tipo salvaje. Se predice que los compuestos de Fórmula (I), que tienen una potente actividad antirretroviral o inhibidora de la proteasa contra el VIH de tipo salvaje, serán también potentes inhibidores de la resistencia a los fármacos, incluso de la resistencia a múltiples fármacos, en el VIH del tipo salvaje, o incluso en un mutante del mismo.

Los compuestos inhibidores de la resistencia de la presente invención pueden ser sintetizados por cualquier método adecuado conocido en la técnica. El método preferido de síntesis es ilustrado en general en la Figura 4, que es una representación de la aproximación sintética para preparar unas series preferidas de compuestos, en donde un compuesto de Fórmula (I) es sintetizado en varios pasos empezando de un azidoepóxido (i), en donde R^1 - R^{17} , m, n, p, Q, W, X, y, y z son como se define anteriormente. En referencia a la Figura 4, la amina (ii) es añadida nucleofílicamente al azidoepóxido (i), proporcionando aminoalcohol (iii). El grupo funcional amino de aminoalcohol (iii) es entonces reaccionado con un intermediario (iv), en donde L representa un grupo saliente (por ejemplo, halógeno, N-oxisuccinimida), que puede ser desplazado por el amino de aminoalcohol (iii), para proporcionar azido (v). La reducción del azido (v), o, cuando R^5 no es hidrógeno, la aminación reductiva con aldehído $R^5CH=O$, proporciona el intermediario (vi), que es posteriormente acoplado con el ligando bicíclico activado (vii), para proporcionar compuestos de Fórmula I. Por supuesto, se apreciará por una persona con un conocimiento ordinario de la técnica que hay combinaciones de sustituyentes, grupos funcionales, grupos R, y similares, que son reactivos bajo condiciones de reacción particulares, y requieren la utilización de un grupo o grupos protectores apropiados, que son conocidos en la técnica, para asegurar que la deseada transformación sintética tenga lugar sin la aparición de reacciones secundarias no deseadas. Por ejemplo, posibles sustituyentes en R^5 (por ejemplo NH_2) pueden ser nucleófilos competitivos que requieren la unión de un grupo protector apropiado en los mismos (por ejemplo, benziloxicarbonilo, t-terbutoxicarbonilo) para obtener la selectividad adecuada en la apertura del anillo de epóxido (i) con la amina (ii).

Las Figuras 1-3B ilustran la síntesis de una serie preferida de compuestos para el uso en el método de prevenir la aparición de la resistencia de acuerdo con la presente invención. La Figura 1, que es un esquema sintético para la síntesis de una sulfonamida particular, ilustra la síntesis de un núcleo isostérico preferido. Particularmente, el núcleo isostérico de sulfonamida representado por la aminosulfonamida 15. Con referencia a la Figura 1, el núcleo de aminosulfonamida 15 puede ser sintetizado inicialmente proporcionando azido epóxido 11 y sometándolo a adición nucleofílica con la amina 12 para producir el aminoalcohol 13, que es posteriormente convertido a la sulfonamida 14 por reacción con cloruro de 4-metoxibencenosulfonilo. El grupo azido del 14 es después reducido para proporcionar la aminosulfonamida 15, que puede ser usada como un núcleo para sintetizar numerosos inhibidores de la proteasa retroviral resistente a múltiples fármacos de la presente invención.

La Figura 2, que es un esquema de reacción detallando la preparación de alcoholes bicíclicos, ilustra la síntesis de una serie preferida de ligandos bicíclicos, particularmente los bis-tetrahidrofuranos 25 y 26. Con referencia a la Figura 2, el dihidrofurano 21 es tratado con N-iodosuccinimida en presencia de alcohol propargílico para producir iodoéter 22, que es ciclado al metileno sustituido bis-tetrahidrofurano 23. La ozonólisis del residuo de exo-metileno de 23, seguida por reducción, proporciona el alcohol racémico bicíclico 24, que es resuelto para proporcionar, separadamente, el alcohol bicíclico 25 y su éster de acetato enantiomérico 26, el grupo éster de 26 es posteriormente hidrolizado para proporcionar el enantiómero 27.

Las Figuras 3A y 3B, que son esquemas de reacción describiendo la preparación de dos inhibidores de la proteasa, ilustran la preparación de dos inhibidores de la proteasa del VIH resistente a múltiples fármacos preferidos. Con referencia a la Figura 3A, el compuesto 32 fue sintetizado acoplando el succinimidocarbonato 31 con la aminosulfonamida 15. El succinimidocarbonato 31 fue preparado reaccionando ópticamente el alcohol bicíclico puro 25 con carbonato de disuccinimidilo en presencia de trietilamina. El inhibidor 37, que posee el ligando bis-tetrahidrofurano enantiomérico (en relación con el inhibidor 32), fue preparado de la misma manera, excepto que el alcohol bicíclico enantiomérico 27 fue usado en lugar del alcohol 25, como se muestra en la Figura 3B.

Los siguientes ejemplos ilustran más la invención pero, por supuesto, no se debe interpretar de ningún modo que limitan su alcance.

Ejemplo 1

Este ejemplo describe la síntesis del epóxido ejemplar 11 (Figura 1), que es usado como un intermediario en la síntesis de una serie particular de compuestos.

5 Se añadió anhídrido CuCN (4,86 g, 54 mmol) a una solución de monóxido de butadieno (38 g, 540 mmol) en tetrahidrofuran anhidro (1,2 L) y la mezcla resultante fue agitada a -78° C. Se añadió una solución de bromuro de fenil magnesio comercial (Aldrich) en éter (65 mmol) gota a gota durante un periodo de 10 min. Después se permitió a la mezcla de la reacción resultante calentarse a 0° C y se continuó agitando hasta que la mezcla de la reacción fue homogénea. Tras este periodo, la mezcla de la reacción fue enfriada a -78° C y se añadió 0,58 mol de solución de bromuro de fenilmagnesio en éter gota a gota durante 30 min. Se permitió que la mezcla de la reacción se calentase a 23° C durante 1 h. La reacción fue extinguida por adición lenta de NH₄Cl acuoso saturado (120 mL) seguido por NH₄OH (70 mL), NH₄CL saturado (500 mL) y después H₂O (300mL). La capa acuosa fue exhaustivamente extraída con acetato de etilo (2 x 300mL). Las capas orgánicas combinadas fueron secadas sobre Na₂SO₄ anhidro, filtradas, y concentradas bajo presión reducida. El residuo fue destilado al vacío (0,12 torr) a 95° C para producir trans-4-fenil-2-buteno-1-ol (75,6 g).

15 A una suspensión de tamices moleculares 4Å en polvo (6,6 g) en cloruro de metileno anhidro (750mL), se le añadió tetraisopropóxido de titanio (Aldrich, 3,2 mL) y después dietil D-tartrato (2,3 mL). La mezcla resultante fue enfriada a -22° C y se añadió una solución terc-butilhidroperóxido en isooctano (aldrich, 430 mmol) durante un periodo de 10 min. La mezcla fue agitada 30 minutos adicionales y después de añadió gota a gota un asolución de trans-4-fenil-2-buteno-1-ol (32,6 g, 213 mmol), en cloruro de metileno anhidro (120 mL) durante un periodo de 40 min a -22° C. La mezcla de la reacción fue después envejecida en un congelador a -22° C durante 24 h. Tras este periodo, se añadió agua (100 mL) a la mezcla de la reacción a -22° C y se permitió a la mezcla calentarse a 0° C. Tras agitación a 0° C durante 45 min, se añadió un 20% de NaOH en salmuera (20 mL). Se permitió entonces que la mezcla resultante calentase a 23° C y fue agitada a esa temperatura durante 1 h. Tras este periodo, las capas fueron separadas y la capa acuosa fue extraída con cloruro de metileno (2 x 200 mL). Las capas orgánicas combinadas fueron secadas sobre Na₂SO₄ anhidro y concentradas bajo presión reducida. El residuo fue diluido con tolueno (800 mL) y después evaporado bajo presión reducida. El residuo fue cromatografiado sobre gel de sílice (35% acetato de etilo en hexano como eluyente) para proporcionar (2R, 3R)-epoxi-4-fenilbutano-1-ol (21,8 g).

20 A una solución isopropóxido de titanio (12 mL) en benceno anhidro (250 mL) se le añadió azidotrimetilsilano (11 mL) y la mezcla resultante fue sometida a reflujo durante 6 h. Se añadió una solución (2R, 3R)-epoxi-4-fenilbutano-1-ol (5,32 g) en benceno anhidro (25 mL) a la mezcla sometida a reflujo anterior. La mezcla resultante fue sometida a reflujo durante 25 min adicionales. Tras este periodo, la mezcla de la reacción fue enfriada a 23° C y la reacción fue extinguida con un 5% de H₂SO₄ acuoso (400 mL). La mezcla resultante fue agitada durante 1 h y las capas fueron separadas e la capa acuosa fue extraída con acetato de etilo (2 x 300 mL). Las capas orgánicas combinadas fueron lavadas con NaHCO₃ saturado (200 mL), secadas sobre Na₂SO₄ y concentradas bajo presión reducida para proporcionar el (2S,3S)-2-hidroxi-3-azido-4-fenilo-butanol-12-ol (5,1 g) como un sólido blanco (mp 81-82° C).

35 A una solución agitada de azidodiol (5,1 g) en cloroformo (100 mL) a 23° C, se le añadió cloruro de 2-acetoxiisobutiril (Aldrich, 5 mL). La mezcla de la reacción resultante fue agitada a 23° C durante 8 h. La reacción fue extinguida por la adición de bicarbonato sódico saturado (100 mL) y la mezcla resultante fue agitada 30 min. Las capas fueron separadas y la capa acuosa fue extraída con cloroformo (2 x 200 mL). La capa orgánica combinada fue extraída con cloroformo (2 x 200 mL). Las capas orgánicas combinadas fueron secadas sobre Na₂SO₄ y evaporadas bajo presión reducida. El residuo resultante fue disuelto en THF anhidro (50 mL) y se le añadió NaOMe sólido (2,1 g). La mezcla fue agitada durante 4 h a 23° C y tras este periodo, la reacción fue extinguida con NH₄Cl saturado (50 mL). La mezcla resultante fue extraída con acetato de etilo (2 x 200 mL). Las capas orgánicas combinadas fueron secadas sobre Na₂SO₄ anhidro y concentradas bajo presión reducida para dar un residuo, que fue cromatografiado sobre gel de sílice (10% acetato de etilo en hexanos) para proporcionar el 3(S)-azido-(1,2R)-epoxi-4fenilbutano 11 (3,3 g) en forma de aceite: ¹H NMR (300 MHz): CDCl₃; 8 7.4-7.2 (m, 5H.), 3.6 (m, 1H), 3.1 (m, 1H), 2.95 (dd, 1H, J = 4.6, 13.9 Hz), 2.8 (m, 3H).

Ejemplo 2

50 Este ejemplo ilustra la síntesis del azidoalcohol 13 (Figura 1), que puede ser usado como un intermediario en la síntesis de una serie preferida de

A una solución agitada del azidoepóxido anterior 11 (700 mg, 3,7 mmol) en isopropanol (70 mL) se le añadió isubutilo amina (ALdrich, 0,74 mL 7,4 mmol) y la mezcla resultante fue calentada a 80° C durante 12 h. Tras este periodo, la mezcla de la reacción fue concentrada bajo presión reducida y el residuo fue cromatografiado sobre gel de sílice para proporcionar azidoalcohol 13 (800 mg) en forma de aceite.

Ejemplo 3

Este ejemplo ilustra la síntesis de azidosulfonamida 13, la estructura de la cual se muestra en la Figura 1.

A una solución agitada de 13 (600 mg, 2,28 mmol) en CH_2Cl_2 (20 mL) se le añadió cloruro de 4-metoxibencenosulfonamida (Aldrich, 530mg, 2,52 mmol) y NaHCO_3 acuoso saturado (6 mL). La mezcla heterogénea resultante fue agitada a 23° C durante 12 h. La reacción fue diluida con CH_2Cl_2 y las capas fueron separadas. La copa orgánica fue lavada con salmuera, secada sobre sulfato de magnesio anhidro y concentrada hasta la sequedad. El residuo fue cromatografiado sobre gel de sílice (25% acetato/hexano de etilo) para proporcionar 900 mg de azidosulfonamida 14.

Ejemplo 4

Este ejemplo ilustra la preparación de aminosulfonamida 15 por la reducción de azidosulfonamida 14, como se muestra en la Figura 1.

Una solución de 14 (1,53 g) en THF (45 mL), MeOH 10 mL) y ácido acético (0,5 mL), fue agitada con 10% de paladio en un catalizador de carbono (200 mg) a una presión de hidrogeno de 50 psi durante 2 h. La eliminación del catalizador por filtración sobre celita y la concentración bajo presión reducida dio un residuo bruto, que fue diluido con CH_2Cl_2 (100 mL), y fue lavado sucesivamente con NaHCO_3 acuoso saturado y salmuera. La capa orgánica fue secada sobre MgSO_2 y concentrada para proporcionar la correspondiente aminosulfonamida 15 (1,2 g).

Ejemplo 5

Este ejemplo demuestra la síntesis de trans-2-(propargiloxi)-2-iodotetrahidrofurano 22 (Figura 2).

A una suspensión agitada, helada de 15 g (66,6 mmol) de N-iodosuccinimida en 150 mL de CH_2Cl_2 se le añadió una mezcla de dihidrofurano 21 (66,6 mmol, 4,67 g, 5,1 mL) y alcohol propargílico (100 mmol, 5,0 g, 5,2 mL) de 50 mL de CH_2Cl_2 durante 20 min. Tras calentamiento a 24° C con agitación durante 2 h, se le añadieron 200 mL de agua y la agitación continuo durante 1 h. Las capas fueron separadas y la capa acuosa fue extraída con 2 x 100 mL de CH_2Cl_2 . Los extractos orgánicos combinados fueron lavados con una solución de salmuera conteniendo una pequeña cantidad de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (70 mg), secados sobre Na_2SO_4 anhidro, filtrados, y concentrado. La cromatografía sobre gel de sílice utilizando un 30% de acetato de etilo en hexano proporcionó (15,4 g, 92%) el iodoéter de título 22 en forma de aceite.

Ejemplo 6

Este ejemplo ilustra la síntesis de (\pm)-(3aR, 6aS) y (3aS, 6aR)-3-metileno-4H-hexahidrofuro-[2,3-b]furano 23, como se muestra en la Figura 2.

A una solución sometida a reflujo de (20,7 mL, 77 mmol) hidruro de tributilestano conteniendo AIBN 8100 mg) en tolueno (200 mL) se le añadió gota a gota una solución de 15,4 g (61 mmol) de iodotetrahidrofurano 22 en tolueno (55 mL) durante un periodo de 1 h. La mezcla resultante fue agitada en reflujo durante 4 h adicionales (monitoreada por TLC). La mezcla fue después enfriada a 23° C y concentrada bajo presión reducida. El residuo fue particionado entre éter de petróleo y acetonitrilo (200 mL de cada) y la capa de acetonitrilo (más baja) fue concentrada. El residuo fue purificado por cromatografía en gel de sílice, utilizando un 10% de acetato de etilo en hexano como el eluyente para proporcionar el producto de título 23 (5,84 g, 76%) en forma de aceite.

Ejemplo 7

Este ejemplo demuestra la síntesis de (\pm)-(3SR, 3aRS, 6aS) y (3R, 3aS, 6aR)-3-hidroxi-4H-hexahidrofuro[2,3-b]furano 24, como se muestra en la Figura 2.

Una corriente de ozono fue dispersada en una solución de 15 (5,84 g, 46,4 mmol) a -78° C en 150 mL de metanol y 150 mL de CH_2Cl_2 durante 30 min. La solución azul resultante fue purgada con nitrógeno hasta descolorarse, después extinguida con 20 mL de sulfuro de dimetil y se permitió que la mezcla resultante se calentara a 23° C. La mezcla fue concentrada bajo presión reducida para proporcionar cetona bruta. La cetona bruta resultante fue disuelta en etanol (50 mL) y la solución fue enfriada a 0° C y se añadió borohidruro de sodio (2,1 g, 55,6 mmol). La mezcla de la reacción fue agitada durante dos h adicionales a 0° C y después extinguida con un 10% de ácido cítrico acuoso (10 mL). Las capas orgánicas combinadas fueron secadas sobre Na_2SO_4 anhidro y concentradas cuidadosamente bajo presión reducida. El residuo resultante fue cromatografiado sobre gel de sílice utilizando un 30% de acetato de etilo en hexano como el eluyente para suministrar (4,52 g, 75%) el alcohol racémico de título 24 en forma de aceite.

Ejemplo 8

Este ejemplo ilustra la preparación de la Amano Lipasa inmovilizada 30, que fue usada para resolver el aminoalcohol racémico 24 (Figura 2).

Se cargaron 4 g de Celite® 521 (Aldrich) comercialmente disponible en un embudo Buchner y se lavaron sucesivamente con 50 mL de agua desionizada y 50 mL de amortiguador de fosfato 0,05 N (pH = 7,0; Fisher Scientific). La celita lavada fue después añadida a una suspensión de 1 g de Amano Lipasa 30 en 20 mL de amortiguador de fosfato 0,05 N. La mezcla resultante fue esparcida en una fuente de cristal y se permitió que secase al aire a 23° C durante 48 h (peso 5,4 g, contenido de agua alrededor del 2% por el método Fisher).

Ejemplo 9

Este ejemplo demuestra la síntesis de (3R, 3aS, 6aR) 3-hidroxihexahidrofuro[2,3-b]furano 25 por acilación catalizada por lipasa inmovilizada, como se ilustra en la Figura 2.

5 A una solución agitada de alcohol racémico 24 (2 g, 15,4 mmol) y anhídrido acético (4 g, 42,4 mmol) en 100mL de DME se le añadió 2,7 g (alrededor del 25% por peso de lipasa PS30) de Amano lipasa inmovilizada y la suspensión resultante fue agitada a 23° C. La reacción fue monitorizada por TLC y análisis ¹H-NMR hasta que se llegó al 50% de la conversión. La mezcla de la reacción fue filtrada y la torta del filtro fue lavada repetidamente con acetato de etilo. El filtrado combinado fue cuidadosamente concentrado en un evaporador rotatorio, manteniendo la temperatura del baño por debajo de 15° C. El residuo fue cromatografiado sobre gel de sílice para proporcionar 843 mg (42%) de 25 (95% ee; α_D^{23} -11,9°, MeOH); ¹H-NMR (CDCl₃) d 1.85 (m, 2H), 2.3 (m, 1H), 2.9 (m, 1H), 3.65 (dd, J=7.0, 9.1, 1H), 3.85-4.0(m, 3H), 4.45 (dd, J=6.8, 14.6, 1H), 5.7 (d, J=5.1, 1H); también 1,21 g de 26 tras lavado don un 5% de carbonato sódico acuoso (45%, α_D^{23} +31.8°, MeOH); ¹H-NMR (CDCl₃)d 1.85-2.1(m, 2H), 2.1 (s, 3H), 3.1 (m, 1H), 3.75(dd, J=6.6, 9.2, 1H), 3.8-4.1 (m, 3H), 5.2 (dd, J=6.4, 14.5, 1H), 5.7 (d, J=5.2, 1H). El acetato 26 fue disuelto en THF (mL) y se le añadió solución de LiOH acuosa 1 M (20 mL). La mezcla resultante fue agitada a 23° C durante 3 h y la reacción fue extraída con cloroformo (3 x 25 mL). Las capas orgánicas combinadas fueron secadas sobre Na₂SO₄ anhidro y evaporadas bajo presión reducida. El residuo fue cromatografiado sobre gel de sílice para proporcionar 733 mg de 27 (97% ee; α_D^{23} -12,5°, MeOH).

Ejemplo 10

20 Este ejemplo demuestra la síntesis de carbonatos activados 31 y 33, como se ilustran en las Figuras 3A y 3B.

A una solución agitada de [3R, 3aS, 6aS]-3-hidroxihexahidrofuro[2,3-b]furano 25 (65 mg, 0,5 mmol) en CH₃CN (5 mL) seco a 23° C se le añadieron carbonato de disuccinimidilo (192 mg, 0,75 mmol) y trietilamina (0,25 mL). La mezcla resultante fue agitada a 23° C durante 12 h. La reacción fue extinguida con NaHCO₃ acuoso saturado (10 mL) y la mezcla fue concentrada bajo presión reducida. El residuo fue extraído con CH₂Cl₂ (2 x 25 mL) y las capas orgánicas combinadas fueron lavadas con salmuera (10 mL) y secadas sobre Na₂SO₄ anhidro. La evaporación del disolvente bajo presión reducida produjo un residuo, que fue cromatografiado sobre gel de sílice (50% de acetato/hexano de etilo) para proporcionar carbonato (3R, 3aS, 6aR) 3-hidroxihexahidrofuro[2,3-b]furanilo-succinimidilo (70 mg) en forma de aceite marrón. El carbonato 33 (65 mg) fue preparado de 60 mg de alcohol 27 siguiendo un procedimiento similar.

Ejemplo 11

Este ejemplo ilustra la preparación de un inhibidor de VIH resistente a múltiples fármacos 32, como se ilustra en la Figura 3A.

35 A una solución agitada de amina 15 (82 mg, 0,2 mmol) en CH₂Cl₂ seco (5 mL) se le añadió carbonato de succinimidilo 31 (55 mg, 0,18 mmol). La solución resultante fue agitada a 23° C durante 12 h. Tras este periodo, la reacción fue extinguida con NaHCO₃ acuoso saturado (10 mL) y diluida con CH₂Cl₂ (25 mL). Las capas fueron separadas y la capa orgánica fue lavada con salmuera (15 mL) y secada sobre Na₂SO₄ anhidro. La evaporación del disolvente bajo presión reducida proporcionó un residuo, que fue purificado por cromatografía de gel de sílice (75% acetato/hexano de etilo) para producir un compuesto 32 (85 mg) como un sólido blanco (m.p 55-58°C). ¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz); δ 7.71 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.29-7.20(m, 5H), 6.99 (d,2H,J=7.0Hz), 5.65 (d,1H,J=5.19), 5.01 (m, 2H), 3.95-3.82 (m, 7H), 3.69 (m,2H), 3.0-2.7 (m, 6H), 1.85(m, 1H), 1.64-1.45 (m, 3H), 0.90 (dos d, 6H, J=6.5Hz, 6.6 Hz).

Ejemplo 12

Este ejemplo ilustra la preparación de un inhibidor de VIH resistente a múltiples fármacos 33, como se ilustra en la Figura 3B.

45 El carbonato 33 (55 mg) fue redactado con amina 15 (82 mg, 0,2 mmol) de acuerdo con el pocedimento mencionado arriba para proporcionar el compuesto 34 (81 mg). ¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz); δ 7.69(d, 2H, J=8.8 Hz), 7.28-7.21 (m,5H), 6.87(d,2H,J=5.84 Hz), 5.67 (d,1H,J=5.46 Hz), 5.0 (m, 2H), 3.86-3.81 (m, 7H), 3.58 (dd, 2H, J=6.6 Hz, 3.6 Hz, 3.17-2.73 (m, 6H), 2.17-1.83 (m, 4H), 0.90 (two d, 6H, J=6.5Hz, 6.6 Hz).

Ejemplo 13

50 Este ejemplo describe el protocolo para el análisis fluorogénico continuo sensible para la proteasa del VIH y su aplicación. Utilizando este análisis, la actividad inhibitoria del compuesto 32 (Fig. 3A) fue probado contra las proteasas del VIH-1 de tipo salvaje (WT) y varios enzimas mutantes: D30N, V32I, I84V, V32I/I84V, M46F/V82A, G48V/L90M, V82F/I84V, V82T/I84V, V32I/K45I/F53L/A71V/I84V/L89M, V32I/L33F/K45I/F53L/A71V/I84V, and 20R/36I/54V/71V/82T, cuyas enzimas de proteasa están disponibles del Dr. John W. Erickson, Structural Biochemistry Program, SAIC Frederick, P.O. Box B, Frederick, MD 21702-1201, bajo petición escrita. Fueron medidas la constante de inhibición para el VIH-1 de tipo salvaje, la proporción K_{imnt}/K_{iwt} , y la vitalidad. (Ver Gulnik y otros, Biochemistry, 34, 9282-9287 (1995). La actividad de proteasa fue medida utilizando el sustrato fluorogénico

Lys-Ala-Arg-Val-Tyr-Phe(NO₂)-Glu-Ala-Nle-NH₂ (Bachem Bioscience, Inc.) (Ver Peranteau y otros, D.H. (1995) Anal. Biochem.).

Típicamente, se mezclaron 490 µl de amortiguador 0.125 M ACES-NaOH, pH 6,2, conteniendo 1,25 M (NH₄)₂SO₄, 6,25 mM DTT y un 0,1% PEG-8000 con 5 µl de proteasa valorada (concentración final 1-5 nM) y se incubaron 3 minutos a 37° C. La reacción fue iniciada por la adición de 5 µl de solución madre de sustrato en agua. El aumento en la intensidad de la fluorescencia a la máxima emisión de 306 nm (la longitud de onda de excitación fue 277 nm) fue monitorizada como una función de tiempo usando el espectrómetro de luminiscencia Aminco Bowman-2 (SLM Instruments, Inc.). La tasa inicial de hidrólisis fue calculada por ajuste polinómico de segundo grado utilizando el software operativo SLM AB2 2.0. Los parámetros cinéticos fueron determinados por ajuste de regresión no lineal de la tasa inicial frente a los datos de concentración del sustrato a la ecuación Michaelis-Menten utilizando el programa Enzfiter versión 1,05.

Para estudios de inhibición, los inhibidores fueron preparados como soluciones madre a diferentes concentraciones en dimetilsulfóxido. En un experimento típico se mezclaron 485 µl de amortiguador 0.125 M ACES-NaOH, pH 6,2, conteniendo 1,25 M (NH₄)₂SO₄, 6,25 mM DTT y un 0,1% PEG-8000 con 5 µl de solución madre de inhibidor y 5µl de proteasa valorada (concentración final de 1-5 nM) y preincubada 3 minutos a 37° C. LA reacción fue iniciada por la adición de 5µl de solución madre de sustrato en agua. Para el análisis de datos, se usó el modelo matemático para inhibidores de enlace estrecho. (Ver Williams y Morrison (1979), In: Methods of Enzymol. 63 (ed. D.L. Purich), 437-467, Academic Press, NY, London). Los datos fueron ajustados por análisis de regresión no lineal a la ecuación: $V = V_0 / 2E_t \{ [K_i(1+S/K_m) + I - E_t]^2 + 4K_i(1+S/K_m)E_t \}^{1/2} - [K_i(1+S/K_m) + I - E_t]$ con el programa Enzfiter (versión 1.05), en donde V y V₀ son las velocidades iniciales con y sin inhibidor, respectivamente, K_m es una constante de Michaelis-Menten, y S, E_t y I son las concentraciones de sustrato, enzima activo, e inhibidor, respectivamente. La condición bioquímica de cada mutante fue determinada por comparación de la vitalidad bioquímica de cada mutante (vitalidad_{mit}) con la vitalidad bioquímica de la referencia de tipo salvaje (vitalidad_{wt}), de acuerdo a la Formula

$$(vitalidad_{mit}) / (vitalidad_{wt}) ,$$

en donde la vitalidad es (K₁) (k_{cat}/K_M). Los resultados de muestran a continuación en la Tabla 1.

Tabla 1
Compuesto 32

| Enzima | K ₁ (pM) | K _{i-mut} / K _{i-wt} | Condición Bioquímica |
|--------------------------------|---------------------|--|----------------------|
| WT | 14 | 1 | 1 |
| D30N | <5 | 0.33 | 0.3 |
| V32I | 8 | 0.57 | 0.5 |
| I84V | 40 | 2.85 | 1 |
| V32I/I84V | 70 | 5 | 0.7 |
| M46F/V82A | <5 | 0.33 | 0.1 |
| G48V/L90M | <5 | 0.33 | 0.1 |
| V82F/I84V | 7 | 0.5 | 0.1 |
| V82T/I84V | 22 | 1.57 | 0.1 |
| V32I/K45I/F53L/A 71V/I84V/L89M | 31 | 2.2 | 0.1 |
| V32I/L33F/K45I/F 53L/A71V/I84V | 46 | 3.3 | 0.1 |
| 20R/36I/54V/71V/82T | 31 | 2.2 | 0.1 |

Los resultados anteriores demuestran que el compuesto 32 es un potente inhibidor de múltiples mutantes de la proteasa del VIH que contienen las mutaciones de resistencia a fármacos primarias o claves. Estos datos predicen que el compuesto 32 tendrá una actividad antirretroviral resistente a múltiples fármacos potente y de amplio espectro. Además, la condición bioquímica de cada mutante en relación con el tipo salvaje es igual o menor que uno en presencia del compuesto 32. Basándonos en este perfil de condición, se cree que los virus resistentes a los fármacos conteniendo las mutaciones características analizadas en la presente no surgirán del tipo salvaje en presencia del compuesto 32

Ejemplo 14

Este ejemplo ilustra la actividad antirretroviral resistente a múltiples fármacos potente y de amplio espectro de un compuesto ejemplar de la presente invención.

El compuesto 32, mostrado en la Figura 3A, fue probado en conjunto con otros cuatro inhibidores de la proteasa del VIH-1 conocidos contra varias cepas de VIH-1 de tipo salvaje (VIH-1_{BRS104pre}, VIH-1_{LAI}, y VIH-1_{BAL}), y cepas de VIH-1 resistente a múltiples fármacos mutantes clínicamente aisladas de ocho pacientes diferentes que habían recibido numerosos fármacos antivirales, ya sea individualmente o en combinación. Los pacientes de los que las cepas mutantes fueron aisladas tenían una historia de terapia anti-VIH con una variedad de diferentes fármacos como, por ejemplo, ritonavir, saquinavir, indinavir, amprenavir, AZT, ddl, ddC, d4T, 3TC, ABV (abacavir), DLV (delaviridina), y PFA (foscarnet). Los perfiles de los pacientes se muestran a continuación en la Tabla 2.

Tabla 2

| Paciente/Código aislado | CD4 ⁺ (/mm ³) | Nivel RNA VIH-1 (copias/mL) | Meses en Terapia Antiviral | Terapia Anti VIH actual y previa |
|-------------------------|--------------------------------------|-----------------------------|----------------------------|---|
| 1 | 361 | 246,700 | 64 | AZT, ddl, ddC, d4T, 3TC, ABV, IDV, RTV, SQV, AMV, DLV |
| 2 | 3 | 553,700 | 46 | AZT, ddl, ddC, d4T, 3TC, ABV, IDV, SQV, AMV |
| 3 | 108 | 42,610 | 39 | AZT, ddl, ddC, d4T, 3TC, ABV, IDV, SQV, AMV |
| 4 | 560 | 60,000 | 81 | AZT, ddl, ddC, U90, d4T, 3TC, ABV, IDV, SQV, AMV |
| 5 | - | - | 32 | AZT, ddl, ddC, d4T, 3TC, ABV, IDV, SQV, AMV |
| 6 | - | - | 34 | AZT, ddl, ddC, d4T, 3TC, ABV, IDV, SQV, AMV |
| 7 | - | - | 83 | AZT, ddl, ddC, d4T, 3TC, ABV, IDV, SQV, RTV, AMV |
| 8 | - | - | 69 | AZT, ddl, ddC, d4T, 3TC, PFA, ABV, IDV, SQV, AMV |

Los cuatro inhibidores de la proteasa del VIH quimioterapéuticos conocidos usados para propósito comparativo en este ejemplo han sido utilizados en quimioterapia de VIH humana real, y son; Ritonavir ("RTV", Abbott Laboratories); Indinavir ("IDV", Merck Research Laboratories); Amprenavir (AMV, Ver Ghosh y otros, Bioorg. Med. Chem. Lett., 8, 687-690 (1998)); y Saquinavir ("SAQ", Roche Research Centre). Los valores de IC₅₀ (μM) para los cinco compuestos fueron determinados con respecto a un VIH-1 resistente a múltiples fármacos y de tipo salvaje.

Para determinar la actividad inhibidora de la proteasa contra el VIH resistente a múltiples fármacos, los IC₅₀ fueron medidos frente a un grupo de aislados de VIH mutante clínicamente aislados. Los IC₅₀ fueron determinados utilizando el PHA-PBMC expuesto a VIH-1 (50 TCID₅₀ dosis/1X10⁶ PBMC) como células objetivo y utilizando la inhibición de la producción de la proteína p24 Gag como un punto final.

Los IC₅₀ fueron determinados utilizando el análisis PHA-PBMC en el que las células objetivo están expuestas al VIH-1 (50 TCID₅₀ dosis/1X10⁶ PBMC) y la inhibición de la producción de la proteína p24 Gag es usada como un punto final. Todas las sensibilidades a los fármacos fueron realizadas por triplicado. Para determinar si los aislados del VIH eran inductores de sincitio (SI) o no inductores de sincitio (NSI), fue cultivado una alícuota de sobrenadante madre viral, conteniendo 100 TCID₅₀, con 1 X 10⁵ células MT-2 en una placa de 12 pocillos. Los cultivos fueron mantenidos durante cuatro semanas y fueron examinados por la formación de sincitio dos veces a la semana. Los resultados son mostrados a continuación en la Tabla 3.

Tabla 3

| | | IC ₅₀ (μM) | | | | | |
|----|----------|---------------------------------------|--------|--------|-------|--------|--------------|
| 5 | Fenotipo | Paciente/Código aislado (ver tabla 2) | RTV | IDV | AMV | SAQ | Compuesto 32 |
| | SI | VIH-1 KRS104pre | 0.055 | 0.013 | 0.021 | 0.01 | <0.001 |
| | SI | VIH-1 LAI | 0.0047 | 0.019 | 0.019 | 0.0054 | 0.0004 |
| | NSI | VIH-1 BAL | 0.018 | 0.0056 | 0.014 | 0.0037 | 0.0004 |
| 10 | | 1 | >1 | >1 | 0.29 | 0.29 | 0.002 |
| | | 2 | >1 | 0.24 | 0.24 | 0.035 | <0.001 |
| | | 3 | >1 | 0.46 | 0.33 | 0.036 | <0.001 |
| | | 4 | >1 | 0.24 | 0.4 | 0.033 | 0.001 |
| 15 | NS1 | 5 | >1 | 0.8 | 0.28 | 0.24 | 0.002 |
| | | 6 | >1 | 0.37 | 0.11 | 0.19 | <0.001 |
| | | 7 | >1 | >1 | 0.42 | 0.12 | 0.004 |
| | | 8 | >1 | >1 | 0.22 | 0.009 | 0.001 |

20 Los IC₅₀ anteriores demuestran claramente la actividad de amplio espectro y extraordinariamente potente del compuesto 32 contra el VIH-1 de tipo salvaje y los ocho aislados clínicos resistentes a múltiples fármacos diferentes probados como se predijo de los perfiles de condición bioquímica en el Ejemplo 13. Por ejemplo, el compuesto 32 muestra potencia nanomolar y sub-nanomolar contra las cepas resistentes a múltiples fármacos probadas, mientras que el Ritonavir, un inhibidor del tipo salvaje razonablemente potente, es virtualmente inactivo hacia los virus resistentes. Además, el compuesto 32 es de alrededor de 9 a alrededor de 150 veces más potente contra los virus resistentes a múltiples fármacos que el Saquinavir, uno de los compuestos conocidos más potentes contra las cepas resistentes a múltiples fármacos conocidas del VIH-1. Los pacientes con cargas de plasma viral más altas de 10.000 ARN copias/mm³ están en riesgo de desarrollar complicaciones de SIDA fatales. No hay disponibles actualmente opciones terapéuticas efectivas para estos pacientes infectados con estos virus resistentes a múltiples fármacos. Se predice que el compuesto 32 y los análogos del mismo serán potentes en prevenir la selección de estas cepas virales in vivo.

Ejemplo 15

Este ejemplo demuestra la actividad antirretroviral de tipo salvaje de los compuestos de la presente invención.

35 Se predice que la actividad de los compuestos de la presente invención contra la proteasa del VIH de tipo salvaje se correlaciona con la actividad antirretroviral contra el VIH resistente a múltiples fármacos. Fueron probados numerosos compuestos de la presente invención contra el VIH de tipo salvaje (ver, Ghosh y otros, J. Bioorg. Med. Chem. Lett., 8, 6870690 (1998)). Compuestos ejemplares, que demuestran la potente actividad de la proteasa del VIH de tipo salvaje, se muestran a continuación de la Tabla 4.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

Tabla 4

| A | R ³ | R ⁵ | R ⁶ | K _i (nM) | ID ₅₀ (nM) | Comentarios |
|---|----------------|----------------|----------------|---------------------|-----------------------|------------------------|
| | Ph | | | 2.1 | 4.5 | |
| | Ph | | | 1.1 | 1.4 | Compuesto 32 (Fig. 3A) |
| | Ph | | | | | Compuesto 34 (Fig. 3B) |
| | Ph | | | 1.2 | 3.5 | |
| | Ph | | | 2.2 | 4.5 | |
| | Ph | | | | | |
| | | | | | | |
| | Ph | | | | | |

Se cree que los compuestos anteriores de la Tabla 4 prevendrán la aparición de la resistencia en un humano infectado con el VIH.

Ejemplo 16

Este ejemplo demuestra la absorción oral del compuesto 32 en un modelo experimental in vivo.

El compuesto 32 fue administrado oralmente a una rata a una dosis de alrededor de 40 mg por kg de masa corporal, usando un vehículo PEG 300 como portador. Los niveles de plasma sanguíneo del compuesto 32 fueron medidos durante un periodo de 24 h tras la administración oral. Los resultados se muestran a continuación en la Tabla 5

Tabla 5

| Tiempo después a la administración | | Concentración de plasma | |
|------------------------------------|---------|-------------------------|---------|
| Horas | Minutos | (nM) | (ng/mL) |
| 0.28 | 17 | 1598 | 898 |
| 1.00 | 60 | 878 | 493 |
| 2.07 | 124 | 626 | 352 |
| 4.01 | 240 | 670 | 377 |
| 6.01 | 360 | 594 | 334 |
| 8.05 | 483 | 1115 | 627 |
| 12.04 | 722 | 246 | 138 |
| 14.08 | 845 | 102 | 57 |
| 24.00 | 1440 | 82 | 46 |

Estos resultados demuestran que el compuesto 32 mantiene altos niveles de sangre (por ejemplo, casi 0,6 uM tras 6 horas) mucho tiempo después de la administración oral. A pesar de que los solicitantes no desean ahondar en cualquier teoría particular, se cree que la estructura no péptida de los compuestos de la presente invención les hace menos propensos a la degradación biológica (por ejemplo, enzimática), y por lo tanto contribuye a sus niveles de sangre prolongados tras la administración oral. De estos datos, se predice que los compuestos de la presente invención tendrán una excelente biodisponibilidad oral en los humanos, y mantendrán niveles de sangre terapéuticamente significativos durante periodos prolongados tras la administración oral.

Ejemplo 17

Este ejemplo demuestra la influencia del enlace de la proteína humana en la actividad antiviral del compuesto 32. Varios inhibidores de la proteasa del VIH potentes y oralmente biodisponibles no tuvieron eficacia antiviral in vivo. Estos fallos han sido atribuidos, pero no definitivamente probado, al excesivo enlace a proteínas de plasma humano, particularmente la albumina sérica y la AAG. Se compararon en enlace de proteínas contra la glicoproteína ácida alfa humana (AAG, 10 μ M) y contra la albumina sérica humana (HAS, 300 μ M) para el compuesto 32 y el amprenavir, un análogo estructuralmente relacionado que es un fármaco aprobado por la FDA. Los resultados se muestran en la Tabla 6

Tabla 6

| Compuesto | IC ₅₀ (μ M) | | |
|------------|-----------------------------|---------------|------------|
| | (-) | AAG | Alb |
| 32 | 0.0015. (1X) | 0.0022 (1.5X) | 0.003 (2X) |
| amprenavir | 0.029 (1X) | 0.18 (6X) | 0.021 (1X) |

Estos datos demuestran que la presencia de AAG y HAS en cantidades fisiológicamente excesivas no afecta adversamente la actividad antiviral del compuesto 32. De estos datos, se predice que la afinidad del compuesto 32 con la AAG humana y la HSA es realmente menor que con el amprenavir, un fármaco conocido. De estos datos, se espera que los compuestos de la presente invención tengan una excelente eficacia in vivo en humanos, y mantengan unos niveles terapéuticamente significantes durante periodos de tiempo prolongados.

Ejemplo 18

Este ejemplo describe la capacidad inhibidora de los compuestos 35 (Fig. 5A), 36 (Fig. SB), 37 (Fig. 5C) y 38 (Fig. 5D). De acuerdo con la técnica revelada en Ejemplo 13 anterior, la actividad inhibidora de este compuesto fue probada contra proteasas del VIH-1 de tipo salvaje. Los compuestos 36, 37 y 38 fueron también probados contra proteasas que contenían mutaciones asociadas a resistencia a fármacos deletéreas V82F/I84V y G48V/V82A. La

condición fue determinada de acuerdo con el Ejemplo 13. Los resultados de estos experimentos se muestran a continuación en la Tabla 7.

Tabla 7

| Compuesto | Enzima | K ₁ (pM) | K _{I-wt} /K _{I-mut} | Condición |
|-----------|-----------|---------------------|---------------------------------------|-----------|
| 35 | WT | 81 | 1 | |
| 36 | WT | 5< | | |
| | V82F/I84V | 24.4 | >4.9 | >0.8 |
| | G48V/V82A | 15.3 | >3.0 | >0.8 |
| 37 | WT | 12 | 1 | |
| | V82F/I84V | 25.7 | 2.1 | 0.3 |
| | G48V/V82A | 64 | 5.3 | 1.4 |
| 38 | WT | >5 | | |
| | V82F/I84V | 66.8 | >13 | >2.1 |
| | G84V/V82A | 34 | >6.8 | >1.8 |

Estos resultados demuestran además que los compuestos de la presente invención son potentes inhibidores contra proteasas mutantes. En base a este perfil de condición, se cree que los virus resistentes a los fármacos que contienen las mutaciones características analizadas en la presente no surgirán del tipo salvaje en presencia del compuesto 37.

Ejemplo 19

Este ejemplo demuestra aún más la actividad de amplio espectro y potente de los productos ejemplares de la presente invención contra aislados clínicos resistentes a múltiples fármacos.

Los valores de IC₅₀ (μM) para todos los compuestos 32, 35, 36, 37 y 38 fueron determinados con respecto a los aislados clínicos de tipo salvaje VIH-1_{LAI} y VIH-1_{BAL}. El último es una cepa monocitotrópica del VIH.

Los IC₅₀ para los aislados VIH-1_{LAI} y VIH-1_{BAL} fueron determinados exponiendo el PBMC PHA-simulado al VIH-1 (50 TCID₅₀ dosis/1X10⁶ PBMC), en presencia de varias concentraciones de los compuestos 32, 35, 36, 37 y 38, y utilizando la inhibición de la producción de la proteína p24 Gag como un punto final en el día 7 del cultivo ("análisis p24"). Todas las sensibilidades de los fármacos fueron realizadas por triplicado. El IC₅₀ para el aislado VIH-1_{LAI} fue también determinado exponiendo células MT-2 (2X10³) a 100 TCID₅₀s de VIH-1_{LAI} cultivados en presencia de varias concentraciones de los compuestos 32, 35, 36, 37 y 38. Los IC₅₀ fueron determinados utilizando el análisis MTT en el día 7 del cultivo. Todas las sensibilidades fueron determinadas por duplicado. Los resultados se muestran a continuación en la Tabla 8.

Tabla 8

| virus | Tipo de célula / Ensayo | Comp. 32 IC ₅₀ (μM) | Comp. 35 IC ₅₀ (μM) | Comp. 36 IC ₅₀ (μM) | Coup. 37 IC ₅₀ (μM) | Comp. 38 IC ₅₀ (μM) |
|----------------------|-------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| HIV-1 _{LAI} | MT-2/MTT | 0.00022 | 0.028 | 0.017 | 0.0053 | 0.028 |
| HIV-1 _{LAI} | PBMC/p24 | 0.00022 | 0.020 | 0.034 | 0.0027 | 0.0080 |
| HIV-1 _{LAI} | PBMC/p24 | 0.00033 | 0.013 | 0.038 | 0.0030 | 0.0093 |

Estos resultados demuestran la potente actividad retroviral de los compuestos particulares de la presente invención.

Ejemplo 20

Este ejemplo ilustra aún más la potente y de amplio espectro actividad antirretroviral resistente a múltiples fármacos de un compuesto ejemplar de la presente invención.

El compuesto 32, mostrado en la Figura 3A, fue probado contra varias cepas de VIH-1 resistentes a múltiples fármacos mutantes clínicamente aisladas de pacientes. Estos aislados fueron todos tomados de pacientes en los que falló la terapia en uno o más inhibidores de la proteasa del VIH debido a un alto nivel de resistencia clínica. Todos estos aislados muestran un alto nivel de resistencia fenotípica en análisis antivirales contra muchos de

los fármacos inhibidores de la proteasa del VIH comúnmente usados. El compuesto 32 fue probado contra estos aislados clínicamente resistentes a múltiples fármacos junto con fármacos conocidos que son comúnmente usados en la terapia antiviral del VIH, incluyendo inhibidores de la transcriptasa inversa como el AZT, 3TC, DDI, DDC, y D4T, e inhibidores de la proteasa como el Indinavir (Ind.), Nelfinavir (Ne1.), Ritonavir (Rit.), y Saquinavir (Saq.). Los IC_{50} para el compuesto 32 y los fármacos comparativos contra los aislados clínicos del VIH-1 resistentes a múltiples fármacos, y contra VIH-1 de tipo salvaje (WT), se muestran en la Tabla 9a.

Las cepas de VIH-1 resistentes a múltiples fármacos mutantes correspondientes a cada paciente, numeradas 9-35, fueron genéticamente analizadas en términos de secuencias de ácidos nucleicos de la proteasa (PR) y una porción de los genes de la transcriptasa inversa (RT) de los que las mutaciones en estas enzimas fueron determinadas. Las mutaciones en la proteasa y la transcriptasa inversa de los virus resistentes a múltiples fármacos aislados de cada paciente se muestran a continuación en la Tabla 9b.

Tabla 9a

| Extracto de paciente | $IC_{50}(\mu M)$ | | | | | | | | | |
|----------------------|------------------|--------|-------|---------|-------|-------|-------|-------|---------|----------|
| | AZT | 3TC | DDI | DDC | D4T | Ind. | Nel. | Rit. | Saq. | Comp. 32 |
| 9 | 0.01 | 0.39 | 0.7 | 0.15 | 0.91 | 1.087 | 0.98 | 0.53 | >0.3125 | 0.0003 |
| 10 | 0.02 | 1.35 | 1.7 | 0.37 | 1.29 | >1.25 | >1.25 | 2.03 | >0.3125 | 0.0017 |
| 11 | 0.11 | 23.61 | 2.4 | 0.18 | 3.10 | 0.012 | 0.03 | 0.01 | 0.001 | 0.0004 |
| 12 | 0.07 | 0.78 | 0.9 | 0.20 | 1.23 | >1.25 | >1.25 | 2.47 | >0.3125 | 0.0010 |
| 13 | 0.17 | 1.04 | 0.5 | <0.1221 | 0.78 | >1.25 | 0.47 | 1.64 | >0.3125 | 0.0004 |
| 14 | 0.64 | | 2.4 | <0.1221 | 1.10 | 0.089 | 0.01 | 0.04 | 0.040 | 0.0003 |
| 15 | 0.20 | >31.25 | 2.2 | 0.32 | 1.10 | 0.265 | 0.47 | 1.14 | >0.3125 | 0.0011 |
| 16 | 0.97 | 27.98 | 3.5 | 0.57 | 1.81 | 0.384 | 0.86 | 1.34 | >0.3125 | 0.0031 |
| 17 | >1.25 | 28.05 | | 0.63 | 4.28 | 0.502 | 0.52 | 0.87 | 0.107 | 0.0022 |
| 18 | 0.55 | >31.25 | 2.2 | 0.48 | 2.08 | 0.369 | 0.60 | 3.02 | 0.039 | 0.0019 |
| 19 | >1.25 | >31.25 | 36.6 | 6.80 | 35.63 | 0.784 | 0.50 | 2.94 | 0.055 | 0.0005 |
| 20 | 1.25 | 3.21 | 7.1 | 0.57 | 22.54 | 0.591 | 0.58 | 1.90 | 0.032 | |
| 21 | >1.25 | 1.69 | 1 | 0.38 | 3.28 | 1.250 | >1.25 | 2.18 | 0.21 | 0.0023 |
| 22 | 1.02 | >31.25 | 3.7 | 0.63 | 4.68 | 0.173 | 0.10 | 0.56 | 0.003 | |
| 23 | 0.19 | >31.25 | 1.8 | 0.28 | 1.00 | 0.461 | 0.28 | 1.82 | 0.008 | 0.0004 |
| 24 | | | | | | | | | | 0.0004 |
| 25 | | | | | | | | | | 0.0019 |
| 26 | | | | | | | | | | 0.0019 |
| 27 | 0.03 | 1.72 | 2.6 | 0.41 | 4.00 | >1.25 | >1.25 | 2.97 | >0.3125 | 0.0009 |
| 28 | >1.25 | 2.08 | 2.8 | 0.36 | 5.44 | 1.040 | >1.25 | 2.66 | >0.3125 | |
| 29 | >1.25 | 2.24 | 3.8 | 0.34 | 5.29 | 0.569 | 0.67 | 0.36 | 0.050 | 0.0009 |
| 30 | 0.16 | >31.25 | 2.8 | 0.24 | 2.52 | 0.270 | 0.52 | 1.03 | 0.191 | 0.0019 |
| 31 | | >31.25 | 2.6 | <0.1221 | 3.11 | 0.251 | 0.24 | 0.85 | 0.074 | 0.0010 |
| 32 | 0.32 | >31.25 | 8.4 | 0.91 | 2.41 | 0.223 | 0.22 | 0.37 | >0.3125 | |
| 33 | 0.51 | >31.25 | 2.0 | 0.28 | 2.73 | 0.133 | 0.35 | 0.18 | 0.059 | 0.0005 |
| 34 | >1.25 | >31.25 | 9.1 | 1.13 | 7.71 | 0.595 | 0.26 | 3.38 | 0.063 | 0.0024 |
| 35 | 0.88 | >31.25 | 17.0 | 2.46 | 18.13 | 0.509 | 0.48 | 2.60 | 0.0616 | 0.0012 |
| (WT) | 0.022 | 0.264 | 0.895 | 0.243 | 1.059 | 0.02 | 0.031 | 0.019 | 0.007 | 0.0007 |

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55

Tabla 9b

| Extracto | | Mutación | | | | | | | | | | | | | |
|----------|----|------------------|------------------|---------|---------|-------|---------|---------|---------|---------|---------|-------|---------|---------|---------|
| 9 | PR | V0031 | L0101 | 8037N | R041K | G048V | I054S | I062V | L063S | 1064L | 1064L | 1064L | A071V | V082A | 1093L |
| | RT | P004S B297R | V0601 L301L/I | V0901 | B122K | I135V | Q174K | Y181C | B194B/K | G196B | R221K | R221K | L214F | V145M | R227K |
| 10 | PR | V0031 | L0101 | S037N | R041K | G048V | I054S | 1062V | L063S | 1064L | 1064L | 1064L | A071V | V082A | 1093L |
| | RT | P004S V245M | V0601 R277K | V0901 | B122K | I135V | T165A/T | Q174K | Y181C | E194K | G196E | G196E | R211K | L214F | H221H/Y |
| 11 | PR | V0031 | L0101 | 1015V | M036I | 8037N | R041K | L063T | I093L | | | | | | |
| | RT | K020R/K L210W | M041L R211K | K043Q | B044D | V060I | D067N | T069D | E122B/K | D123B | Y181C/Y | M184V | G196B | G196B | H208Y |
| 12 | PR | V0031 | L0101 | 1015V | K020R | M036I | S037N | R041K | G048V | I054T/I | L063T | A071V | T074A | V082A/V | |
| | RT | M041L L201W | K043Q R211K | B044D | V060I | D067N | T069D | L074L/I | K103N | D123E | I135T | Y161C | G196B | H208Y | |
| 13 | PR | V0031 | L0101 | 1015V | K020R/K | M036I | S037N | R041K | G048V/G | I054T/I | Q058K/Q | L063T | A071A/V | | |
| | RT | M041L L210W | K043Q R211K | E044D | V060I | D067N | T069D | L074L/I | K103N | D123E | I135T/I | Y181C | G196E | H208Y | |
| 14 | PR | V0031 | L0101 | K020R | E035D | M036I | S037D | R041K | G048V | L063C | A071V | 1072T | V082A/V | 1093L | |
| | RT | M041L R277K | T069T/N E297K | L074L/V | E122K | D123E | Y181C | Q207E | L210W | R211K | L214F | T215Y | L228R | K248D | |
| 15 | PR | V0031 | L0101 | E035D | R041K | L063P | A071A/V | I072V/I | G073R/C | V077I | 1084V | L090M | 1093L | | |
| | RT | D067N L283I | T069D I293V | I142V | E169D | Y181C | M184V | Q207B | R211K | L214F | T215Y | D250E | P272A | Q278E | |
| 16 | PR | V0031 | L0101 | 1013V | E035D | S037A | R041K | L063P | A071V | G073S | I084V | L090M | T215Y | K219Q | |
| | RT | K020R R277K | M041L G333E | K043N | D067N | D123N | D177E | I178M/I | M184V | G196E | E203D | L214F | T215Y | K219Q | |

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55

(Continuación)

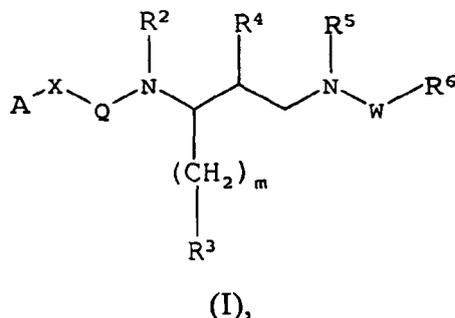
| Extracto | | Mutaciones | | | | | | | | | | | |
|----------|----|------------|---------|---------|-------|---------|---------|---------|---------|---------|-------|-------|-------|
| 32 | PR | V003I | L010I | S037N | G048V | I054V | I062V/I | L063P | A071A/T | V077I | V082A | I093L | |
| | RT | K020R | M041L | D123N | I178L | M184V | T200A/T | E203D | Q207E | L210L/W | L214F | T215Y | T286A |
| | | Q334L/Q | T338S/T | | | | | | | | | | |
| 33 | PR | V003I | L010I | E035D | M036I | S037D | D060E | L063P | I064V | I084V | L090M | | |
| | RT | M041L/M | D067N | T063T/N | K070R | D177D/E | M184V | I202V | Q207E | L210W | R211K | L214F | K219Q |
| | | V245T | P272A | | | | | | | | | | |
| 34 | PR | V003I | L010V | S037N | K043T | I054V | L063P | A071V | V082A | L090M | | | |
| | RT | K020R | V035M | K064H | D067G | T069N | K070R | K102R/K | V1181I | E122K | I135T | S162A | T215S |
| | | D218E | K219Q | | | | | | | | | | |
| 35 | PR | V003I | L010I | L019I | S037Q | M046L | I054V | R057K | L063P | A071V | V082A | L090M | |
| | RT | K020R | T058N | A062V | S068G | T069T/I | V075I | F077L | A098S | K103N | F116Y | I135T | Q151M |
| | | Y181C | M184V | | | | | | | | | | |

5 Los resultados de este experimento muestran aún más la efectividad de un compuesto ejemplar de la presente invención contra una amplia gama de mutantes virales comparado con otros inhibidores bien conocidos. Estos virus mutantes representan un grupo de los aislados clínicos de resistencia cruzada más amplia conocidos hasta la fecha en base a su resistencia a los inhibidores de la proteasa del VIH usados terapéuticamente. El compuesto 32 fue consistentemente potente contra todos los virus mutantes clínicamente aislados probados, y fue significativamente más potente contra estos virus resistentes a múltiples fármacos que los fármacos comparativos que son usados actualmente en la terapia del VIH-1 humano. El compuesto 32 fue de diez a mil veces más potente contra estos virus que incluso el saquinavir, uno de los compuestos conocidos más potentes contra el VIH-1 resistente a múltiples fármacos. En base a la alta potencia, se cree que estos mutantes no sólo serán inhibidos, sino que también estos mutantes no serán capaces de aparecer si el compuesto es administrado a un paciente infectado con un virus predecesor.

10
15 Mientras esta invención ha sido descrita con un énfasis en las realizaciones preferidas, será obvio a aquellos con un conocimiento ordinario de la técnica que pueden ser usadas variaciones de las realizaciones preferidas y que se pretende que la invención pueda ser practicada de otra manera que la descrita específicamente en la presente. Por lo tanto, esta invención incluye todas las modificaciones como se define por las reivindicaciones siguientes.

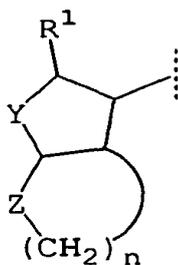
REIVINDICACIONES

1. El uso de un compuesto de la fórmula:



15 o una sal farmacéuticamente aceptable, un profármaco, o un éster del mismo, o una composición farmacéuticamente aceptable del mencionado compuesto, la mencionada sal, el mencionado profármaco, o el mencionado éster de la misma, en donde;

A es un grupo de fórmula:



35 R^1 es H o un alquilo, un alqueno, un alquino, un cicloalquilo, un cicloalquilalquilo, un arilo, un aralquilo, un heterocicloalquilo, un heterocicloalquilalquilo, un heteroarilo, o un heteroaralquilo, en el que al menos un átomo de hidrógeno está opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado del grupo consistente de OR^7 , SR^7 , CN, NO_2 , N_3 , y un halógeno, en donde R^7 es H, un alquilo no sustituido, un alqueno no sustituido, o un alquino no sustituido;

Y y Z son iguales o diferentes y cada uno es seleccionado del grupo consistente de CH_2 , O, S, SO, SO_2 , NR^8 , $R^8C(O)N$, $R^8C(S)N$, $R^8OC(O)N$, $R^8OC(S)N$, $R^8SC(O)N$, $R^8R^9NC(O)N$, y $R^8R^9NC(S)N$, en donde R^8 y R^9 son iguales o diferentes y cada uno es seleccionado del grupo consistente de H, un alquilo no sustituido, un alqueno no sustituido, y un alquino no sustituido;

n es un entero de 1 a 5;

X es un enlace covalente, CHR^{10} , $CHR^{10}CH_2$, CH_2CHR^{10} , O, NR^{10} , o S, en donde R^{10} es H, un alquilo no sustituido, un alqueno no sustituido, o un alquino no sustituido;

Q es C(O), C(S), o SO_2 ;

R^2 es H, un C_1 - C_6 alquilo, un C_2 - C_6 alqueno, o un C_2 - C_6 alquino;

m es un entero de 0 a 6;

R^3 es un cicloalquilo, un heterocicloalquilo, un arilo, o un heteroarilo en el que al menos un átomo de hidrógeno está opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado del grupo consistente de alquilo, $(CH_2)_pR^{11}$, OR^{12} , SR^{12} , CN, N_3 , NO_2 , $NR^{12}R^{13}$, $C(O)R^{12}$, $C(S)R^{12}$, CO_2R^{12} , $C(O)SR^{12}$, $C(O)NR^{12}R^{13}$, $C(S)NR^{12}R^{13}$, $NR^{12}C(O)R^{13}$, $NR^{12}C(S)R^{13}$, $NR^{12}CO_2R^{13}$, $NR^{12}C(O)SR^{13}$, o un halógeno en donde:

p es un entero de 0 a 5;

R^{11} es un cicloalquilo, un heterocicloalquilo, un arilo, o un heteroarilo en el que al menos un átomo de hidrógeno está opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado del grupo consistente de un halógeno, OH, OCH_3 , NH_2 , NO_2SH , y CN; y

R^{12} y R^{13} son iguales o diferentes y cada uno es seleccionado del grupo consistente de H, un alquilo no sustituido, un alqueno no sustituido, y un alquino no sustituido;

R^4 es OH, =O (ceto) o NH_2 , en donde, cuando R^4 es OH, está opcionalmente en la forma de un éster o profármaco farmacéuticamente aceptable, y cuando R^4 es NH_2 , es opcionalmente una amida, un

hidroxilamino, un carbamato, una urea, un alquilamino, un dialquiloamino, una sal prótica del mismo, o una sal tetraalquiloamonio del mismo;

R^5 es H, un radical C_1-C_6 alquilo, un radical C_2-C_6 alqueno, o $(CH_2)_qR^{14}$ en donde q es un entero de 0 a 5, y R^{14} es un cicloalquilo, un heterocicloalquilo, un arilo, o un radical heteroarilo en el que al menos un átomo de hidrógeno está opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado del grupo consistente de un halógeno, OH, OCH_3 , NH_2 , NO_2 , SH, and CN;

W es C(O), C(S), o SO_2 ; y

R^6 es un cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo, o radical heteroarilo en el que al menos un átomo de hidrógeno está opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado del grupo consistente de un halógeno, OR^{15} , SR^{15} , $S(O)R^{15}$, SO_2R^{15} , $SO_2NR^{15}R^{16}$, $SO_2N(OH)R^{15}$, CN, $CR^{15}=NR^{16}$, $CR^{15}=N(OR^{16})$, N_3 , NO_2 , $NR^{15}R^{16}$, $N(OH)R^{15}$, $C(O)R^{15}$, $C(S)R^{15}$, CO_2R^{15} , $C(O)SR^{15}$, $C(O)NR^{15}R^{16}$, $C(S)NR^{15}R^{16}$, $C(O)N(OH)R^{15}$, $C(S)N(OH)R^{15}$, $NR^{15}C(O)R^{16}$, $NR^{15}C(S)R^{16}$, $N(OH)C(O)R^{15}$, $N(OH)C(S)R^{15}$, $NR^{15}CO_2R^{16}$, $N(OH)CO_2R^{15}$, $NR^{15}C(O)SR^{16}$, $NR^{15}C(O)NR^{16}R^{17}$, $NR^{15}C(S)NR^{16}R^{17}$, $N(OH)C(O)NR^{15}R^{16}$, $N(OH)C(S)NR^{15}R^{16}$, $NR^{15}C(O)N(OH)R^{16}$, $NR^{15}C(S)N(OH)R^{16}$, $NR^{15}SO_2R^{16}$, $NHSO_2NR^{15}R^{16}$, $NR^{15}SO_2NHR^{16}$, $P(O)(OR^{15})(OR^{16})$, un alquilo, un alcoxi, un alquiltio, un alquilamino, un cicloalquilo, un cicloalquilalquilo, un heterocicloalquilo, un heterocicloalquilalquilo, un arilo, un ariloxi, un arilamino, un ariltio, un ariltioalquilo, un ariloxialquilo, un ariloaminoalquilo, un arilcoxi, un (ariloxi)alcoxi, un (arilamino)alcoxi, un (ariltio)alcoxi, un aralquilamino, un (ariloxi)alquilamino, un (arilamino)alquilamino, un (ariltio)alquilamino, un aralquiltio, un (ariloxi)alquiltio, un (arilamino)alquiltio, un (ariltio)alquiltio, un heteroarilo, un heteroariloxi, un heteroarilamino, un heteroariltio, un heteroaralquilo, un heteroaralcoxi, un heteroaralquilamino, y un heteroaralquiltio.

en donde R^{15} , R^{16} , y R^{17} son H, un alquilo no sustituido, o un alqueno no sustituido,

en donde, cuando al menos un átomo de hidrógeno de R^6 es sustituido con un sustituyente que no sea un halógeno, OR^{15} , SR^{15} , CN, N_3 , NO_2 , $NR^{15}R^{16}$, $C(O)R^{15}C(S)R^{15}$, CO_2R^{15} , $C(O)SR^{15}$, $C(O)NR^{15}R^{16}$, $C(S)NR^{15}R^{16}$, $NR^{15}C(O)R^{16}$, $NR^{15}C(S)R^{16}$, $NR^{15}CO_2R^{16}$, $NR^{15}C(O)SR^{16}$, $NR^{15}C(O)NR^{16}R^{17}$, o $NR^{15}C(S)NR^{16}R^{17}$, al menos un átomo de hidrógeno en el mencionado sustituyente es opcionalmente sustituido con un halógeno, OR^{15} , SR^{15} , CN, N_3 , NO_2 , $NR^{15}R^{16}$, $C(O)R^{15}$, $C(S)R^{15}$, CO_2R^{15} , $C(O)SR^{15}$, $C(O)NR^{15}R^{16}$, $C(S)NR^{15}R^{16}$, $NR^{15}C(O)R^{15}$, $NR^{15}C(S)R^{16}$, $NR^{15}CO_2R^{16}$, $NR^{15}C(O)SR^{16}$, $NR^{15}C(O)NR^{16}R^{17}$, o $NR^{15}C(S)NR^{16}R^{17}$; en la preparación de un fármaco para el tratamiento de un mamífero infectado por el VIH, en combinación con un agente antiviral seleccionado del grupo consistente de ritonavir, indinavir, y saquinavir.

2. El uso de acuerdo a la reivindicación 1, en donde:

cuando R^1 es un alquilo, es un C_1-C_6 alquilo;

cuando R^1 es un alqueno es un C_2-C_6 alqueno;

cuando R^1 es un cicloalquilo, un heterocicloalquilo, un arilo, o un heteroarilo, R^1 es un anillo de 4-7 eslabones;

cuando R^7 , R^8 o R^9 es un alquilo no sustituido, es un C_1-C_6 alquilo no sustituido;

cuando R^7 , R^8 o R^9 es un alqueno no sustituido, es un C_2-C_6 alqueno no sustituido;

R^3 es un anillo de 4-7 eslabones;

R^{11} es un anillo de 4-7 eslabones;

cuando R^{12} o R^{13} es un alquilo no sustituido, es C_1-C_6 alquilo no sustituido;

cuando R^{12} o R^{13} es un alqueno no sustituido, es un C_2-C_6 alqueno no sustituido;

cuando R^{14} es un cicloalquilo, un heterocicloalquilo, un arilo, o un heteroarilo, R^{14} es un anillo de 4-7 eslabones;

cuando R^6 es un cicloalquilo, un heterocicloalquilo, un arilo, o un heteroarilo, R^6 es un anillo de 4-7 eslabones;

cuando R^6 es sustituido con un sustituyente que es un alquilo, un alquiltio o un alquilamino, el sustituyente comprende de uno a seis átomos de carbono; y

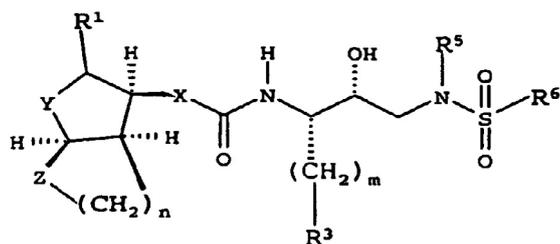
cuando R^6 es sustituido con un sustituyente que es un cicloalquilo, un heterocicloalquilo, un arilo, o un heteroarilo, el sustituyente es un anillo de 4-7 eslabones;

o una sal farmacéuticamente aceptable, un profármaco, o un éster del mismo.

3. El uso de acuerdo a la reivindicación 1 o 2, en donde Q es C(O), R^2 es H, y W es SO_2 , o una sal farmacéuticamente aceptable, un profármaco, o un éster de los mismos.

4. El uso de acuerdo a la reivindicación 1, en donde el mencionado compuesto es de fórmula:

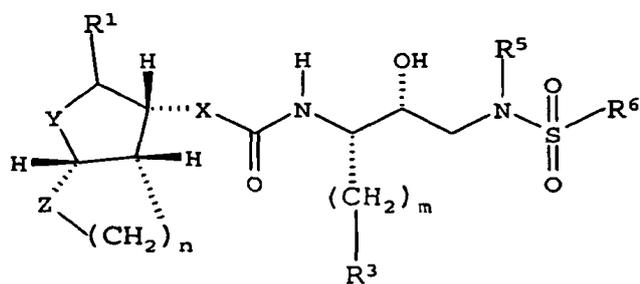
5



10

(IA) o

15



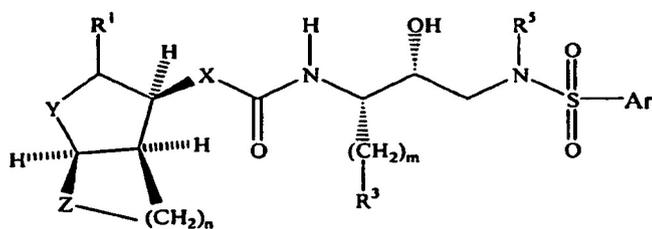
20

(IB).

25

5. El uso de acuerdo a la reivindicación 4, en donde el mencionado compuesto es de fórmula:

30

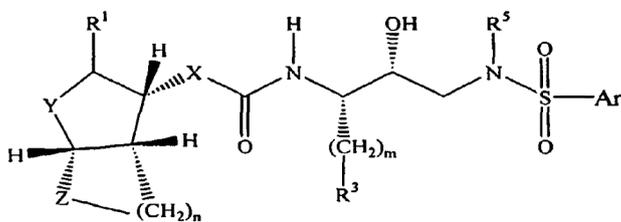


35

(IC) o

40

45



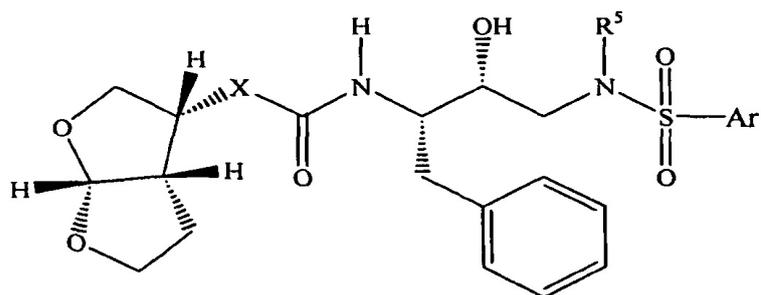
50

en donde Ar es un fenilo que es opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado del grupo consistente de metilo, amino, hidroxilo, metoxi, metililo, hidroximetilo, aminometilo, y metoximetilo.

55

6. El uso de acuerdo a la reivindicación 5, en donde el mencionado compuesto es de fórmula:

5



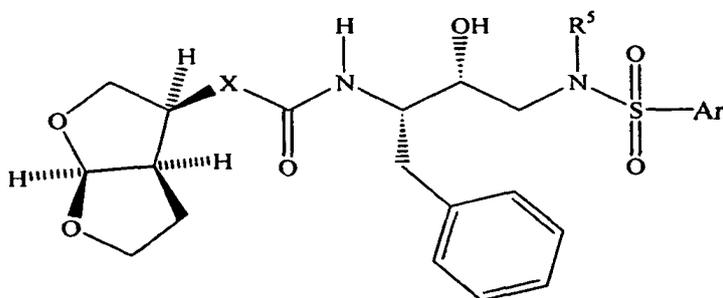
10

(IE)

o

15

20



25

(IF).

30

7. El uso de acuerdo a la reivindicación 5 ó 6, en donde X es oxígeno.

8. El uso de acuerdo a la reivindicación 5 ó 6, en donde R⁵ es isobutilo.

9. El uso de acuerdo a la reivindicación 5 ó 6, en donde Ar es un fenilo sustituido en la posición para.

10. El uso de acuerdo a la reivindicación 5 ó 6, en donde Ar es un fenilo sustituido en la posición meta.

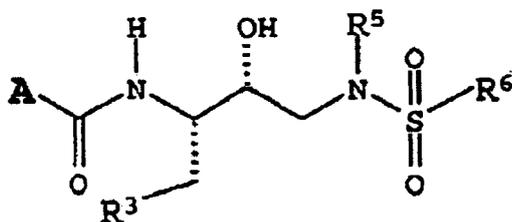
11. El uso de acuerdo a la reivindicación 5 ó 6, en donde Ar es un fenilo sustituido en la posición orto.

35

12. El uso de acuerdo a la reivindicación 5 ó 6, en donde Ar es seleccionado del grupo consistente de para-aminofenilo, para-tolilo, para-metoxifenilo, meta-metoxifenilo, y metahidroximetilfenilo.

13. El uso de acuerdo a la reivindicación 1, en donde el mencionado compuesto es de fórmula:

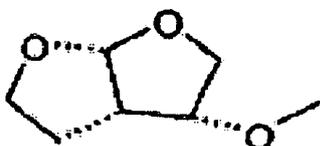
40



45

en donde A es

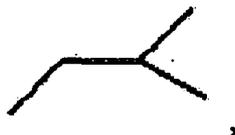
50



55

R³ es Ph, R⁵ es

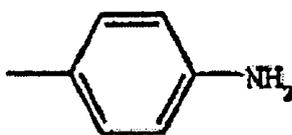
5



10

y R⁶ es

15



20

14. El uso de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 4-6, ó 13, en donde el mencionado mamífero infectado con VIH está infectado con un VIH de tipo salvaje.

15. El uso de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 4-6, ó 13, en donde el mencionado mamífero infectado con VIH está infectado por un VIH mutante con al menos una mutación de proteasa.

25 16. El uso de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 4-6, ó 13, en donde el mencionado mamífero infectado con VIH está infectado por un VIH mutante que tienen al menos una mutación de la transcriptasa inversa.

17. EL uso de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 4-6 ó 13, en donde el medicamento es para inhibir la proteasa de un retrovirus mutante en un mamífero infectado con un retrovirus mutante para inhibir la proliferación del mencionado retrovirus mutante en el mencionado mamífero.

30 18. El uso de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 4-6, ó 13, en donde el medicamento es para tratar una infección retroviral mutante en un mamífero infectado con un retrovirus mutante.

19. El uso de acuerdo a las reivindicaciones 17 ó 18, en donde el mencionado retrovirus mutante es un retrovirus mutante resistente a múltiples fármacos.

35 20. El uso de acuerdo a las reivindicaciones 17 ó 18, en donde el mencionado retrovirus mutante es un retrovirus de VIH resistente a múltiples fármacos.

21. El uso de acuerdo a las reivindicaciones 17 ó 18, en donde el mencionado retrovirus es un retrovirus de VIH-1 resistente a múltiples fármacos.

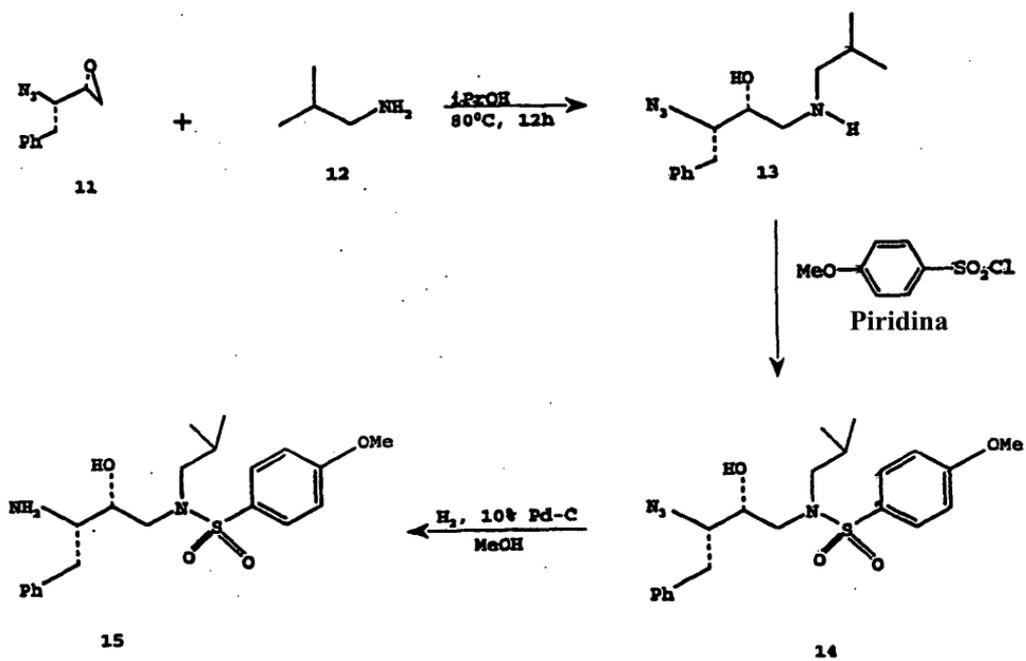


Fig. 1

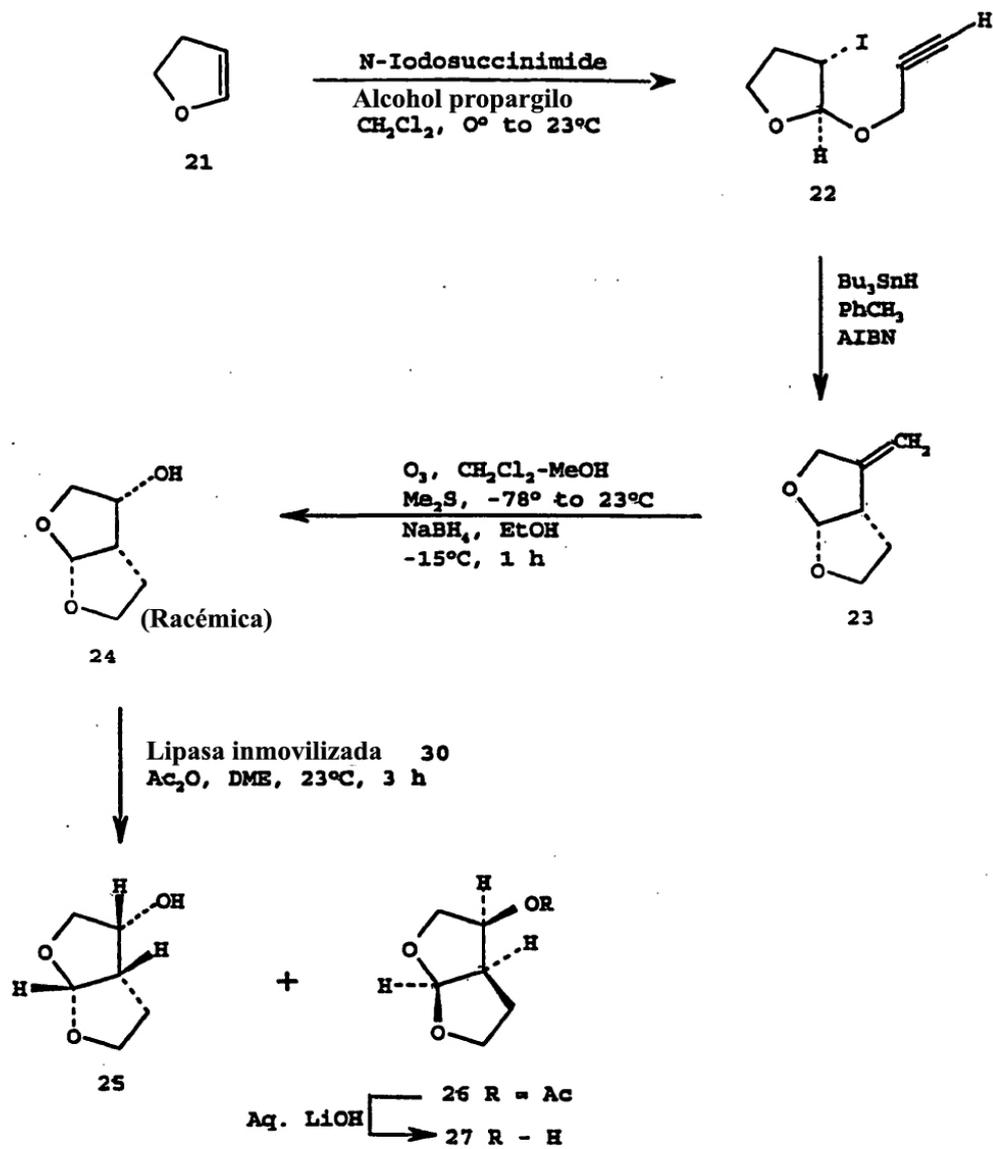


Fig. 2

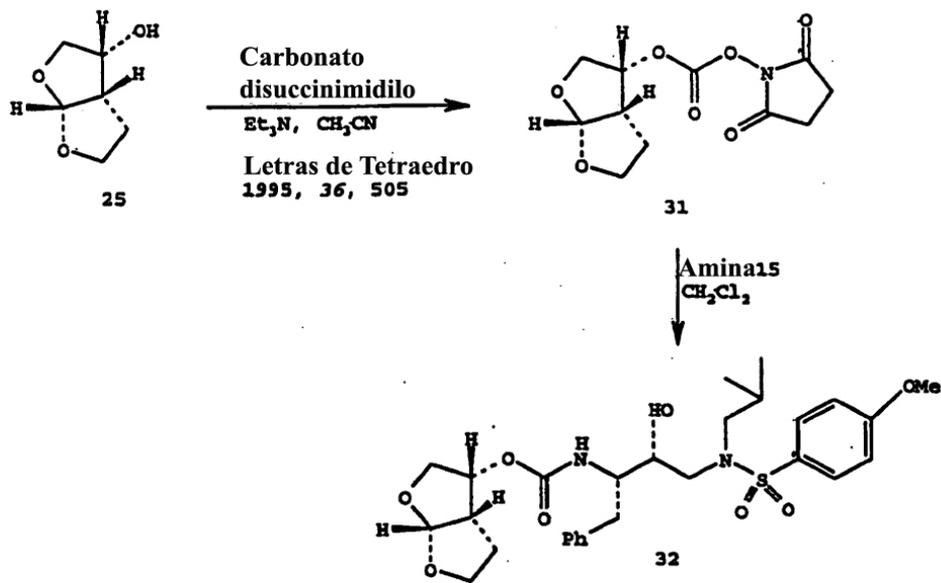


Fig. 3A

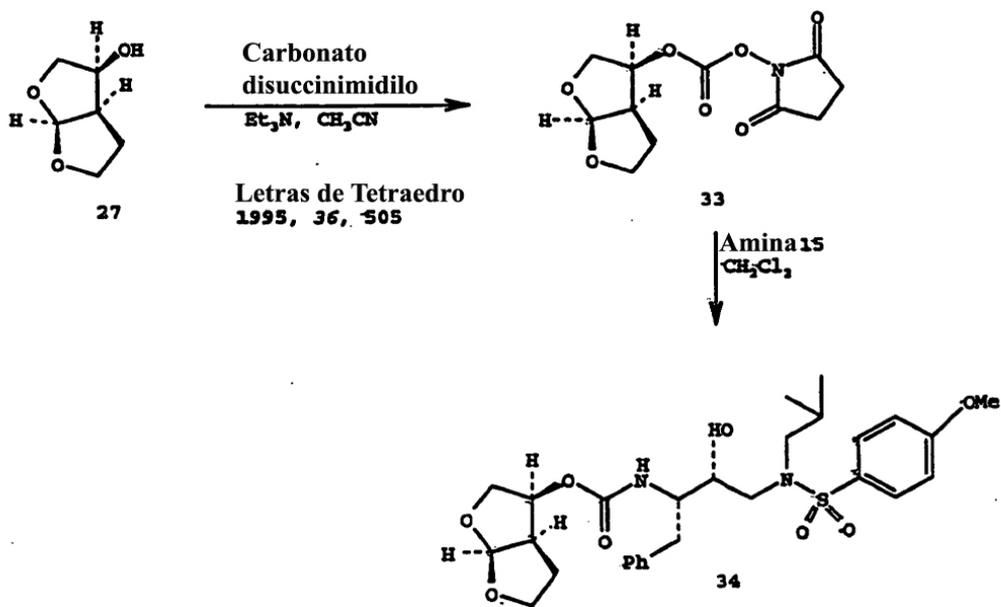


Fig. 3B

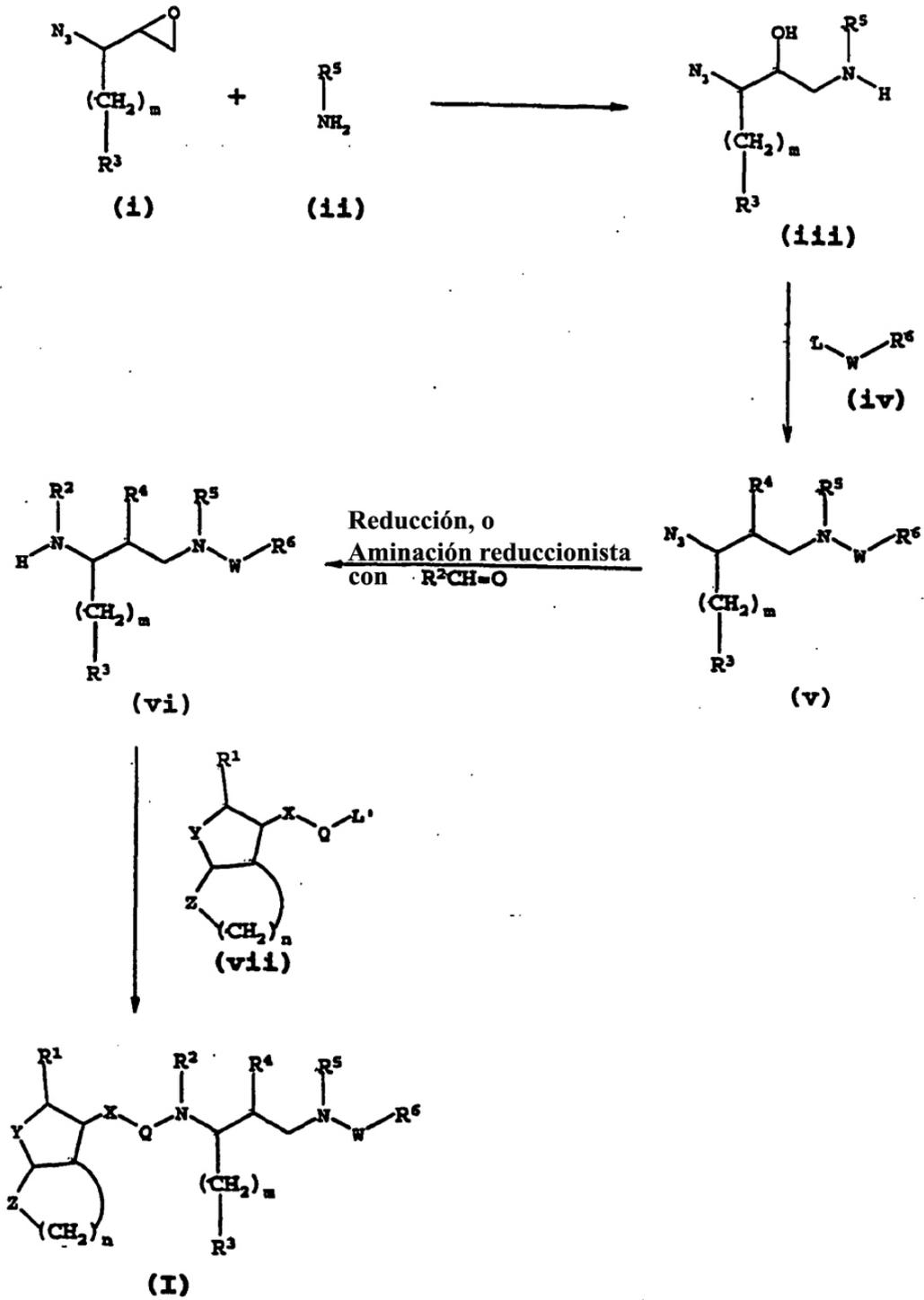
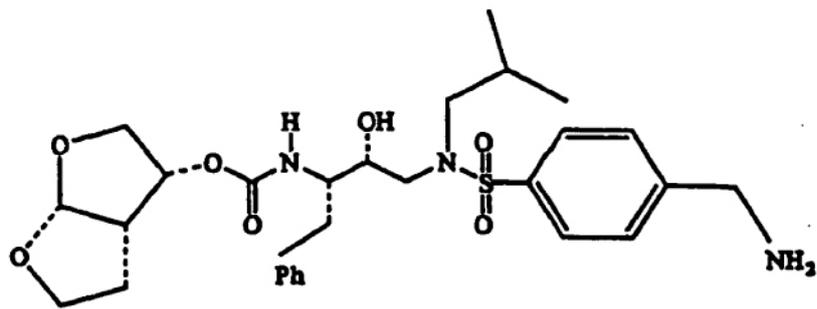
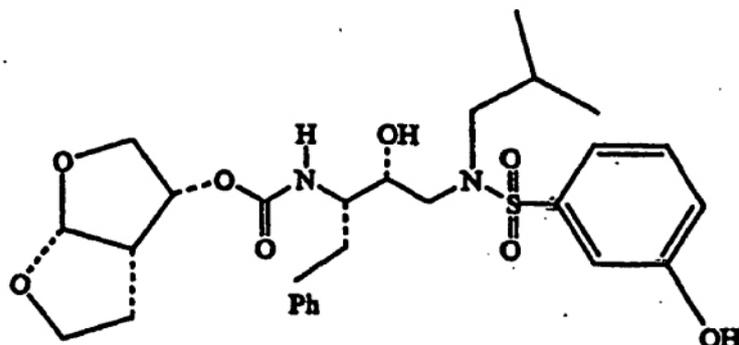


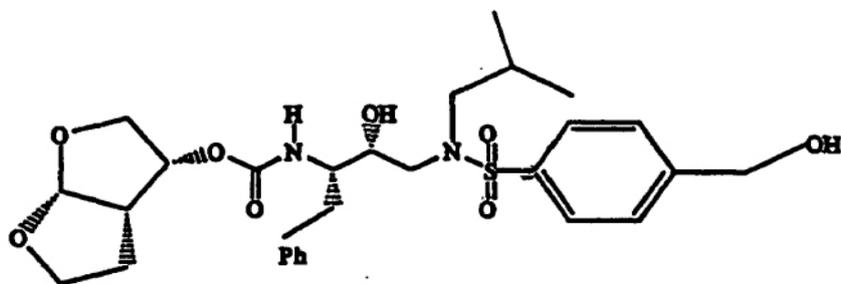
Fig. 4



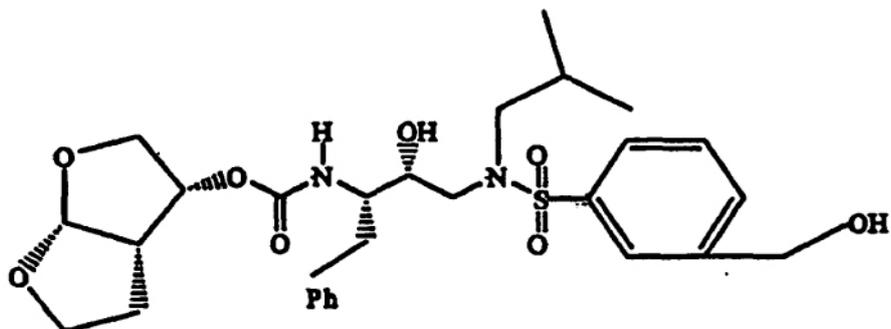
35
Fig. 5A



36
Fig. 5B



37
Fig. 5C



38
Fig. 5D