



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



① Número de publicación: **2 362 598**

② Número de solicitud: 200931188

⑤ Int. Cl.:
A61K 31/513 (2006.01)
A61P 31/22 (2006.01)

⑫

SOLICITUD DE PATENTE

A1

② Fecha de presentación: **17.12.2009**

④ Fecha de publicación de la solicitud: **08.07.2011**

④ Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
08.07.2011

⑦ Solicitante/s: **Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)**
c/ Serrano, 117
28006 Madrid, ES

⑦ Inventor/es: **Coll Capella, Miquel;**
Solà Vilarrubias, María y
Nadal Rovira, Marta

⑦ Agente: **Pons Ariño, Ángel**

⑤ Título: **Uso del raltegravir y derivados para la elaboración de medicamentos destinados al tratamiento de infecciones por herpesvirus.**

⑤ Resumen:

Uso del raltegravir y derivados para la elaboración de medicamentos destinados al tratamiento de infecciones por herpesvirus.

La invención se refiere al uso del compuesto raltegravir o sus derivados en la elaboración de medicamentos destinados al tratamiento de infecciones causadas por herpesvirus, preferiblemente por el citomegalovirus humano. Estos compuestos podrían ser empleados, por ejemplo, pero sin limitarnos, en situaciones en las que los otros antivirales han perdido eficacia debido a la aparición de resistencias en el paciente, o bien como antivirales complementarios a otros.

ES 2 362 598 A1

DESCRIPCIÓN

Uso del raltegravir y derivados para la elaboración de medicamentos destinados al tratamiento de infecciones por herpesvirus.

La presente invención se encuadra en el campo de la biología molecular, la medicina y la farmacología y se refiere al uso del compuesto raltegravir o sus derivados en la elaboración de medicamentos destinados al tratamiento de infecciones causadas por herpesvirus. Estos compuestos podrían ser empleados, por ejemplo, pero sin limitarnos, en situaciones en las que los otros antivirales han perdido eficacia debido a la aparición de resistencias en el paciente, o bien como antivirales complementarios a otros.

Estado de la técnica anterior

La infección por citomegalovirus humano (HCMV o HHV5), un miembro de la familia de los herpesvirus o *Herpesviridae*, es una de las infecciones víricas de mayor relevancia a nivel mundial, particularmente en los países industrializados. En personas con un sistema inmune competente la infección por este virus no presenta efectos severos, sin embargo, en individuos inmunocomprometidos, como los receptores de trasplantes de órganos, pacientes de SIDA o de leucemia o en recién nacidos, representa una de las principales causas víricas de mortalidad.

Inicialmente, el tratamiento para las infecciones por este organismo se basaba en la administración intravenosa de fármacos, no obstante, era necesaria la administración crónica de los mismos debido a que se trataba de un mero mecanismo de control, lo que generaba claros inconvenientes para los pacientes tratados, como por ejemplo la necesidad de permanecer ingresados. Por ello, se ha tratado de obtener medicamentos cuya vía de administración sea oral.

En la actualidad el tratamiento se realiza fundamentalmente mediante inhibidores nucleosídicos de la ADN polimerasa del virus. A este respecto la mayor parte de los inhibidores existentes para el tratamiento de las infecciones por el citomegalovirus humano, con excepción del fomivirsén, tienen como diana la ADN polimerasa. Sin embargo, estos tratamientos han de ser mejorados ya que los fármacos implicados poseen una elevada inespecificidad y, al ser de administración sistémica, provocan efectos secundarios. Por otro lado, al ser tratamientos crónicos para el control del patógeno, son de larga duración y acaban seleccionando cepas del virus resistentes a los mismos. Además, la mayoría de estos compuestos no ofrecen una buena biodisponibilidad, haciendo necesaria la administración de gran cantidad de ellos y generando su acumulación en diversos órganos del individuo, lo que potencia los efectos adversos de los mismos sobre dichos tejidos. Los fármacos inhibidores de la ADN polimerasa utilizados son, por ejemplo, ganciclovir, valaciclovir, cidofovir o foscarnet (Griffiths, 2002, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, Vol. 49:243-253), e inhibidores no nucleosídicos como, por ejemplo, PNU-181465, inhibidor de la ADN polimerasa que posee ciertas semejanzas con los inhibidores de la transcriptasa inversa del VIH (Virus de Inmunodeficiencia Humana) (Erik De Clercq, 2003, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, Vol. 51:1079-1083).

Existen también otros tratamientos menos inespecíficos debido a la vía de administración, como son los tratamientos oculares. En este sentido, un tratamiento de gran importancia es el fomivirsén, un oligonucleótido antisentido que actúa inhibiendo la replicación del citomegalovirus (Perry, *et al.*, 1999, *Drugs*, 57:375-380).

El citomegalovirus, al igual que muchos otros virus, replica su ADN como un largo concatémero que ha de ser fragmentado en copias individuales del genoma para poder ser empaquetadas en las cápsidas virales. Este proceso de corte y empaquetamiento es llevado a cabo por un complejo proteico llamado terminasa, formado por, al menos, dos subunidades: UL56 y UL89. En concreto, la UL89 posee actividad ATPasa y es probablemente el motor molecular de la translocación del ADN (Champier G. HS., *et al.*, 2007, *Antiviral Therapy*, Vol. 12:217-232), actividad que se encuentra potenciada por la unión de esta subunidad a la subunidad UL56, a través del dominio C-terminal de esta última. El gen *ul89* está formado por dos exones separados por un intrón de 3.902 pb y codifica para la proteína UL89 de 674 aminoácidos con un dominio ATPasa N-terminal y un dominio nucleasa C-terminal.

Existen proteínas homologas a UL89 en todos los herpesvirus, lo que indica que los mecanismos de empaquetamiento del ADN están muy conservados (Przech AJ., *et al.*, 2003, *Journal of Virology*, Vol. 77:9613-9621). Además, la maduración y el empaquetamiento del ADN son procesos que ocurren durante el ensamblaje viral pero que no tienen lugar en las células eucariotas no infectadas, por lo que las proteínas implicadas en este proceso son prometedoras dianas para la terapia antiviral.

No obstante, hasta la fecha ha existido la dificultad de caracterizar estructuralmente las proteínas implicadas en los procesos de empaquetamiento de los herpesvirus, como es el caso de la proteína UL89, debido a las dificultades de obtención de suficiente material expresable soluble con el que poder llevar a cabo los estudios experimentales. Esta falta de solubilidad de los compuestos hace más difícil, por un lado, el estudio en sí de los propios elementos, y por otro lado la realización de ensayos de interacción de las terminasas con diversos compuestos químicos para estudios de actividad enzimática, lo cual ha limitado el descubrimiento de compuestos capaces de inhibir la actividad de la UL89. En este sentido, recientemente se ha conseguido obtener un fragmento soluble de la proteína UL89 del citomegalovirus humano, en concreto el péptido C terminal correspondiente a los aminoácidos 418 a 674, portador de la actividad nucleasa, que se ha cristalizado, lo que ha permitido visualizar su estructura tridimensional. Sin embargo, el análisis de dicha estructura aun no ha conducido al descubrimiento de compuestos capaces de inhibir la actividad nucleasa de este péptido que puedan ser empleados en el tratamiento de infecciones por citomegalovirus.

El procesamiento de los largos concatémeros de ADN ha sido propuesto como objetivo de la terapia antiviral de amplio espectro (Dittmer A., *et al.*, 2005, *Journal of Virology*, Vol. 79(23):14660-14667; North TW., *et al.*, 2004, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 48(7):2760-2765; Reefschaeger J., *et al.*, 2001, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, Vol. 48(6):757-767; Visalli RJ., *et al.*, 2003, *Antiviral Research*, Vol. 59(2):73-87; Weber O., *et al.*, 2001, *Antiviral Research*, Vol. 49(3):179-189) y por ello algunos estudios se han centrado en la búsqueda de inhibidores específicos de las proteínas UL89 y UL56 implicadas en el empaquetamiento del ADN. En este sentido, se han propuesto inhibidores específicos de los productos génicos del exón I del gen *ul89* y de la proteína UL56. Un ejemplo es el compuesto BAY 38-4766, un inhibidor no nucleosídico de la replicación del citomegalovirus que interacciona específicamente en los procesos de corte y empaquetamiento del ADN viral en las procápsidas (Buerger I., *et al.*, 2001, *Journal of Virology*, Vol. 75(19):9077-9086) o el 2-bromo-5,6-dicloro-1-β-D-ribofuranosil benzimidazol (BDCRB) y el TCRB (Scheffczik H., *et al.*, 2002, *Nucleic Acids Research*, Vol. 30(7):1695-1703). No obstante, BDCRB, TCRB y DRB no presentan actividad contra todos los herpesvirus, como es el caso del virus del herpes simplex o el virus zoster de la varicela (Underwood MR., *et al.*, 1998, *Journal of Virology*, Vol. 72(1):717-725).

El Cl₄RB, ribonucleósidos de benzamidazol, también ha sido propuesto como inhibidor del citomegalovirus por interferir en el proceso de corte del ADN viral a nivel de la actividad ATPasa de la proteína UL56 (Hwang J-S., *et al.*, 2007, *Journal of Virology*, Vol. 81 (21):11604-11611).

Otro ejemplo de nueva diana identificada para tratar de minimizar los efectos nocivos del virus es la proteína-kinasa UL97, necesaria para el desarrollo de la infección viral (Andrei, *et al.*, 2009, *Infect Disord Drug Targets*, 9:201-222).

En cuanto a otros tratamientos antivirales, la integrasa del VIH ha sido estudiada como una diana farmacológica interesante para el tratamiento de infecciones por este virus y en este sentido existen varios inhibidores de esta enzima en estudio. Uno de ellos es el compuesto raltegravir, aprobado por la FDA en octubre de 2007 (WO2006060712 A2).

No obstante, a pesar de todo lo descrito anteriormente, existe la necesidad de encontrar nuevos fármacos que sean específicos y útiles en el control y eliminación de las infecciones producidas por el citomegalovirus humano en pacientes inmunodeprimidos. En concreto, sería interesante descubrir o desarrollar compuestos que inhiban la actividad terminasa de los citomegalovirus, ya que al tratarse de un complejo proteico tan conservado entre los herpesvirus pero sin homología en el acervo proteico del hospedador y, por tanto, encontrándose únicamente en células infectadas y en ningún caso en células eucarióticas no infectadas, se convierte en una diana farmacológica ideal sobre la que desarrollar fármacos que permitan el tratamiento de infecciones por estos virus. De esta forma, mediante tratamientos dirigidos a este complejo terminasa o a alguna de sus subunidades, se podría evitar la producción de nuevos viriones por el bloqueo del complejo de terminación, evitando daños secundarios en las células eucarióticas del organismo hospedador.

Descripción de la invención

La presente invención proporciona un compuesto inhibidor, el raltegravir o sus derivados, para la elaboración de medicamentos destinados al tratamiento de infecciones causadas por herpesvirus. Estos compuestos podrían ser empleados, por ejemplo, pero sin limitarnos, en situaciones en las que los otros antivirales han perdido eficacia debido a la aparición de resistencias en el paciente, o bien como antivirales complementarios a otros.

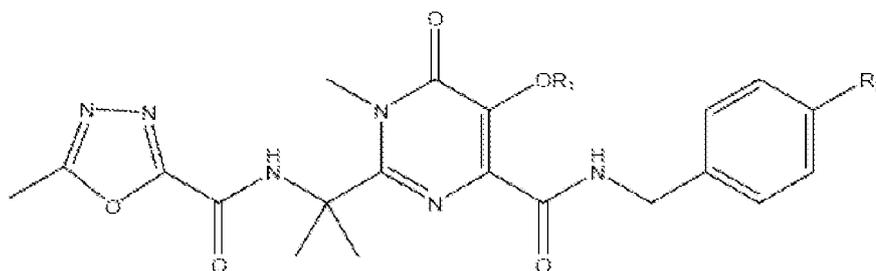
Este compuesto es capaz de inhibir la actividad enzimática de la terminasa del citomegalovirus humano o HCMV, en concreto mediante su unión al dominio nucleasa o C terminal de la subunidad UL89, también llamado UL89-C, del complejo terminasa. Los ensayos de actividad enzimática *in vitro* llevados a cabo en la presente invención muestran una reducción dosis dependiente en la actividad nucleasa del péptido UL89-C cuando se administran diferentes concentraciones del compuesto raltegravir.

Mediante el análisis estructural de la región C-terminal de la proteína UL89, UL89-C, que comprende los aminoácidos 418 a 674, se ha conseguido establecer una elevada similitud estructural entre este péptido y las enzimas nucleasas y polinucleotidil transferasas de la superfamilia de las RNasas H, dentro de las cuales se encuentra la integrasa del VIH. A pesar de la baja similitud en la longitud y la secuencia de aminoácidos entre la UL89-C y la integrasa del VIH, las estructuras cristalinas de ambas proteínas presentan el mismo esquema de plegamiento básico, además la posición del centro activo de la UL89-C es equivalente a la de otros miembros de la superfamilia de las RNasas H. Esta similitud estructural entre la integrasa del VIH y la UL89-C del citomegalovirus es lo que ha llevado a estudiar la actividad de inhibidores de la primera, en concreto del raltegravir o sus derivados, en la actividad enzimática de la segunda, demostrándose que efectivamente existe un efecto inhibitorio de esta última en presencia de determinadas concentraciones de dichos compuestos.

Se trata de una alternativa terapéutica interesante debido a que la maquinaria de encapsidación del ADN viral en los herpesvirus no tiene homólogos en células de mamífero, lo que convierte a las proteínas implicadas en este proceso en buenas dianas para el tratamiento antiviral. Además, la UL89-C posee dominios altamente conservados entre diferentes miembros de la familia de los herpesvirus por lo que estos compuestos son útiles, no solo para el tratamiento de infecciones por citomegalovirus sino también para otros virus del herpes patógenos, como herpes simplex tipo 1 y 2 (HSV-1 y -2 o HHV-1 y -2), virus zoster de la varicela (VZV o HHV3), virus Epstein-Barr (EBV o HHV4), roseolovirus (HHV-6 y -7) o virus asociado al sarcoma de Kaposi (KSHV o HHV8).

ES 2 362 598 A1

Por tanto, un primer aspecto de la invención se refiere al uso del compuesto de fórmula general (I):

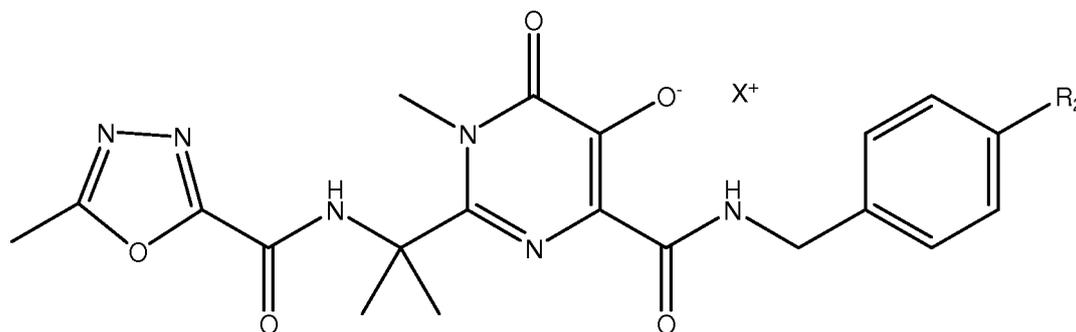


Fórmula (I)

de ahora en adelante “compuesto de la invención”, donde R₁ es hidrógeno (H) y R₂ es un halógeno, para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de infecciones provocadas por herpesvirus.

O, alternativamente, al compuesto de la invención para su uso en el tratamiento de infecciones provocadas por herpesvirus.

En una realización preferida de este aspecto de la invención, el compuesto de la invención está en forma de sal de fórmula general (II):



Fórmula (II)

donde: X⁺ es un catión de metal alcalino.

En una realización más preferida, la sal es de potasio. En una realización aun más preferida, R₂ es flúor (F). En otra realización preferida, el compuesto de la invención es la sal de fórmula N-[(4-Fluorofenil)metil]-1,6-dihidro-5-hidroxi-1-metil-2-[1-metil-1-[[[5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)carbonil]amino]etil]-6-oxo-4-pirimidinacarboxamida monopotásica. Cuando el compuesto de la invención se encuentra en forma de sal de fórmula general (II), presenta F en la posición R₂ y X⁺ es K, se denomina raltegravir, y es útil para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de infecciones provocadas por herpesvirus. Por ello, preferiblemente, el compuesto de la invención es raltegravir.

Tal y como se utiliza en la presente descripción, el término “halógeno” se refiere a un átomo de bromo (Br), cloro (Cl), yodo (I) o flúor (F). En el compuesto de la invención el halógeno es, preferiblemente, F.

ES 2 362 598 A1

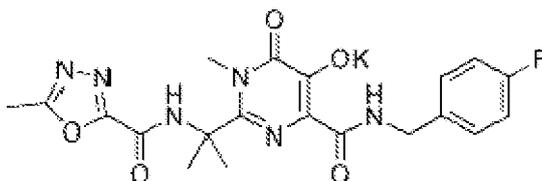
Se entiende por “catión de metal alcalino” cualquiera de los metales que se seleccionan de la lista que comprende: litio (Li⁺), sodio (Na⁺), potasio (K⁺), rubidio (Rb⁺), cesio (Cs⁺) o francio (Fr⁺). En el compuesto de la invención el catión de metal alcalino es, preferiblemente, K⁺.

5 En otra realización preferida de este aspecto de la invención, el herpesvirus se selecciona de la lista que comprende: virus del herpes simplex tipo 1, virus del herpes simplex tipo 2, virus zoster de la varicela, virus Epstein-Barr, citomegalovirus, roseolovirus o herpesvirus asociado al sarcoma de Kaposi. En una realización más preferida, el herpesvirus es el citomegalovirus. En una realización aun más preferida, el citomegalovirus es humano.

10 En otra realización preferida, el medicamento comprende, además, otra sustancia activa. En otra realización preferida, el medicamento comprende, además, un vehículo farmacéuticamente aceptable.

En la presente descripción se entiende por “raltegravir” la sal de potasio de número CAS 518048-05-0 y fórmula:

15



20

con capacidad inhibitoria de la integrasa del virus de inmunodeficiencia humana o VIH, cuya nomenclatura química es sal N-[(4-Fluorofenil)metil]-1,6-dihidro-5-hidroxi-1-metil-2-[1-metil-1-[[5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)carbonil]amino]etil]-6-oxo-4pirimidinacarboxamida monopotásica, soluble en agua, ligeramente soluble en metanol, muy ligeramente soluble en etanol y acetonitrilo e insoluble en isopropanol. Su fórmula empírica es C₂₀H₂₀FKN₆O₅ y su peso molecular es, aproximadamente, 482,51 g/mol.

25

El término “medicamento”, tal y como se usa en esta descripción, hace referencia a cualquier sustancia usada para la prevención, el diagnóstico, el alivio, el tratamiento o la curación de enfermedades en el hombre y los animales. En el contexto de la presente invención se refiere a una preparación que comprenda, al menos, el compuesto de la invención, preferiblemente raltegravir, o cualquiera de sus profármacos.

30

El medicamento comprende, al menos, el compuesto de la invención, preferiblemente el raltegravir, o cualquiera de sus profármacos. El compuesto de la invención, preferiblemente el raltegravir, derivados farmacéuticamente aceptables o sus profármacos, se formulan en una composición farmacéutica apropiada, en la cantidad terapéuticamente efectiva, preferiblemente junto con uno o más vehículos, adyuvantes o excipientes farmacéuticamente aceptables. El medicamento se emplea para el tratamiento de infecciones provocadas por herpesvirus.

35

Por un “derivado farmacéuticamente aceptable” se entiende cualquier sal, farmacéuticamente aceptable o cualquier otro compuesto que después de su administración, es capaz de proporcionar (directa o indirectamente) el compuesto de la invención, preferiblemente el raltegravir, o cualquiera de sus profármacos.

40

Asimismo, dentro del alcance de esta invención se encuentran los profármacos del compuesto de la invención, preferiblemente del raltegravir. El término “profármaco” tal como aquí se utiliza incluye a cualquier compuesto derivado del compuesto de la invención, preferiblemente del raltegravir, que cuando se administra a un individuo es capaz de proporcionar, directa o indirectamente, dicho compuesto en dicho individuo. Ventajosamente, dicho derivado es un compuesto que aumenta la biodisponibilidad del compuesto de la invención cuando se administra a un individuo o que potencia la liberación del compuesto de la invención en un compartimento biológico. La naturaleza de dicho derivado no es crítica siempre y cuando pueda ser administrado a un individuo y proporcione el compuesto de la invención en un compartimento biológico de un individuo. La preparación de dicho profármaco puede llevarse a cabo mediante métodos convencionales conocidos por los expertos en la materia.

50

El término “tratamiento”, tal como se entiende en la presente invención, supone combatir los efectos causados como consecuencia de una infección por herpesvirus para estabilizar el estado de los individuos o prevenir daños posteriores. El término “prevención”, tal como se entiende en la presente invención, consiste en evitar la aparición de daños cuya causa sea la infección por herpesvirus.

55

Se entiende por “herpesvirus” los virus de la familia *Herpesviridae*, fácilmente contagiosos, transmisibles de una persona a la otra, que producen infecciones latentes y, con frecuencia, de recurrencia crónica. Los herpesvirus forman una familia de virus divididos en tres subfamilias: *Alpha*, *Beta* y *Gammaherpesvirinae*, clasificados en base a la arquitectura del virión y a ciertas propiedades biológicas comunes. Son virus de ADN con una envoltura icosaédrica relativamente flexible, la forma del virión no es siempre la misma y su diámetro estimado varía entre 120 y 200 nm. Producen lesiones cutáneas o de las mucosas de diversa índole. Dentro de los herpesvirus se encuentran los siguientes patógenos: virus del herpes simplex tipo 1 (HSV-1 o HHV-1), virus del herpes simplex tipo 2 (HSV-2 o HHV-2), virus zoster de la varicela (VZV o HHV3), virus Epstein-Barr (EBV o HHV4), citomegalovirus (HCMV o HHV5), roseolovirus (HHV-6 y -7) o herpesvirus asociado al sarcoma de Kaposi (KSHV o HHV8).

60

65

ES 2 362 598 A1

El citomegalovirus pertenece a la subfamilia *Betaherpesvirinae* de la familia *Herpesviridae* y principalmente ataca a las glándulas salivares pudiendo provocar una enfermedad grave o fatal para los individuos inmunocomprometidos. Se encuentra en muchos mamíferos, aunque preferiblemente, el citomegalovirus de la presente invención es humano. Su genoma consiste en una doble hebra de ADN de 230 Kb que contiene más de 200 ORFs. Posee un diámetro de 200 nm y un core de 64 nm rodeado por una cápsida icosaédrica.

Como se emplea aquí, el término “principio activo”, “sustancia activa”, “sustancia farmacéuticamente activa”, “ingrediente activo” ó “ingrediente farmacéuticamente activo” significa cualquier componente que potencialmente proporcione una actividad farmacológica u otro efecto diferente en el diagnóstico, cura, mitigación, tratamiento, o prevención de una enfermedad, o que afecta a la estructura o función del cuerpo del hombre u otros animales. El término incluye aquellos componentes que promueven un cambio químico en la elaboración del fármaco y están presentes en el mismo de una forma modificada prevista que proporciona la actividad específica o el efecto.

Los “adyuvantes” y “vehículos farmacéuticamente aceptables” se refieren a aquellas sustancias, o combinación de sustancias, conocidas en el sector farmacéutico, utilizadas en la elaboración de formas farmacéuticas de administración e incluyen, pero sin limitarse, sólidos, líquidos, disolventes o tensioactivos. Los vehículos farmacéuticamente aceptables que pueden ser utilizados en la presente invención son los vehículos conocidos en el estado de la técnica.

Otro aspecto de la invención se refiere al uso de una composición farmacéutica que comprende un agente inhibidor de UL89-C, de ahora en adelante “composición de la invención”, para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de infecciones provocadas por herpesvirus o, alternativamente, a la composición de la invención para su uso en el tratamiento de infecciones provocadas por herpesvirus.

En una realización preferida el herpesvirus se selecciona de la lista que comprende: virus del herpes simplex tipo 1, virus del herpes simplex tipo 2, virus zoster de la varicela, virus Epstein-Barr, citomegalovirus, roseolovirus o herpesvirus asociado al sarcoma de Kaposi. En una realización más preferida, el herpesvirus es el citomegalovirus. En una realización aun más preferida, el citomegalovirus es humano.

En otra realización preferida, el agente inhibidor de la UL89-C es el compuesto de la invención o sus profármacos. En una realización más preferida, el compuesto de la invención es raltegravir. En otra realización preferida, la composición de la invención comprende, además, otra sustancia activa. En una realización más preferida, la composición de la invención comprende, además, un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Las composiciones farmacéuticas y medicamentos de la presente invención pueden utilizarse en un método de tratamiento de forma aislada o conjuntamente con otros compuestos farmacéuticos. Por ejemplo, pero sin limitarnos, las composiciones farmacéuticas y medicamentos de la invención podrían ser administrados en combinación con cantidades terapéuticamente efectivas de uno o más antivirales para el herpesvirus, preferiblemente, para el citomegalovirus y más preferiblemente para el citomegalovirus humano, de inmunomoduladores, antiinfectivos, o vacunas útiles para el tratamiento de las infecciones provocadas por herpesvirus, preferiblemente por citomegalovirus y más preferiblemente por citomegalovirus humano.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden formularse para su administración en una variedad de formas conocidas en el estado de la técnica.

Tales composiciones y/o sus formulaciones pueden administrarse a un animal, incluyendo un mamífero y, por tanto, al hombre, en una variedad de formas, incluyendo, pero sin limitarse a, parenteral, intraperitoneal, intravenosa, intradérmica, epidural, intraespinal, intraestromal, intraarticular, intrasinovial, intratecal, intralesional, intraarterial, intracardiaca, intramuscular, intranasal, intracraneal, subcutánea, intraorbital, intracapsular, tópica, mediante parches transdérmicos, vía rectal, vía vaginal o uretral, mediante la administración de un supositorio, percutánea, espray nasal, implante quirúrgico, pintura quirúrgica interna, bomba de infusión o vía catéter.

La dosificación para obtener una cantidad terapéuticamente efectiva depende de una variedad de factores, como por ejemplo, la edad, peso, sexo o tolerancia, del mamífero. En el sentido utilizado en esta descripción, la expresión “cantidad terapéuticamente efectiva” se refiere a la cantidad de compuesto de la invención, preferiblemente raltegravir, o de sus profármacos, o de la composición farmacéutica de la invención que produzca el efecto deseado y, en general, vendrá determinada, entre otras causas, por las características propias de dichos compuestos y de dicha composición farmacéutica y el efecto terapéutico a conseguir.

El término “agente inhibidor” se refiere, en la presente descripción, a cualquier compuesto capaz de suprimir parcial o totalmente la actividad enzimática del péptido UL89-C en cualquiera de los puntos de sus vías de actuación, de su ARN mensajero, del gen *ul89* que lo codifica o de sus transcritos primarios o procesados.

Se entiende por “UL89-C” el péptido SEQ ID NO: 1 con actividad nucleasa codificado por la SEQ ID NO: 2 incluida en el exón 2 del gen *ul89* de SEQ ID NO: 3, que corresponde a la región C-terminal de la proteína UL89 de SEQ ID NO: 4, subunidad que forma parte del complejo proteico terminasa, en concreto comprende los residuos aminoacídicos 418 a 674 de dicha proteína.

La subunidad UL89 está implicada en los procesos de corte y empaquetamiento del ADN viral en la procápsida, necesarios para que se produzca la replicación viral. En concreto, la región C-terminal de la proteína, que en la presente invención se denomina UL89-C SEQ ID NO: 1, es la portadora de la actividad nucleasa encargada de fragmentar el ADN del virus en copias de menor tamaño que puedan ser empaquetadas posteriormente. Por ello, la inhibición de este péptido SEQ ID NO: 1 es útil en el tratamiento de las infecciones causadas por herpesvirus, preferiblemente, por el citomegalovirus y más preferiblemente por el citomegalovirus humano, porque impide la replicación viral y por tanto la formación de nuevos viriones.

Dado que los miembros de la familia *Herpesviridae* son afines en cuanto a su evolución, la homología global de los genomas al nivel de la secuencia de nucleótidos es elevada. Por tanto, esta subunidad UL89, y más concretamente el péptido UL89-C SEQ ID NO: 1, presenta proteínas homologas en otros miembros de la familia de los herpesvirus como en el virus del herpes simplex tipo 1, virus del herpes simplex tipo 2, virus zoster de la varicela, virus Epstein-Barr, citomegalovirus, roseolovirus o herpesvirus asociado al sarcoma de Kaposi, como se muestra en la figura 3 de la presente invención. En base a esto, aunque los ejemplos de la presente invención estén basados en la acción del compuesto de la invención, preferiblemente raltegravir, sobre el péptido UL89-C SEQ ID NO: 1 del citomegalovirus humano, esto no pretende ser limitativo ya que dicho compuesto también es capaz de inhibir péptidos homólogos en estos otros miembros la familia de los herpesvirus, y por tanto es de utilidad para la elaboración de medicamentos destinados al tratamiento de infecciones provocadas por cualquier miembro de la familia *Herpesviridae*.

A partir del análisis de la estructura tridimensional del péptido UL89-C SEQ ID NO: 1, previamente divulgada, se ha podido determinar una similitud estructural entre este péptido y las enzimas nucleasas y polinucleotidil transferasas de la superfamilia de las RNasas H, dentro de las cuales se encuentra la integrasa del VIH, cuyas estructuras tridimensionales se recogen en las figuras de la presente invención (figuras 1 y 2). Como se muestra en los ejemplos de la presente invención, las estructuras tridimensionales de ambas proteínas presentan el mismo esquema de plegamiento básico, además la posición del centro activo de la UL89-C es equivalente a la de otros miembros de la superfamilia de las RNasas H. Esta equivalencia estructural entre la integrasa del VIH y la UL89-C del citomegalovirus, podría significar que el péptido UL89-C pudiese ser inhibido por, al menos, uno de los agentes inhibidores capaces de suprimir parcial o totalmente la actividad enzimática de la integrasa del VIH, dentro de los cuales se encuentra el compuesto de la invención, preferiblemente el raltegravir.

Los ensayos de inhibición de la actividad enzimática nucleasa del péptido UL89-C SEQ ID NO: 1 con el agente inhibidor raltegravir muestran, como puede observarse en los ejemplos de la presente invención, que existe una reducción dosis dependiente en dicha actividad nucleasa bajo la administración de concentraciones del compuesto que se encuentran, preferiblemente, en un rango de entre 0,5 y 512 μM , y más preferiblemente en un rango de entre 1 y 512 μM ; aunque el empleo de raltegravir no pretende ser limitativo, ya que el compuesto de la invención de fórmula general (I) o sus profármacos pueden ser asimismo utilizados para la elaboración de medicamentos destinados al tratamiento de infecciones causadas por herpesvirus. Por ello, en otra realización preferida, el compuesto de la invención, preferiblemente el raltegravir, se encuentra en un rango de concentraciones de entre 0,5 y 512 μM y en una realización más preferida, el compuesto de la invención, preferiblemente el raltegravir, se encuentra en un rango de concentraciones de entre 1 y 512 μM .

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra “comprende” y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y dibujos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

Descripción de las figuras

Fig. 1. Muestra la estructura de UL89-C y de las proteínas estructuralmente relacionadas. Diagramas en cintas y topología de la UL89-C de la terminasa del citomegalovirus humano (HCMV), de la resolvasa de uniones Holliday RuvC de *E. coli* (código en el Protein Data Bank o PDB: 1HJR), del dominio nuclear de la integrasa del VIH o HIV IN (código en el PDB: 1BL3), y de la RNasa H1 humana (código en el PDB: 2QKB). En los diagramas topológicos los círculos representan hélices mientras que los triángulos representan láminas β . El catión en el centro activo se representa como semitransparente en el dibujo de RuvC. En colores más oscuros aparecen los elementos estructurales secundarios equivalentes implicados en la formación del centro activo (dos láminas β y una hélice α).

Fig. 2. Muestra los detalles del centro activo de UL89-C del HCMV, de gp17 de RB49 (código en el PDB: 3c6a), de la integrasa del VIH (código en el PDB: 1BL3), de la RNasa H1 humana (código en el PDB: 2QKB), de la RuvC de *E. coli* (código en el PDB: 1HJR) y de la transposasa Tn5 (código en el PDB: 1MM8). Aparecen como esferas los iones metálicos. La hélice $\alpha 6$, aunque ocupa una posición equivalente, se orienta en UL89-C, en gp17 y en RuvC en dirección opuesta con respecto a las otras enzimas (flechas).

Fig. 3. Representa la superficie de UL89-C y los alineamientos de secuencias de este péptido con proteínas homologas en otros herpesvirus. (A) Superficie conservada de UL89-C basada en un cálculo del grado de similitud entre secuencias según la matriz de Risler. Las regiones más oscuras corresponden a las más conservadas. Las flechas blancas señalan esferas que representan iones metálicos. (B) Muestra el potencial electrostático de la superficie de UL89-C en la misma vista que en (A). Las regiones más oscuras corresponden a las más electronegativas. (C) Alineamiento

to por homología de secuencias de UL89-C del herpesvirus humano y representación de la estructura secundaria de UL89-C del HCMV en base a la estructura tridimensional. Se alinean, utilizando CLUSTALW (algoritmo Blosum), se han identificado ocho proteínas homólogas a UL89 en los herpesvirus, HHV5 UL89, HHV1 UL15, HHV2 UL15, VZV 45/42, HHV4 BGRF1-BDRF1, HHV6 U66, HHV8 ORF29 y HHV7 U60. Los residuos conservados se incluyen en los rectángulos. Las flechas indican residuos del centro activo implicados en la coordinación de los metales. Los triángulos claros indican los residuos de la hélice $\alpha 4$ implicados en la interacción con UL56. Los triángulos oscuros indican los residuos implicados en la dimerización de la proteína. Las líneas indican residuos que no se trazaron en la estructura tridimensional debido a desorden cristalográfico de las zonas correspondientes en el cristal de proteína.

Fig. 4. Muestra el ensayo *in vitro* de la actividad nucleasa de UL89-C. (A) Efecto de cationes divalentes en la actividad nucleasa de la UL89-C sobre el ADN de doble banda lineal. Carril 1: plásmido lineal pUC18 (digerido con HindIII) en ausencia de la nucleasa. Carril 2: reacción de la nucleasa en ausencia de cationes divalentes. Carril 3: reacción de la nucleasa en presencia de Mg^{2+} . Carril 4: reacción de la nucleasa en presencia de Ca^{2+} . Carril 5: reacción de la nucleasa en presencia de Mn^{2+} . Solamente en presencia de Mn^{2+} UL89 es capaz de degradar el DNA por completo (punta de flecha). (B) Efecto de cationes divalentes en la actividad nucleasa de la UL89-C sobre ADN de doble banda circular. Carril 1: plásmido pUC18 circular en ausencia de nucleasa. Carril 2: plásmido lineal pUC18 (digerido con HindIII) en ausencia de la nucleasa. Carril 3: reacción de la nucleasa en ausencia de cationes divalentes. Carril 4: reacción de la nucleasa en presencia de Mg^{2+} . Carril 5: reacción de la nucleasa en presencia de Ca^{2+} . Carril 6: reacción de la nucleasa en presencia de Mn^{2+} . Se aprecia que la función de la nucleasa está fuertemente activada por cationes Mn^{2+} ya que, en los carriles correspondientes, la banda de ADN desaparece apreciándose la degradación del mismo en zonas del gel correspondientes a oligonucleótidos de bajo peso molecular (punta de flecha). (C) Ensayos de la nucleasa con proteínas UL89-C mutantes y wild type (WT o silvestre) con ADN de doble banda lineal. Carril 1: plásmido lineal pUC18 (digerido con HindIII) en ausencia de nucleasa. Carril 2: ensayo nucleasa con proteínas WT. Carril 3: ensayo de la nucleasa con el mutante simple D463A. Carril 4: ensayo de la nucleasa con el mutante simple D651A. Carril 5: ensayo de la nucleasa con el mutante doble D463A E534A. La mutación de residuos del centro activo inactiva la proteína, que de otra manera degrada completamente al ADN (punta de flecha). (D) Ensayo de la nucleasa con UL89-C WT y proteínas mutantes con ADN de doble banda circular. Carril 1: plásmido circular pUC18 en ausencia de la nucleasa. Carril 2: ensayo de la nucleasa con la proteína WT. Carril 3: ensayo de la nucleasa con el mutante simple D463A. Carril 4: ensayo de la nucleasa con el mutante simple D651A. Carril 5: ensayo de la nucleasa con el mutante doble D463A E534A. “ni-oc” ADN cortado de una sola cadena, “li” ADN lineal, “se” ADN superenrollado, la punta de flecha indica DNA totalmente degradado. Las proteínas mutantes solo muestran función nucleasa residual.

Fig. 5. Muestra la inhibición de la actividad nucleasa de la UL89-C por raltegravir. Carril 1: plásmido pUC18 lineal (digerido con HindIII) en ausencia de la nucleasa. Carril 2: plásmido pUC18 circular en ausencia de la nucleasa. Carril 3: ensayo de la nucleasa con la proteína UL89-C WT. Carriles 4-14: ensayos de la nucleasa en presencia de diferentes concentraciones de raltegravir (0,5; 1; 2; 4; 8; 16; 32; 64; 128; 256 y 512 μM). Se aprecia que la función de la nucleasa es inhibida progresivamente por concentraciones crecientes de raltegravir. “ni-oc” ADN cortado de una sola cadena, “li” ADN lineal, “se” ADN superenrollado.

Ejemplos

A continuación se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores, que ponen de manifiesto la efectividad del raltegravir en la inhibición de la actividad nucleasa de UL89-C SEQ ID NO: 1. Estos ejemplos específicos que se proporcionan sirven para ilustrar la naturaleza de la presente invención y se incluyen solamente con fines ilustrativos, por lo que no han de ser interpretados como limitaciones a la invención que aquí se reivindica. Por tanto, los ejemplos descritos más adelante ilustran la invención sin limitar el campo de aplicación de la misma.

Ejemplo 1

Purificación de las proteínas UL89-C nativas y mutantes

Para expresar el péptido UL89-C y sus variantes mutantes, se transforman células de la cepa *rosetta* de *E. coli* con los plásmidos pHAR-UL89-C (conteniendo la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2 que codifica para el péptido UL89-C SEQ ID NO: 1 *wild type*), pHAR-UL89-C-D463A (mutación en el aminoácido aspártico 463 de la secuencia de UL-89), pHAR-UL89-C-D651A (mutación en el aminoácido aspártico 651) y pHAR-UL89-C-D463A-E534A (mutaciones en el aminoácido aspártico 463 y glutámico 534). Los cultivos son crecidos en presencia de cloranfenicol (34 $\mu g/mL$) y kanamicina (50 $\mu g/mL$) a 37°C hasta que alcanzan una densidad óptica (DO_{600}) de 0,5. La expresión de proteína recombinante es inducida por la adición de 0,1 mM IPTG y los cultivos son incubados 72 h a 16°C. Las células se recogen centrifugando 20 minutos a 5.000 g, se resuspenden en 50 mL de solución de lisis (50 mM Tris pH8, 200 mM NaCl, 20 mM imidazol y 8 mg/l de DNasa I) y son sonicadas. El material no disuelto es sedimentado mediante centrifugación (20 minutos, 20.000 g, a 4°C), y la muestra se filtra con un filtro de 0,45 μm . Se realiza una purificación de afinidad por níquel con una columna de 5 mL HisTrap HP (GE Healthcare) equilibrada con 5 volúmenes de columna del tampón de unión (50 mM Tris pH8, 200 mM NaCl, 20 mM imidazol). La elución se realiza con un gradiente lineal de 20 volúmenes de columna del tampón de elución (50 mM Tris pH8, 200 mM NaCl, 500 mM imidazol). Las fracciones obtenidas se analizan por SDS-PAGE. Se efectúa un segundo paso de purificación usando

ES 2 362 598 A1

una columna Mono Q (GE Healthcare) equilibrada con 5 volúmenes de columna de tampón de unión (30 mM Tris pH 8, 50 mM NaCl). La elución se realiza usando un gradiente lineal de 50 mM - 1 M NaCl. Las fracciones obtenidas nuevamente se analizan por SDS-PAGE. Las fracciones conteniendo UL89-C se concentran. El tercer y último paso de purificación consiste en una columna de gel de filtración Superdex 75 10/300 GL usando como tampón 30 mM tris pH8, 50 mM NaCl. La proteína UL89-C se eluye a 10,5 mL, volumen correspondiente a aproximadamente 31 kD. Tanto la proteína nativa como las mutantes se purifican con el mismo rendimiento.

Ejemplo 2

Comparación de la estructura de UL89-C con proteínas de la superfamilia de la RNasa H

Una búsqueda bioinformática indica que el péptido UL89-C tiene el plegamiento característico de las proteínas de la superfamilia de nucleasas y transferasas de polinucleótidos RNasa H. Ya se demostró anteriormente por otros autores que el dominio C terminal de la proteína homóloga gp17 del bacteriófago RB49 encajaba bien en esta superfamilia de proteínas.

Las proteínas de esta superfamilia tienen actividades nucleasa o de transferencia de polinucleótidos. Esta familia incluye la resolvasa *Holliday junction* RuvC, la cual tiene como función cortar las uniones entrecruzadas para producir dúplex de ADN desconectados. Otras proteínas de esta familia son las integrasas del VIH y ASV, las cuales catalizan la integración del ADN viral inversamente transcrito en el genoma del organismo huésped; Argonauta (el dominio PIWI), la cual corta el ARNm guiada por siRNA, miRNA o piRNA en el complejo RISC; transposasas, las cuales catalizan la inserción de secuencias móviles de ADN dentro de los cromosomas; Prp, una proteína del espliceosoma; y por último la RNasa H, la cual hidroliza la hebra de ARN en los híbridos ARN/ADN (por ejemplo, en los fragmentos de Okazaki).

La proteína más parecida estructuralmente a UL89-C es la gp17 del bacteriófago RB49 (RMSD o *Root mean square deviation* 2,6 Å para 158 Cα equivalentes) seguida por la resolvasa *Holliday junction* RuvC (RMSD 2,6 Å para 115 Cα equivalentes), la integrasa del VIH (RMSD 2,6 Å para 78 Cα equivalentes) y la integrasa del ASV (RMSD 2,9 Å para 85 Cα equivalentes). Las estructuras cristalinas de todas estas proteínas exhiben el mismo plegamiento básico a pesar de su bajo parecido en la secuencia de aminoácidos. La homología estructural entre estas enzimas puede estar descrita por el patrón estructural de la RNasa H1 humana (*Hs-RNasa H1*), que consiste en una lámina β de cinco hebras rodeada por hélices α por ambos lados. El orden y la orientación de las hebras dentro de la lámina β están conservados: 3, 2, 1, 4 y 5 (↑↓↑↑↑)- Estas hebras equivalen a las hebras 4, 3, 2, 5 y 6, respectivamente de la UL89-C. Las hélices αA, αB y αE de la Hs-RNasa H1 corresponden a las hélices α2, α3 y α6 de la UL89-C. Todos estos elementos están ordenados de modo semejante en todas las proteínas de la superfamilia, excepto para la α6 que corre en dirección contraria en UL89-C, gp17 y RuvC con relación a los otros integrantes de la superfamilia. UL89-C es más grande y más compleja que la RNasa H, la integrasa o la resolvasa, con una lámina β central compuesta por 8 hebras en vez de 5. Además, UL89-C también tiene hélices α y otros elementos estructurales como una horquilla β. Otros integrantes de la superfamilia, como la transposasa Tn5 y la Piwi-Argonauta, también tienen elementos estructurales adicionales alrededor del plegamiento básico de la RNasa H, aunque son muy diferentes a los encontrados en UL89-C, reflejando sus diversas funciones, sustratos e interacciones con otras proteínas (Figura 1).

La posición del centro activo de UL89-C es equivalente a la de otros miembros de la superfamilia de las RNasas-H (Figura 2).

Ejemplo 3

Inactivación por raltegravir

Para los ensayos de actividad enzimática, se incuban muestras de las proteínas UL89-C nativa y mutantes (expresadas y purificadas como se describe en el ejemplo 1) (concentración final de 2 μM) con 200 ng de plásmido pUC18 circular o lineal (digerido con HindIII) en una reacción con 30 mM Tris pH 8 y 50 mM NaCl durante una hora a 37°C. El efecto de diferentes iones se analiza añadiendo 3 mM (concentración final) de MgCl₂, CaCl₂ o MnCl₂. La reacción se termina añadiendo 30 mM (concentración final) de EDTA. Las muestras se analizan por electroforesis en gel de agarosa y tinción con bromuro del etidio. Los resultados de la actividad nucleasa de la UL89-C se observan en la figura 4, los cuales muestran que las proteínas mutadas tienen disminuida su actividad nucleasa. UL89-C es capaz de degradar ADN lineal y circular y esta función es incrementada por la adición de Mn²⁺. En presencia de UL89-C, el ADN circular superenrollado (se) se convierte primero en ADN cortado por una sola cadena (ni-oc), posteriormente en ADN lineal (li) y finalmente es totalmente degradado. De modo semejante, UL89-C puede también degradar ADN lineal. El comportamiento observado es similar al descrito anteriormente para la proteína UL89 entera. La reacción hecha en las mismas condiciones pero en presencia de Mg²⁺ en lugar de Mn²⁺ sólo puede convertir el plásmido circular superenrollado en ADN cortado por una sola cadena. Cuando la reacción se hace en presencia de Ca²⁺ esta reacción es aun menos eficiente. Los mutantes simples D463A, D651A y el mutante doble D463A E534A muestran sólo actividad residual. Estos resultados confirman que el dominio UL89-C hospeda la actividad nucleasa crítica de la proteína entera.

ES 2 362 598 A1

La integrasa del VIH, proteína estructuralmente relacionada con UL89-C, ha sido extensamente estudiada como diana terapéutica y ya hay varios inhibidores de esta enzima en estudio. Uno de ellos, raltegravir, fue aprobado por la FDA en octubre de 2007. Se agregan a la reacción diferentes concentraciones de raltegravir (obtenido en CHEMIE-TEK): 0,5; 1; 2; 4; 8; 16; 32; 64; 128; 256 y 512 μM . Se prepara una solución madre de raltegravir 5 mM al 50% de DMSO y seguidamente se diluye con 30 mM tris pH, 50 mM NaCl hasta obtener la concentración final deseada.

Se detecta una reducción en la actividad nucleasa de UL89-C proporcional al incremento de la concentración del compuesto raltegravir (Figura 5). Esto sugiere que la unión de UL89-C con raltegravir puede ser similar a la unión de la integrasa del VIH con este compuesto, y que *el empleo del mismo es de utilidad para la inhibición de UL89-C y por tanto para la inhibición de la replicación viral del citomegalovirus humano.*

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

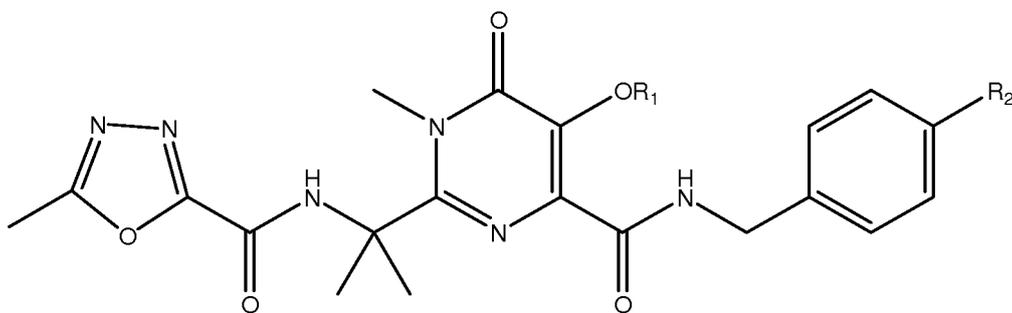
REIVINDICACIONES

1. Uso del compuesto de fórmula general (I):

5

10

15



20

Fórmula (I)

25

donde R_1 es hidrógeno y R_2 es un halógeno,

para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de infecciones provocadas por herpesvirus.

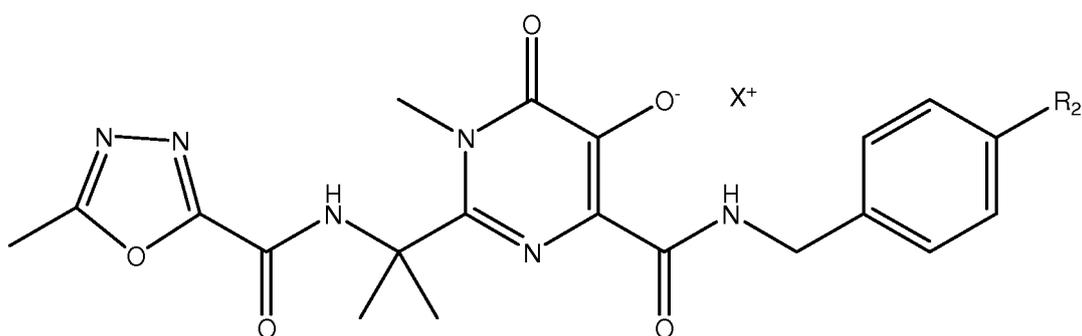
30

2. Uso del compuesto según la reivindicación 1 donde el compuesto está en forma de sal de fórmula general (II):

35

40

45



Fórmula (II)

50

donde: X^+ es un catión de metal alcalino.

3. Uso del compuesto según la reivindicación 2, donde la sal es de potasio.

55

4. Uso del compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 donde R_2 es F.

60

5. Uso del compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, donde dicho compuesto es la sal de fórmula N-[(4-Fluorofenil)metil]-1,6-dihidro5-hidroxi-1-metil-2-[1-metil-1-[(5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)carbonil]amino]etil]-6-oxo-4-pirimidinacarboxamida monopotásica.

65

6. Uso del compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 donde el herpesvirus se selecciona de la lista que comprende: virus del herpes simplex 1, virus del herpes simplex 2, virus zoster de la varicela, virus Epstein-Barr, citomegalovirus, roseolovirus o herpesvirus asociado al sarcoma de Kaposi.

7. Uso del compuesto según la reivindicación 6 donde el herpesvirus es el citomegalovirus.

8. Uso del compuesto según la reivindicación 7 donde el citomegalovirus es humano.

FIG. 1

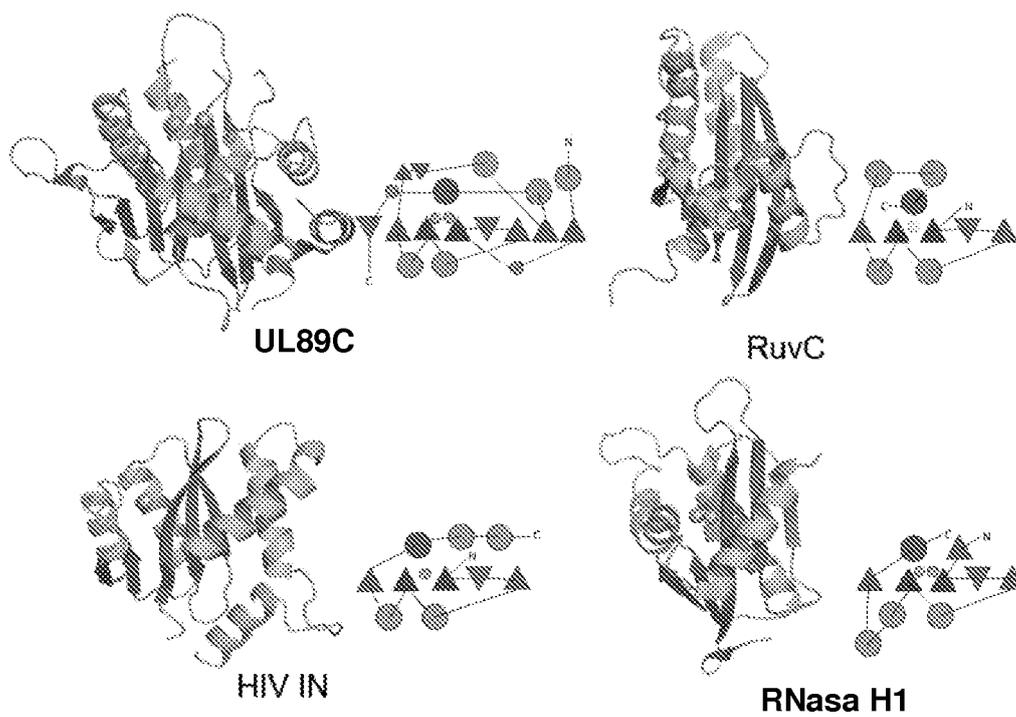


FIG. 2

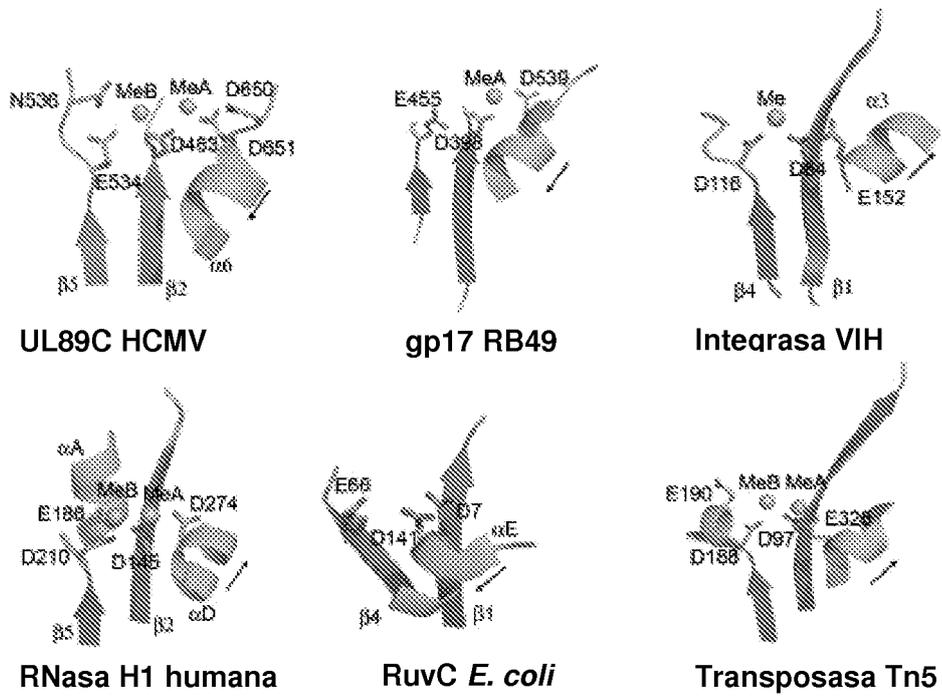


FIG. 4

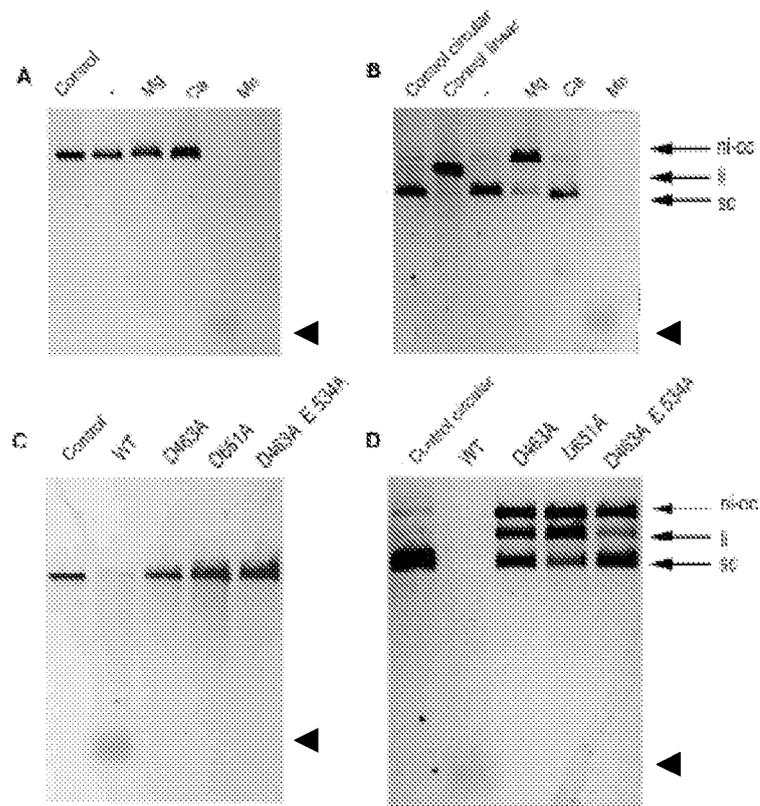
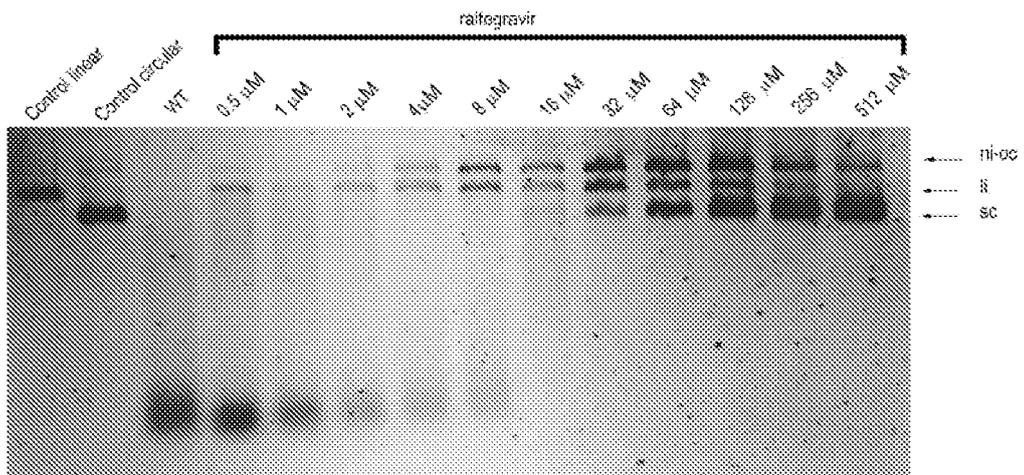


FIG. 5



ES 2 362 598 A1

LISTA DE SECUENCIAS

<110> Consejo Superior de investigaciones Científicas (CSIC)

5 <120> Uso del raltegravir y derivados para la elaboración de medicamentos destinados al tratamiento de infecciones por herpesvirus

<130> IP1641.539

10

<160> 4

<170> PatentIn version 3.5

15

<210> 1

<211> 257

<212> PRT

20

<213> Human cytomegalovirus

<400> 1

25

Gly Gly Thr Asn Lys Ile Ser Gln Asn Thr Val Leu Ile Thr Asp Gln
1 5 10 15

30

Ser Arg Glu Glu Phe Asp Ile Leu Arg Tyr Ser Thr Leu Asn Thr Asn
20 25 30

35

Ala Tyr Asp Tyr Phe Gly Lys Thr Leu Tyr Val Tyr Leu Asp Pro Ala
35 40 45

40

Phe Thr Thr Asn Arg Lys Ala Ser Gly Thr Gly Val Ala Ala Val Gly
50 55 60

45

Ala Tyr Arg His Gln Phe Leu Ile Tyr Gly Leu Glu His Phe Phe Leu
65 70 75 80

50

Arg Asp Leu Ser Glu Ser Ser Glu Val Ala Ile Ala Glu Cys Ala Ala
85 90 95

55

His Met Ile Ile Ser Val Leu Ser Leu His Pro Tyr Leu Asp Glu Leu
100 105 110

60

Arg Ile Ala Val Glu Gly Asn Thr Asn Gln Ala Ala Ala Val Arg Ile
115 120 125

65

Ala Cys Leu Ile Arg Gln Ser Val Gln Ser Ser Thr Leu Ile Arg Val
130 135 140

Leu Phe Tyr His Thr Pro Asp Gln Asn His Ile Glu Gln Pro Phe Tyr
145 150 155 160

Leu Met Gly Arg Asp Lys Ala Leu Ala Val Glu Gln Phe Ile Ser Arg
165 170 175

Phe Asn Ser Gly Tyr Ile Lys Ala Ser Gln Glu Leu Val Ser Tyr Thr

ES 2 362 598 A1

			180							185							190
5	Ile	Lys	Leu	Ser	His	Asp	Pro	Ile	Glu	Tyr	Leu	Leu	Glu	Gln	Ile	Gln	
			195					200					205				
10	Asn	Leu	His	Arg	Val	Thr	Leu	Ala	Glu	Gly	Thr	Thr	Ala	Arg	Tyr	Ser	
		210					215					220					
15	Ala	Lys	Arg	Gln	Asn	Arg	Ile	Ser	Asp	Asp	Leu	Ile	Ile	Ala	Val	Ile	
	225					230					235					240	
20	Met	Ala	Thr	Tyr	Leu	Cys	Asp	Asp	Ile	His	Ala	Ile	Arg	Phe	Arg	Val	
					245					250					255		
	Ser																

<210> 2

<211> 774

25 <212> DNA

<213> Human cytomegalovirus

<400> 2

30	ggcgggtacca	ataagatctc	gcaaaacacc	gtgctcatca	cggaccagag	ccgccaagag	60
	ttcgatattt	tgcgttacag	cacgctcaac	accaacgcct	acgattattt	cggcaagacg	120
35	ctctacgtat	atctggacc	ggccttcacc	accaaccgca	aggcctcggg	cacgggcgtg	180
	gcgggccgtag	gcgccctaccg	acaccagttt	ctcattttacg	gcctagagca	tttctttttg	240
	cgcgacctct	ccgagagttc	tgaggtagcc	atcgccgagt	gcgcggcgca	catgatcatc	300
40	tcggtgctga	gcctgcaccc	ttacctggac	gaactgctga	tcgccgtgga	gggcaacact	360
	aaccaggcgg	cggccgtgcg	catcgctgc	ctcatccgac	agagcgtgca	gagtagcacg	420
	ctcatccgcy	tgctcttcta	ccacacgccc	gaccagaacc	acatcgaaca	gcccttctac	480
45	ctcatgggccc	gcgacaaggc	gctggccgta	gaacagttca	tctcgcgttt	caactcgggc	540
	tacatcaaag	cctcgcaaga	gctcgtctcc	tacacatca	agctgagcca	cgaccccatc	600
50	gagtatcttc	tggagcagat	tcagaacctg	caccgcgtca	cgctggccga	aggcacgacg	660
	gcacgctact	cggccaagcg	ccagaatcgt	atctcggacg	atcttatcat	agccgtcatc	720
	atggccacct	acctgtgtga	cgagatacac	gccatccggt	tcagggtcag	ctag	774

55 <210> 3

<211> 2025

<212> DNA

60 <213> Human cytomegalovirus

<400> 3

65	atgttgcgcg	gagactcggc	cgccaagatc	caggagcgct	acgcggagct	gcagaagcgc	60
	aagagccacc	ccacctcctg	catctccacg	gccttcacca	atgtggcggc	gctgtgcccg	120

ES 2 362 598 A1

	aagcgctacc	agatgatgca	ccccgaactc	gggctggccc	actcgtgcaa	cgaggccttc	180
	ctgccgctca	tggccttctg	cggccgccac	cgcgactaca	actcgcccga	ggaaagccag	240
5	cgcgagctgc	tgtttcacga	gcgcctcaag	agcgcgctcg	atgaactgac	gtttcgccccg	300
	tgctccgagg	agcagcgcg	ctcctaccag	aagctggacg	cgttgaccga	gctctaccgc	360
	gatccgcagt	ttcagcagat	caacaacttc	atgaccgact	ttaaaaagtg	gctcgacggc	420
10	ggcttcagta	ccgccgtcga	gggcgacgca	aaagccatcc	gactcgaacc	gtttcaaaaag	480
	aattttattga	tacacgtcat	cttttttata	gccgtgacca	agatccccgt	gctggccaat	540
15	cgcgctgctgc	agtacctcat	ccacgccttc	cagatcgact	tcctctcgca	gacctccatc	600
	gacatcttta	agcagaaaagc	caccgtgttc	ctggtgccgc	gacgtcacgg	caagacttgg	660
	ttcatcatcc	ccattatctc	gtttctgctt	aagcacatga	tcggcatcag	catcggctac	720
20	gtggcgacc	aaaagcacgt	gtcgcagttt	gtgctcaaag	aggtcgagtt	ccgctgccgc	780
	cacaccttcg	cgcgcgacta	cgtggctgag	aacaaggaca	acgtgatcag	catcgaccac	840
25	cgcgggccca	agagcacggc	gctttttgcc	agttgctaca	acaccaacag	catccgagga	900
	caaaacttcc	acttgctgct	ggtggacgag	gcgcaattca	tcaagaaaga	ggccttcaac	960
	accattctgg	ggttcctggc	acagaatacc	accaagatca	tcttcatatc	gtccaccaac	1020
30	actaccagtg	acgccacgtg	tttcttgacg	cgcctcaaca	atgcgccctt	tgacatgctc	1080
	aacgtggtct	cttacgtgtg	cgaagagcac	ctgcacagct	tcacggagaa	gggcgacgcc	1140
35	acggcctgtc	cttgctaccg	actgcacaag	cccaccttca	tcagcctcaa	ctcgcaggtg	1200
	cgcaagacgg	ccaacatggt	tatgccgggc	gccttcatgg	acgagatcat	cggcggtacc	1260
	aataagatct	cgcaaaacac	cgtgctcatc	acggaccaga	gccgcgaaga	gttcgatatt	1320
40	ttgcgttaca	gcacgctcaa	caccaacgcc	tacgattatt	tcggcaagac	gctctacgta	1380
	tatctggacc	cggccttcac	caccaaccgc	aaggcctcgg	gcacgggcgt	ggcggccgta	1440
45	ggcgcctacc	gacaccagtt	tctcatttac	ggcctagagc	atctcttttt	gcgcgacctc	1500
	tccgagagtt	ctgaggtagc	catcgccgag	tgcgcggcgc	acatgatcat	ctcggtgctg	1560
	agcctgcacc	cttacctgga	cgaactgcgt	atcgccgtgg	agggcaacac	taaccaggcg	1620
50	gcgcccgctgc	gcatcgcctg	cctcatccga	cagagcgtgc	agagtagcac	gctcatccgc	1680
	gtgctcttct	accacacgcc	cgaccagaac	cacatcgaac	agcccttcta	cctcatgggc	1740
	cgcgacaagg	cgctggccgt	agaacagttc	atctcgcgtt	tcaactcggg	ctacatcaaa	1800
55	gcctcgcaag	agctcgtctc	ctacaccatc	aagctgagcc	acgaccccat	cgagtatctt	1860
	ctggagcaga	ttcagaacct	gcaccgcgtc	acgctggccg	aaggcacgac	ggcacgctac	1920
60	tcggccaagc	gccagaatcg	tatctcggac	gatcttatca	tagccgtcat	catggccacc	1980
	tacctgtgtg	acgagataca	cgccatccgt	ttcagggcca	gctag		2025

65

ES 2 362 598 A1

<210> 4

<211> 674

<212> PRT

5 <213> Human cytomegalovirus

<400> 4

```

10      Met Leu Arg Gly Asp Ser Ala Ala Lys Ile Gln Glu Arg Tyr Ala Glu
       1          5          10          15
15      Leu Gln Lys Arg Lys Ser His Pro Thr Ser Cys Ile Ser Thr Ala Phe
       20          25          30
20      Thr Asn Val Ala Thr Leu Cys Arg Lys Arg Tyr Gln Met Met His Pro
       35          40          45
25      Glu Leu Gly Leu Ala His Ser Cys Asn Glu Ala Phe Leu Pro Leu Met
       50          55          60
30      Ala Phe Cys Gly Arg His Arg Asp Tyr Asn Ser Pro Glu Glu Ser Gln
       65          70          75          80
35      Arg Glu Leu Leu Phe His Glu Arg Leu Lys Ser Ala Leu Asp Lys Leu
       85          90          95
40      Thr Phe Arg Pro Cys Ser Glu Glu Gln Arg Ala Ser Tyr Gln Lys Leu
       100          105          110
45      Asp Ala Leu Thr Glu Leu Tyr Arg Asp Pro Gln Phe Gln Gln Ile Asn
       115          120          125
50      Asn Phe Met Thr Asp Phe Lys Lys Trp Leu Asp Gly Gly Phe Ser Thr
       130          135          140
55      Ala Val Glu Gly Asp Ala Lys Ala Ile Arg Leu Glu Pro Phe Gln Lys
       145          150          155          160
60      Asn Leu Leu Ile His Val Ile Phe Phe Ile Ala Val Thr Lys Ile Pro
       165          170          175
65      Val Leu Ala Asn Arg Val Leu Gln Tyr Leu Ile His Ala Phe Gln Ile
       180          185          190
70      Asp Phe Leu Ser Gln Thr Ser Ile Asp Ile Phe Lys Gln Lys Ala Thr
       195          200          205
75      Val Phe Leu Val Pro Arg Arg His Gly Lys Thr Trp Phe Ile Ile Pro
       210          215          220
80      Ile Ile Ser Phe Leu Leu Lys His Met Ile Gly Ile Ser Ile Gly Tyr
       225          230          235          240

```

ES 2 362 598 A1

	Val	Ala	His	Gln	Lys 245	His	Val	Ser	Gln	Phe 250	Val	Leu	Lys	Glu	Val 255	Glu
5	Phe	Arg	Cys	Arg 260	His	Thr	Phe	Ala	Arg 265	Asp	Tyr	Val	Val	Glu 270	Asn	Lys
10	Asp	Asn	Val 275	Ile	Ser	Ile	Asp	His 280	Arg	Gly	Ala	Lys	Ser 285	Thr	Ala	Leu
15	Phe	Ala 290	Ser	Cys	Tyr	Asn	Thr 295	Asn	Ser	Ile	Arg	Gly 300	Gln	Asn	Phe	His
20	Leu 305	Leu	Leu	Val	Asp	Glu 310	Ala	His	Phe	Ile	Lys 315	Lys	Glu	Ala	Phe	Asn 320
25	Thr	Ile	Leu	Gly	Phe 325	Leu	Ala	Gln	Asn	Thr 330	Thr	Lys	Ile	Ile	Phe 335	Ile
30	Ser	Ser	Thr	Asn 340	Thr	Thr	Ser	Asp	Ser 345	Thr	Cys	Phe	Leu	Thr 350	Arg	Leu
35	Asn	Asn	Ala 355	Pro	Phe	Asp	Met	Leu 360	Asn	Val	Val	Ser	Tyr 365	Val	Cys	Glu
40	Glu	His 370	Leu	His	Ser	Phe	Thr 375	Glu	Lys	Gly	Asp	Ala 380	Thr	Ala	Cys	Pro
45	Cys 385	Tyr	Arg	Leu	His	Lys 390	Pro	Thr	Phe	Ile	Ser 395	Leu	Asn	Ser	Gln	Val 400
50	Arg	Lys	Thr	Ala	Asn 405	Met	Phe	Met	Pro	Gly 410	Ala	Phe	Met	Asp	Glu 415	Ile
55	Ile	Gly	Gly	Thr 420	Asn	Lys	Ile	Ser	Gln 425	Asn	Thr	Val	Leu	Ile 430	Thr	Asp
60	Gln	Ser	Arg 435	Glu	Glu	Phe	Asp	Ile 440	Leu	Arg	Tyr	Ser	Thr 445	Leu	Asn	Thr
65	Asn	Ala 450	Tyr	Asp	Tyr	Phe	Gly 455	Lys	Thr	Leu	Tyr	Val 460	Tyr	Leu	Asp	Pro
70	Ala 465	Phe	Thr	Thr	Asn	Arg 470	Lys	Ala	Ser	Gly	Thr 475	Gly	Val	Ala	Ala	Val 480
75	Gly	Ala	Tyr	Arg	His 485	Gln	Phe	Leu	Ile	Tyr 490	Gly	Leu	Glu	His	Phe 495	Phe
80	Leu	Arg	Asp	Leu 500	Ser	Glu	Ser	Ser	Glu 505	Val	Ala	Ile	Ala	Glu 510	Cys	Ala

ES 2 362 598 A1

	Ala	His	Met 515	Ile	Ile	Ser	Val	Leu 520	Ser	Leu	His	Pro	Tyr 525	Leu	Asp	Glu
5	Leu	Arg 530	Ile	Ala	Val	Glu	Gly 535	Asn	Thr	Asn	Gln	Ala 540	Ala	Ala	Val	Arg
10	Ile 545	Ala	Cys	Leu	Ile	Arg 550	Gln	Ser	Val	Gln	Ser 555	Ser	Thr	Leu	Ile	Arg 560
15	Val	Leu	Phe	Tyr	His 565	Thr	Pro	Asp	Gln	Asn 570	His	Ile	Glu	Gln	Pro 575	Phe
20	Tyr	Leu	Met	Gly 580	Arg	Asp	Lys	Ala	Leu 585	Ala	Val	Glu	Gln	Phe 590	Ile	Ser
25	Arg	Phe	Asn 595	Ser	Gly	Tyr	Ile	Lys 600	Ala	Ser	Gln	Glu	Leu 605	Val	Ser	Tyr
30	Thr	Ile 610	Lys	Leu	Ser	His	Asp 615	Pro	Ile	Glu	Tyr	Leu 620	Leu	Glu	Gln	Ile
35	Gln 625	Asn	Leu	His	Arg	Val 630	Thr	Leu	Ala	Glu	Gly 635	Thr	Thr	Ala	Arg	Tyr 640
40	Ser	Ala	Lys	Arg	Gln 645	Asn	Arg	Ile	Ser	Asp 650	Asp	Leu	Ile	Ile	Ala 655	Val
45	Ile	Met	Ala	Thr 660	Tyr	Leu	Cys	Asp	Asp 665	Ile	His	Ala	Ile	Arg 670	Phe	Arg
50	Val	Ser														
55																
60																
65																



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 200931188

②② Fecha de presentación de la solicitud: 17.12.2009

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: **A61K31/513** (01.01.2006)
A61P31/22 (01.01.2006)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	WO 2009129470 A2 (NANOBIO CORPORATION) 22.10.2009, página 15, líneas 4-8; página 44, línea 23 – página 47, línea 9.	1-8
A	US 2006122205 A1 (BELIK et al.) 08.06.2006, párrafos [0004]-[0007],[0015].	1-8

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
16.02.2011

Examinador
N. Vera Gutiérrez

Página
1/4

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61K, A61P

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, REGISTRY, CAS, WPI, EMBASE, MEDLINE, BIOSIS, NPL

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 16.02.2011

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-8	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 1-8	SI
	Reivindicaciones	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	WO 2009129470 A2 (NANOBIO CORPORATION)	22.10.2009
D02	US 2006122205 A1 (BELIK et al.)	08.06.2006

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La invención se refiere al uso del compuesto de fórmula I para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de infecciones provocadas por herpesvirus.

En el documento D01 se describen métodos para el tratamiento de infecciones por herpesvirus en humanos mediante la administración tópica de una composición en forma de nanoemulsión. Esta nanoemulsión posee actividad antiviral por sí misma y no necesita combinarse con ningún otro agente activo para obtener un efecto terapéutico (página 15, líneas 4-8). En la descripción se contempla la posibilidad de que la composición pueda incluir un principio activo y se enumera una larga lista de compuestos antivirales adicionales, entre los que figura raltegravir (página 44, línea 30 - página 45, línea 24). Sin embargo, no existe ningún ejemplo que demuestre que estas combinaciones se hayan llevado a cabo.

Por tanto, se considera que la invención recogida en las reivindicaciones 1-8 de la solicitud es nueva e implica actividad inventiva (Artículos 6.1 y 8.1 Ley de Patentes).