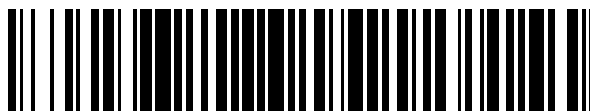


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 390 226**

51 Int. Cl.:
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01)
A61P 33/00 (2006.01)
A61K 31/352 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **05736144 .6**
96 Fecha de presentación: **29.04.2005**
97 Número de publicación de la solicitud: **1744781**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **24.01.2007**

54 Título: **Tratamiento de enfermedades infecciosas**

30 Prioridad:
30.04.2004 DK 200400680
08.11.2004 DK 200401716

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
07.11.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
07.11.2012

73 Titular/es:
BKG PHARMA APS (100.0%)
BIRGIT KJOLDGAARD GIWERCMAN VINTERVEJ 2
2920 CHARLOTTENLUND, DK

72 Inventor/es:
BIRGIT, KJÆLDGAARD GIWERCMAN

74 Agente/Representante:
DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 390 226 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

Tratamiento de enfermedades infecciosas.

CAMPO DE LA INVENCION

5 La presente invención se refiere al uso de compuestos quimiosensibilizantes, en particular derivados de tioxanteno y derivados de fenotiazina, para el tratamiento de enfermedades infecciosas en combinación con un agente anti-infeccioso, en donde la enfermedad infecciosa es causada por un agente infeccioso resistente a fármacos.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

10 La resistencia a la quimioterapia es un problema clínico común en pacientes con enfermedades infecciosas. Durante el tratamiento de infecciones, se descubre frecuentemente que las dianas de fármacos de las células de microorganismos procariontas o eucariontas son refractarias a una variedad de fármacos que tienen diferentes estructuras y funciones. Este fenómeno ha sido denominado resistencia a múltiples fármacos (abreviadamente en lo sucesivo MDR, por la expresión inglesa *multidrug resistance*). Los organismos que varían de bacterias a seres humanos poseen transportadores transmembranales que les confieren resistencia a compuestos tóxicos. Subrayando su importancia biológica, las proteínas transportadoras de múltiples fármacos eucariontas y procariontas son muy similares en su estructura y función. Además, otras clases de mecanismos de resistencia importantes en combinación con bombas de evacuación (salida) pueden cooperar dando origen con ello a altos niveles de resistencia. Existe una necesidad urgente de fármacos que puedan inhibir (invertir) o evitar los mecanismos de resistencia y que puedan mejorar la eficacia de los agentes anti-infecciosos comúnmente utilizados.

20 La incidencia de la resistencia antimicrobiana múltiple de bacterias que causan infecciones en hospitales/unidades de cuidados intensivos es creciente y no es inusual encontrar microorganismos insensibles a más de 10 antibióticos diferentes. Los ejemplos de estas bacterias resistentes incluyen *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina y resistente a metilicina-vancomicina; enterococos resistentes a vancomicina, tales como *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*; *Streptococcus pneumoniae* resistente a penicilina y bastoncillos gram-negativos, (coliformes) resistentes a cefalosporinas y quinolonas, tales como *E. coli*, especies de *Salmonella*, *Klebsiella pneumoniae*, especies de *Pseudomonas* y especies de *Enterobacter*. Más recientemente, han surgido bacilos gram-negativos y gram-positivos resistentes a antibióticos de todas las clases.

30 La rapidez de la aparición de esta resistencia a múltiples antibióticos no está siendo reflejada por la misma velocidad del desarrollo de nuevos antibióticos y, por lo tanto, es concebible que pronto los pacientes con infecciones graves ya no podrán ser tratados con los agentes anti-infecciosos actualmente disponibles. Varios informes internacionales han destacado los problemas potenciales asociados con la aparición de la resistencia antimicrobiana en muchas áreas de la medicina y también han señalado las dificultades en el manejo de pacientes con infecciones causadas por estos microorganismos.

35 Aunque la mayoría de los microorganismos más difíciles están presentes en los hospitales, las cepas de bacterias resistentes a múltiples fármacos, tales como *Streptococcus pneumoniae* y *Mycobacterium tuberculosis* también han causado graves infecciones adquiridas por la comunidad. La prevalencia de la cepa de *Streptococcus pneumoniae* resistente a fármacos ha incrementado 60 veces desde 1980 con 51% y 8% de aislados que demuestran resistencia a nivel intermedio o alto a la penicilina o cefalosporinas de tercera generación, respectivamente. Por tanto, la neumonía neumocócica está volviéndose más difícil de tratar con agentes anti-infecciosos de primera línea. Las bacterias resistentes de hospitales pueden ser introducidas en la comunidad por vía de pacientes dados de alta para el tratamiento continuo en el hogar que las tienen, por ejemplo, *Staphylococcus aureus* resistente a múltiples fármacos y enterococos resistentes a vancomicina.

45 Los mecanismos de resistencia en bacterias pueden ser mediados ya sea por vía de cromosomas o por vía de plásmidos. Los estudios de aparición de la resistencia muestran que la resistencia en bacterias puede surgir en etapas que progresan desde un bajo nivel hasta un alto nivel, a menos que se adquiera un plásmido en el cual ya está presente la resistencia plenamente desarrollada. Por ejemplo, los neumococos con resistencia inicial a la penicilina aparecieron con una susceptibilidad ligeramente disminuida al antibiótico pero a través del tiempo evolucionaron a una resistencia de alto nivel. La resistencia a la penicilina y tetraciclina entre los gonococos surge de manera similar. El fenómeno también se ha observado en *E. coli*, resistente a todas las clases de antibióticos, donde se requieren múltiples etapas para alcanzar un nivel de resistencia clínicamente relevante.

50 Los agentes anti-infecciosos pueden volverse inactivos por medio de tres mecanismos principales: i) destrucción o modificación del antibiótico (por ejemplo, por medio de la producción de beta-lactamas y enzimas inactivadoras de aminoglicósidos), ii) alteración del sitio diana y iii) prevención del acceso a la diana (por ejemplo, alteración de la permeabilidad o evacuación).

55 Los tres principales mecanismos de resistencia solos o en combinación son clínicamente importantes, conduciendo a un fallo en el tratamiento. Sin embargo, la resistencia a múltiples fármacos (MDR) relacionada con la evacuación ha llegado a ser apreciada recientemente como un factor de complicación significativo en la quimioterapia de

infecciones bacterianas.

Los mecanismos de evacuación que justifican la resistencia a una variedad de agentes anti-infecciosos se encuentran comúnmente en una amplia gama de bacterias. El término sistema de MDR se refiere a un grupo de transportadores, que son capaces de expulsar una amplia gama de sustratos muy diferentes. Aunque este tipo de sistema fue descrito primero en células eucariotas a finales de la década de 1980, la presencia de bombas de evacuación de la MDR en bacterias que muestran resistencia a varios fármacos ha sido descrita cada vez más en la bibliografía. Las líneas de células con MDR están asociadas en general a una acumulación de fármaco disminuida que es debido a la evacuación aumentada, así como también una entrada disminuida de fármacos quimioterapéuticos.

- 5
- 10 La sobreexpresión de bombas de evacuación de la MDR, después de la inducción o debido a la aparición de mutaciones en sus elementos regulatorios, es un mecanismo principal en la resistencia bacteriana adquirida a múltiples agentes anti-infecciosos. Se conocen dos grupos principales de sistemas de evacuación, exportadores y transportadores específicos que confieren resistencia a múltiples fármacos (MDR). Los sistemas de MDR son capaces de retirar los agentes anti-infecciosos de diferentes clases de las células bacterianas y ocasionalmente juegan un papel principal en la resistencia intrínseca de algunas bacterias a ciertos agentes anti-infecciosos. Sus genes están localizados comúnmente en el cromosoma bacteriano. Los mecanismos que conducen a la MDR son causados frecuentemente por moléculas de transporte xenobióticas, transmembranales que pertenecen a la superfamilia de transportadores del casete de unión a ATP (abreviadamente ABC, por sus siglas en inglés *ATP-binding cassette*). La evacuación de la MDR ha sido identificada principalmente con resistencia a compuestos tales como tetraciclinas, fluoroquinolonas, macrólidos, lincosamidas, rifampicina, cloranfenicol y aminoglicósidos. En contraste, los genes que codifican sistemas de evacuación específicos están asociados frecuentemente con elementos genéticos móviles, los cuales pueden ser intercambiados fácilmente entre bacterias. Los sistemas de evacuación específicos han sido identificados principalmente con resistencia a compuestos tales como macrólidos, lincosamidas y/o estreptograminas, tetraciclinas, así como también cloranfenicol en bacterias Gram-positivas y Gram-negativas.
- 15
- 20
- 25

La resistencia a agentes anti-virales es un problema mundial en una variedad de virus, tales como VIH en pacientes con SIDA y virus de Herpes. La resistencia a fármacos no está restringida a mutaciones bien conocidas en los virus sino que también se puede desarrollar a nivel celular en seres humanos. Se ha mostrado en la técnica anterior que la resistencia a AZT (3'-azido-2'-desoxitimidina) en VIH-1 es debido al mecanismo celular para la resistencia a AZT. La evacuación celular de AZT está marcadamente aumentada, conduciendo a la resistencia. Por tanto, el mecanismo de resistencia de la evacuación celular es un factor importante que limita la eficacia de agentes quimioterapéuticos anti-virales que son utilizados en el tratamiento de pacientes infectados con virus, tales como pacientes infectados con VIH y la inhibición de estos mecanismos de evacuación celular invertiría la resistencia y mejoraría el efecto del compuesto antiviral.

- 30
- 35 Las proteínas transportadoras de múltiples fármacos, procariontas y eucariotas son muy similares en su estructura y función. Para las células eucariotas, las bombas de evacuación de fármaco han sido observadas por muchos autores como sistemas de detoxificación basados en enzimas complementarias.

En las células procariontas, varias clases de mecanismos de resistencia en combinación con bombas de evacuación pueden cooperar, dando como resultado altos niveles de resistencia y fallo terapéutico.

- 40 La inhibición de los mecanismos de resistencia puede restablecer las actividades de agentes anti-infecciosos que son sustratos para estos mecanismos. La demostración y esclarecimiento recientes del fenómeno de desarrollo de resistencia ha conducido a la búsqueda de fármacos que podrían mejorar la eficacia de agentes anti-infecciosos.

Dos grupos potenciales de inhibidores de la MDR son las fenotiazinas y los tioxantenos. Las fenotiazinas y los tioxantenos se utilizan clínicamente como agentes neurolépticos y antieméticos. Las fenotiazinas y los agentes anti-psicóticos estructuralmente relacionados, inhiben varias enzimas celulares y bloquean la función de receptores celulares, críticos. Los efectos secundarios extrapiramidales que están asociados a la terapia anti-psicótica son atribuidos a la unión a los receptores de dopamina. En general, estos efectos secundarios, extrapiramidales han demostrado ser limitantes de la dosis en pruebas clínicas utilizando fenotiazinas y tioxantenos en campos no psicóticos, tal como el tratamiento anti-cáncer.

- 45
- 50 Se ha demostrado que las fenotiazinas y los tioxantenos inhiben la función de bombas de evacuación de la MDR en eucariotas y ciertas bombas de evacuación de la MDR en procariontas.

Se ha demostrado que las fenotiazinas están entre el grupo de fármacos conocidos que modifican la resistencia a uno o más agentes antibacterianos en ciertas bacterias. Aunque el mecanismo mediante el cual las fenotiazinas y otros fármacos modulan la MDR aún no está claro, se ha sugerido que sus propiedades farmacológicas pueden ser mediadas al menos en parte por la inhibición de las bombas de evacuación. También, la prometazina ha sido reconocida como un agente anti-plásmido eficaz en cultivos que contienen especies bacterianas tales como *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus* y *Agrobacterium tumefaciens*. Sin embargo, las concentraciones utilizadas son generalmente muy superiores a las concentraciones clínicamente relevantes.

- 55

El hecho de que las concentraciones eficaces sean superiores a las concentraciones clínicamente relevantes fue enfatizado por Kaatz et al., (2003). Aunque se mostró la inhibición de las bombas de evacuación en ciertos tipos de *S. aureus* por fenotiazinas seleccionadas y los dos estereoisómeros geométricos *cis* y *trans*-flupentixol, los autores aún concluyeron que "Desafortunadamente, los valores de las concentraciones inhibitorias del 50% (CI₅₀) de inhibidores para la evacuación de EtBr, acriflavina y pironina Y son superiores a los empleados en la práctica clínica".

Las fenotiazinas y tioxantenos tienen actividades anti-microbianas modestas, pero amplias. Las concentraciones inhibitorias mínimas (abreviadamente en lo sucesivo MIC por la expresión inglesa *Minimal Inhibitory Concentrations*) son generalmente superiores a las concentraciones clínicamente relevantes en tanto que las concentraciones eficaces mínimas *in vitro* son del orden de aproximadamente 20 mg/l hasta varios cientos de mg/l y los niveles relevantes en el suero varían desde aproximadamente 0,3 µg/l hasta 0,5 mg/l (0,3 ng/ml a 0,5 µg/ml).

Los tioxantenos demuestran una estereoisometría geométrica. Se ha demostrado previamente que las formas *cis* y *trans* tienen una potencia antibacteriana modesta, aproximadamente igual. Los valores de las MIC son generalmente muy superiores a las concentraciones clínicamente relevantes. En 1998, Kristiansen et al., sugirieron un efecto sinérgico entre la penicilina y el *trans*-clopenpentixol en un estudio utilizando un aislado patógeno de ratón no resistente de *Streptococcus pneumoniae* altamente sensible a la penicilina (MIC 0,02 µg/ml de penicilina). Sin embargo, los autores no mostraron diferencias significativas de los valores de MIC utilizando penicilina sola y penicilina en combinación con *trans*-clopenpentixol y no se realizaron estudios de correlación de concentración/respuesta/tiempo, es decir la concentración de los fármacos en los ratones infectados era desconocida. También, la respuesta de las bacterias infectadas en los ratones era desconocida.

Johnstone et al., mostraron en un estudio clínico del efecto anti-psicótico de *cis*-flupentixol frente *trans*-flupentixol frente placebo, que mientras el *cis*-flupentixol era un potente neuroléptico (especialmente para síntomas "positivos"), el *trans*-flupentixol no tuvo actividad como un anti-psicótico. Puesto que el *trans*-flupentixol es un antagonista de dopamina mucho menos potente y los efectos secundarios, extrapiramidales asociados con la terapia anti-psicótica son atribuidos a la unión a los receptores de dopamina, el *trans*-flupentixol carece de estos efectos secundarios.

La falta aparente de actividad anti-psicótica o efectos secundarios, extrapiramidales de las formas *trans* tales como *trans*-flupentixol y *trans*-clopenpentixol las hace particularmente atractivas para el uso como agentes anti-resistencia.

Varios derivados de fenotiazina y tioxanteno se describen en la Patente de EE.UU. Nº 6.569.853.

En la Patente UK Nº 925.538 se describe que el flupentixol tiene utilidad como tranquilizante, ataráctico, antiemético, antihistamínico, antiespasmódico y depresor general del sistema nervioso central. No se hace mención de ninguna actividad anti-infecciosa o anti-resistencia.

Varios derivados de tioxantenos se describen en la Patente UK Nº 863,699 como tranquilizantes. No se hace mención de alguna actividad anti-infecciosa o anti-resistencia.

A partir de la descripción anterior es claro que el aumento en la resistencia a agentes anti-infecciosos, tales como antibióticos, presenta un impedimento principal para el tratamiento de infecciones. Por tanto, existe una necesidad urgente de fármacos que puedan inhibir o evitar los mecanismos de resistencia y que puedan mejorar la eficacia de los agentes anti-infecciosos actualmente disponibles.

El objetivo de la presente invención es proporcionar compuestos quimiosensibilizantes que sean capaces de sensibilizar a células o microorganismos resistentes, incluyendo resistentes a múltiples fármacos, para un agente anti-infeccioso mediante la administración de cantidades clínicamente relevantes de estos compuestos quimiosensibilizantes a un sujeto que los necesite. Otro objetivo, pero relacionado, de la invención es mejorar la eficacia de los agentes anti-infecciosos para el tratamiento de enfermedades infecciosas, en particular cuando estas enfermedades infecciosas son causadas por microorganismos resistentes, incluyendo resistentes a múltiples fármacos.

SUMARIO DE LA INVENCION

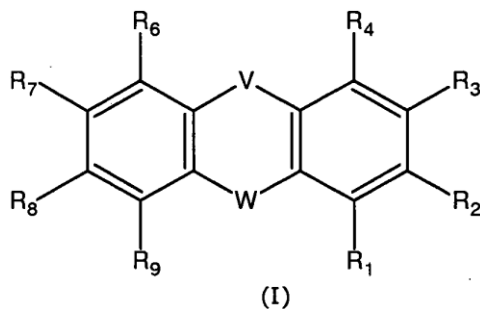
Como será entendido a partir de la descripción anterior, la técnica anterior ha considerado hasta ahora a los tioxantenos y las fenotiazinas como inadecuados para el tratamiento de enfermedades infecciosas en combinación con agentes anti-infecciosos, puesto que la cantidad terapéutica, necesaria de estos compuestos quimiosensibilizantes causaría graves efectos secundarios.

El autor de la presente invención se dio cuenta que las conclusiones anteriores se basaban en general en estudios llevados a cabo en microorganismos artificiales, resistentes o resistentes a múltiples fármacos o microorganismos seleccionados *in vitro*. Por tanto, a pesar del prejuicio en la técnica de que serían necesarias concentraciones de tioxanteno y fenotiazina muy superiores al nivel clínicamente relevante a fin de combatir los microorganismos resistentes o resistentes a múltiples fármacos, el autor de la presente invención decidió investigar este tema en detalle adicional al analizar el efecto de estos compuestos quimiosensibilizantes en combinación con agentes anti-infecciosos sobre aislados resistentes y resistentes a múltiples fármacos clínicamente relevantes utilizando

cantidades clínicamente relevantes de los compuestos quimiosensibilizantes descritos en la presente memoria.

5 Sorprendentemente, se descubrió que al aplicar cantidades clínicamente relevantes de los compuestos quimiosensibilizantes descritos en la presente memoria en combinación con agentes anti-infecciosos, se logró una eliminación eficaz de aislados resistentes y resistentes a múltiples fármacos clínicamente relevantes. Contrariamente a lo que se creía previamente, este descubrimiento sorprendente abre la posibilidad de combatir de manera eficaz a microorganismos resistentes y resistentes a múltiples fármacos por medio de una combinación de los compuestos quimiosensibilizantes descritos en la presente memoria y los agentes anti-infecciosos utilizados comúnmente.

Por consiguiente, en un primer aspecto la presente invención se refiere al uso de un compuesto de la fórmula general (I)



10

en donde

V se selecciona del grupo que consiste de S, SO₂ y SO;

W es W es C=CH-(CHX)_m-N(R₁₀)(R₁₁);

m es un número entero en el intervalo de 1 a 5;

15 cada X se selecciona individualmente del grupo que consiste de hidrógeno, halógeno, hidroxilo, amino, nitro, alquilo de C₁-C₆ y alcoxi de C₁-C₆;

20 cada uno de R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈ y R₉ se selecciona individualmente del grupo que consiste de hidrógeno, halógeno, hidroxilo, amino, nitro, alquilo de C₁-C₆, alquenoilo C₂-C₆, alquinoilo de C₂-C₆ y alcoxi C₁-C₆, alquenoilo de C₂-C₆, carboxi, alcoxi de C₁-C₆-carbonilo, alquil de C₁-C₆-carbonilo, formilo, alquil de C₁-C₆-sulfonilamino, arilo, ariloxycarbonilo, arilo, arilcarbonilo, arilamino, arilsulfonilamino, heteroarilo, heteroariloxycarbonilo, heteroarilo, heteroariloxycarbonilo, heteroarilamino, heteroarilsulfonilamino, heterociclilo, heterocicliloxycarbonilo, heterociclilo, heterocicliloxycarbonilo, heterociclilamino, heterociclilsulfonilamino, mono- y di(alquil de C₁-C₆)amino, carbamoilo, mono- y di(alquil de C₁-C₆)aminocarbonilo, amino-alquil de C₁-C₆-aminocarbonilo, mono- y di(alquil de C₁-C₆)amino-alquil de C₁-C₆-aminocarbonilo, alquil de C₁-C₆-carbonilamino, amino-alquil de C₁-C₆-carbonilamino, mono- y di(alquil de C₁-C₆)amino-alquil de C₁-C₆-carbonilamino, amino-alquil de C₁-C₆-amino, mono- y di(alquil de C₁-C₆)amino-alquil de C₁-C₆-amino, ciano, guanidino, carbamido, alcanilo, alquil de C₁-C₆, alquilsulfonilo de C₁-C₆, alquilsulfonilo de C₁-C₆, alquilsulfonilo de C₁-C₆, aminosulfonilo, mono- y di(alquil de C₁-C₆)aminosulfonilo y alquilo de C₁-C₆; y

30 cada uno de R₁₀ y R₁₁ se selecciona independientemente del grupo que consiste de hidrógeno, alquilo de C₁-C₆, alquenoilo de C₂-C₆, alquinoilo de C₂-C₆, alcoxi de C₁-C₆-carbonilo, alquil de C₁-C₆-carbonilo, arilo, ariloxycarbonilo, arilcarbonilo, heteroarilo, heteroariloxycarbonilo, heteroarilcarbonilo, aminocarbonilo, mono- y di(alquil de C₁-C₆)aminocarbonilo; o R₁₀ y R₁₁ junto con el átomo de nitrógeno al cual están unidos forman un heteroarilo o un heterociclilo que contiene nitrógeno;

35 o uno de sus metabolitos o sales para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o profilaxis de una enfermedad infecciosa en combinación con un agente anti-infeccioso, en donde la enfermedad infecciosa es causada por un agente infeccioso seleccionado del grupo que consiste en virus, bacterias y hongos, siendo dicho agente infeccioso resistente a fármacos; y en donde dicho agente infeccioso no se selecciona del grupo que consiste en cepas de *Staphylococcus aureus* SA-119, SA-199B, SA-K1712. Da-K1748, Sa-8325-4 y SA-K2068.

40 Otro aspecto de la presente invención será aparente a partir de la siguiente descripción y las reivindicaciones anexas.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 muestra una serie de barras que representan el efecto de los compuestos quimiosensibilizantes contra microorganismos resistentes a fármacos y resistentes a múltiples fármacos (valores de las Tablas 1-4 que se encuentran más adelante). El eje Y representa la relación de DR y se define como la relación de la MIC para el

agente anti-infeccioso solo dividida por la MIC para el agente anti-infeccioso en presencia de un compuesto quimiosensibilizante. Esta relación representa el aumento aparente en la potencia del agente anti-infeccioso producido por los compuestos quimiosensibilizantes individuales. Agente anti-infeccioso: Coprofloxacin. Compuestos quimiosensibilizantes: 1. promazina; 2. 1-clorpromazina; 3. clorpromazina; 4. 7-hidroxiclорpromazina; 5. 7,8-dihidroxiclорpromazina; 6. tiometilpromazina; 7. trifluopromazina; 8. sulfóxido de clorpromazina; 9. desmetil-clorpromazina; 10. perfenazina; 11. proclorperazina; 12. flufenazina; 13. trifluoperazina; 14. 2-cloro-10-(2-dimetilaminoetil)fenotiazina; 15. prometazina; 16. *cis*-flupentixol; 17. *trans*-flupentixol; 18. *trans*-clopentixol.

Las figuras 2A y 2B muestran una serie de barras que representan el fuerte efecto sinérgico de *cis*-flupentixol, *trans*-flupentixol y *trans*-clopentixol sobre la ciprofloxacina, gentamicina y piperacilina, respectivamente (valores de la Tabla 5 que se encuentra más adelante). Los microorganismos sometidos a ensayo fueron *E. coli* 331 ME (Figura 2A) y *P. aeruginosa* 432b (Figura 2B). El eje Y representa el índice de la concentración inhibitoria fraccional (abreviadamente en lo sucesivo FIC por la expresión inglesa *Fractional Inhibitory Concentration*). La sinergia se definió por los índices de FIC menores que 0,5.

La Figura 3 muestra el aumento del efecto de ciprofloxacina por *trans*-clopentixol en un modelo de peritonitis en ratón.

La Figura 4 muestra los niveles en el suero de *trans*-clopentixol en ratones después de una sola dosis de 0,3 mg por ratón.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Definiciones

En el presente contexto, el término “alquilo de C₁-C₆” se propone para referirse a un grupo hidrocarburo saturado, lineal o ramificado que tiene de uno a seis átomos de carbono, tal como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, n-pentilo, isopentilo, neopentilo y n-hexilo.

En el presente contexto, el término “cicloalquilo de C₃-C₆” se propone para cubrir los anillos de tres, cuatro, cinco y seis miembros que comprenden átomos de carbono únicamente, mientras que el término “heterociclilo” se propone para referirse a anillos de tres, cuatro, cinco y seis miembros en donde los átomos de carbono junto con 1 a 3 heteroátomos constituyen dicho anillo. Los heteroátomos se seleccionan independientemente de oxígeno, azufre y nitrógeno. Los anillos de cicloalquilo de C₃-C₆ y heterociclilo pueden contener opcionalmente uno o más enlaces insaturados que están situados de tal manera que, sin embargo, no surja un sistema aromático de electrones π .

Los ejemplos ilustrativos de “cicloalquilo de C₃-C₆” son los carbociclos ciclopropano, ciclobutano, ciclopentano, ciclopenteno, ciclohexadieno, ciclohexano, ciclohexeno, 1,3-ciclohexadieno y 1,4-ciclohexadieno.

Los ejemplos ilustrativos de “heterociclilos” son los heterociclos que contienen nitrógeno: 2-pirrolinilo, 3-pirrolinilo, pirrolidinilo, 2-imidazolinilo, imidazolidinilo, 2-pirazolinilo, 3-pirazolinilo, pirazolidinilo, piperidinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo y piperazinilo. La unión al heterociclo puede estar en la posición del heteroátomo o por vía de un átomo de carbono del heterociclo.

En el presente contexto, el término “alqueno de C₂-C₆” se propone para referirse a un grupo hidrocarburo lineal o ramificado que tiene de dos a seis átomos de carbono y que contiene uno o más enlaces dobles. Los ejemplos ilustrativos de grupos alqueno de C₂-C₆ incluyen alilo, homo-alilo, vinilo, crotilo, butenilo, pentenilo y hexenilo. Los ejemplos ilustrativos de grupos alqueno de C₂-C₆ con más de un enlace doble incluyen butadienilo, pentadienilo y hexadienilo. La posición del(los) enlace(s) dobles(s) puede estar en cualquier posición a lo largo de la cadena de carbono.

En el presente contexto, el término “alquino de C₂-C₆” se propone para referirse a un grupo hidrocarburo lineal o ramificado que contiene de dos a seis átomos de carbono y que contiene uno o más enlaces triples. Los ejemplos ilustrativos de grupos alquino de C₂-C₆ incluyen acetileno, propinilo, butinilo, pentinilo y hexinilo. La posición del(los) enlace(s) triple(s) puede estar en cualquier posición a lo largo de la cadena de carbono. Más de un enlace puede ser insaturado de modo que el grupo “alquino de C₂-C₆” sea una di-ina o enedi-ina como es sabido por los expertos en la técnica.

Cuando se utiliza en la presente memoria, el término “alcoxi de C₁-C₆” se propone para referirse a alquil-oxi de C₁-C₆, tal como metoxi, etoxi, n-propoxi, isopropoxi, n-butoxi, isobutoxi, *sec*-butoxi, *terc*-butoxi, n-pentoxi, isopentoxi, neopentoxi y n-hexoxi.

El término “halógeno” incluye flúor, cloro, bromo y yodo.

En el presente contexto, el término “arilo” se propone para referirse a un anillo o sistema de anillos aromático carbocíclico. Además, el término “arilo” incluye sistemas de anillos fusionados en donde al menos dos anillos de arilo o al menos un arilo y al menos un grupo cicloalquilo de C₃-C₆ o al menos un arilo y al menos un heterociclilo, comparten al menos un enlace químico. Los ejemplos ilustrativos de anillos de “arilo” incluyen fenilo, naftalenilo,

fenantrenilo, antraceno, acenaftileno, tetralinilo, fluoreno, indenilo, indolilo, cumarano, cumarino, cromano, isocromano y azuleno.

5 En el presente contexto, el término "heteroarilo" se propone para referirse a un grupo arilo donde uno o más átomos de carbono en un anillo aromático han sido reemplazados por uno o más heteroátomos seleccionados del grupo que consiste de nitrógeno, azufre, fósforo y oxígeno. Además, en el presente contexto, el término "heteroarilo" comprende sistemas de anillos fusionados en donde al menos un anillo de arilo y al menos un anillo de heteroarilo, al menos dos heteroarilos, al menos un heteroarilo y al menos un heterociclo o al menos un heteroarilo y al menos un grupo cicloalquilo de C₃-C₆ comparten al menos un enlace químico.

10 Los ejemplos ilustrativos de heteroarilo incluyen furano, tieno, pirrolo, fenoxazono, oxazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, imidazolilo, pirazolilo, isoxazolilo, imidazolilo isotiazolilo, oxadiazolilo, furazano, triazolilo, tiadiazolilo, piperidino, piridino, piridazino, pirimidino, pirazino, pirazolilo y triazino, isoindolilo, indolino, benzofurano, benzotiofeno, benzopirazolo, indazolilo, bencimidazolilo, benzotiazolilo, purino, quinolinilo, isoquinolinilo, cinolino, ftalazino, quinazolinilo, quinoxalinilo, naftiridino, pteridiniltienofurano, carbazolilo, acridino, fenazino, fenotiazino, fenoxazino y tiantreno.

15 En el presente contexto, el término "sustituido opcionalmente" se propone para referirse a que el grupo en cuestión puede estar sustituido una o varias veces, tal como de 1 a 5 veces, preferiblemente de 1 a 3 veces, más preferiblemente de 1 a 2 veces, con uno o más grupos seleccionados del grupo que consiste de alquilo de C₁-C₆, alcoxi de C₁-C₆, oxo (el cual puede ser representado en la forma enol tautómera), carboxilo, amino, hidroxilo (el cual cuando está presente en un sistema de enol puede ser representado en la forma ceto tautómera), nitro, sulfono, sulfano, carboxilo de C₁-C₆, alcoxi de C₁-C₆-carbonilo, alquil de C₁-C₆-carbonilo, formilo, arilo, arilo, ariloxi, ariloxycarbonilo, arilcarbonilo, heteroarilo, amino, mono- y di(alquil de C₁-C₆)amino, carbamilo, mono- y di(alquil de C₁-C₆)aminocarbonilo, amino-alquil de C₁-C₆-aminocarbonilo, mono- y di(alquil de C₁-C₆)amino-alquil de C₁-C₆-aminocarbonilo, alquil de C₁-C₆-carbonilamino, ciano, guanidino, carbamido, alcanoloxi de C₁-C₆, alquilsulfonilo de C₁-C₆, dihalógeno-alquilo de C₁-C₆, trihalógeno-alquilo de C₁-C₆ y halógeno, donde los sustituyentes de arilo y heteroarilo por sí mismos pueden estar sustituidos 1-3 veces con alquilo de C₁-C₆, alcoxi de C₁-C₆, nitro, ciano, hidroxilo, amino o halógeno. En general, los sustituyentes anteriores pueden ser susceptibles de una sustitución opcional adicional.

El término "agente infeccioso" se propone para referirse a microorganismos patógenos, tales como bacterias, virus, y hongos.

30 En una realización particular de la invención, el término "agente infeccioso" no significa un agente seleccionado del grupo que consiste de las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 2593 y cepas derivada de la misma, SA-1199, SA-1199B, SA-K1712, SA-K1748, SA 8325-4 y SA-K2068.

En otra realización de la invención, el término "agente infeccioso" no significa *Plasmodium falciparum*.

35 De manera análoga, el término "enfermedad infecciosa" se utiliza para referirse a una enfermedad causada por un agente infeccioso.

En el presente contexto, el término "agente anti-infeccioso" cubre los compuestos, tales como antibióticos comercialmente disponibles, que son capaces de eliminar, inhibir o de otro modo disminuir el crecimiento del agente infeccioso.

40 Los ejemplos específicos de antibióticos utilizados comúnmente para tratar infecciones bacterianas y fúngicas incluyen, pero sin limitación: aminoglicósidos, tales como amikacina, gentamicina, kanamicina, neomicina, netilmicina, estreptomina y tobramicina; cefalosporinas, tales como loracarbef; carbapenems, tales como ertapenem, imipenem/cilastatina y meropenem; cefalosporinas, tales como cefadroxilo, cefazolina, cefalexina, cefaclor, cefamandol, cefalexina, cefoxitina, cefprozil, cefuroxima, cefixima, cefdinir, cefditoren, cefoperazona, cefotaxima, cefpodoxima, ceftazidima, ceftibuten, ceftizoxima, ceftriaxona y cefepima; macrólidos, tales como azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina y troleandomicina; monolactamas; penicilinas, tales como amoxicilina, ampicilina, carbenicilina, cloxacilina, dicloxacilina, nafcilina, oxacilina, penicilina G, penicilina V, piperacilina y ticarcilina; polipéptidos, tales como bacitracina, colistina y polimixina B; quinolonas, tales como ciprofloxacina, enoxacina, gatifloxacina, levofloxacina, lomefloxacina, moxifloxacina, norfloxacina, ofloxacina y trovafloxacina; sulfonamidas, tales como mafenida, sulfacetamida, sulfametizol, sulfasalazina, sulfisoxazol y trimetoprim-sulfametoxazol; tetraciclinas, tales como demeclociclina, doxiciclina, minociclina, oxitetraciclina y tetraciclina;

Los ejemplos específicos de compuestos anti-virales utilizados comúnmente para tratar infecciones virales incluyen, pero sin limitación: aciclovir, amantadina, cidofovir, famciclovir, fomivirsén, foscarnet, ganciclovir, interferón alfa, oseltamivir, penciclovir, ribavirin, rimantadina, trifluridina, valaciclovir, valganciclovir, vidarabina y zanamivir.

55 Los ejemplos específicos de compuestos anti-fúngicos utilizados comúnmente para tratar infecciones fúngicas, graves incluyen, pero sin limitación: anfotericina B, caspofungina, fluconazol, flucitosina, itraconazol, ketoconazol y voriconazol.

En el presente contexto, se dice que un agente infeccioso es “resistente” o “resistente a fármacos” si el agente infeccioso se ha sometido a un cambio que reduce o elimina la eficacia de un agente anti-infeccioso que se utiliza normalmente para curar infecciones causadas por el agente infeccioso. De manera análoga, el término “resistencia a fármacos” significa una circunstancia cuando una enfermedad, por ejemplo una enfermedad infecciosa, no responde a un agente terapéutico, tal como un agente anti-infeccioso. La resistencia a fármacos puede ser intrínseca, lo cual significa que la enfermedad nunca ha sido sensible al agente terapéutico, o adquirida, lo cual significa que la enfermedad deja de responder al agente terapéutico al que dicha enfermedad había sido sensible previamente.

En el presente contexto, se dice que un agente infeccioso es “resistente a múltiples fármacos” si el agente infeccioso se ha sometido a un cambio que reduce o elimina la eficacia de dos o más agentes anti-infecciosos los cuales se utilizan normalmente para curar infecciones causadas por el agente infeccioso. De manera análoga, la “resistencia a múltiples fármacos” es un tipo de resistencia a fármacos en donde una enfermedad, por ejemplo una enfermedad infecciosa, es resistente a una variedad de fármacos, tal como una variedad de agentes anti-infecciosos.

El término “cantidad clínicamente relevante” se propone para referirse a que el compuesto quimiosensibilizante se administra a un paciente en una cantidad que, por una parte, es capaz de reducir los síntomas de la enfermedad infecciosa o curar la enfermedad infecciosa para la que se trata el paciente pero, por otra parte, no es tóxica para el paciente y no conduce a efectos secundarios inaceptables. Como se indicó anteriormente, se sabe que muchos de los compuestos quimiosensibilizantes descritos en la presente memoria, si no es que todos, causan graves efectos secundarios en pacientes cuando se administran en concentraciones muy altas, es decir en cantidades las cuales no son “clínicamente relevantes”.

En el presente contexto, el término “de origen natural” cuando se utiliza en conexión con el término “agente infeccioso”, es decir en conexión con microorganismos patógenos, significa que el agente infeccioso que da origen a la enfermedad infecciosa es un microorganismo que se puede encontrar en la naturaleza, incluyendo en seres humanos. Se entenderá que los agentes infecciosos, tales como cepas de laboratorio manipuladas en sus genes o agentes infecciosos que por otros medios han sido cambiados y/o manipulados por la intervención humana, no se consideran que estén cubiertos por el término “de origen natural”.

El término “suero” se utiliza en su significado normal, es decir como plasma sanguíneo sin fibrinógeno y otros factores de coagulación.

A fin de combatir o prevenir la enfermedad infecciosa, los compuestos quimiosensibilizantes descritos en la presente memoria deben administrarse junto con, o en combinación con, un agente anti-infeccioso. Cuando se utilizan en este contexto, los términos “junto con” y “en combinación con” no deben interpretarse con estrecho margen en el sentido que el compuesto quimiosensibilizante y el agente anti-infeccioso deben administrarse necesariamente de manera simultánea y/o deben formar parte de la misma composición farmacéutica, aunque ésta es una realización de la presente invención. Por tanto, se debe entender que los términos “junto con” y “en combinación con” significan que la dosificación (incluyendo la forma de dosificación) y la frecuencia de administración de cada compuesto, es decir el compuesto quimiosensibilizante y el agente anti-infeccioso, pueden controlarse individualmente. Por ejemplo, un compuesto puede administrarse por la vía oral tres veces al día durante el período de tratamiento, mientras que el otro compuesto puede administrarse por la vía intravenosa una vez al día durante el período de tratamiento. Del mismo modo, un compuesto puede administrarse cada día en el período de tratamiento y el otro compuesto puede administrarse solo una vez o algunos días en el período de tratamiento. Como se ha explicado anteriormente, el compuesto quimiosensibilizante y el compuesto anti-infeccioso pueden administrarse simultáneamente y pueden estar comprendidos en la misma composición farmacéutica. Por consiguiente, los términos “junto con” y “en combinación con” significan que el compuesto quimiosensibilizante se administra al paciente al menos una vez durante el período de tratamiento y que el agente anti-infeccioso también se administra al paciente al menos una vez durante el período de tratamiento.

En la presente memoria, el término “concentración en el suero en estado estacionario” (de un compuesto quimiosensibilizante) se define como los valores que son recurrentes con cada dosis y representan un estado de equilibrio entre la cantidad de compuesto quimiosensibilizante administrado y la cantidad que se elimina en un intervalo de tiempo dado.

En el presente contexto, el término “tratamiento” se refiere a la administración de un fármaco a un sujeto e incluye *i)* prevenir una enfermedad infecciosa (es decir, hacer que no se desarrollen los síntomas clínicos de la enfermedad infecciosa), *ii)* inhibir una enfermedad infecciosa (es decir, detener el desarrollo de los síntomas clínicos de la enfermedad infecciosa) y *iii)* aliviar la enfermedad (es decir, causar la regresión de los síntomas clínicos de la enfermedad infecciosa) así como también combinaciones de los mismos.

Los términos “profilaxis” o “tratamiento profiláctico” se refieren al tratamiento de un sujeto quien todavía no está infectado, pero quien puede ser susceptible a, o está en riesgo de contraer una infección.

El término “sujeto”, como se utiliza en la presente memoria, significa un animal vertebrado vivo, por ejemplo un mamífero, tal como un ser humano

“Farmacéuticamente aceptable” significa que es adecuado para el uso en un mamífero, en particular que es adecuado para el uso en un ser humano

Quando se utiliza en la presente memoria, el término “compuesto quimiosensibilizante” se propone para referirse a un agente que revierte la resistencia de un microorganismo o célula a un agente anti-infeccioso dado. Por tanto, un “compuesto quimiosensibilizante”, como se utiliza en la presente memoria, sensibiliza a los microorganismos o células resistentes o resistentes a múltiples fármacos a la acción de los agentes anti-infecciosos.

Compuestos quimiosensibilizantes

Con respecto a la fórmula general (I) anterior, cada uno de los sustituyentes R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈ y R₉ se selecciona individualmente del grupo que consiste de hidrógeno, halógeno, hidroxilo, amino, nitro, alquilo de C₁-C₆, alqueno de C₂-C₆, alquino de C₂-C₆ y alcoxi de C₁-C₆, alquenoilo de C₂-C₆, carboxi, alcoxi de C₁-C₆-carbonilo, alquil de C₁-C₆-carbonilo, formilo, alquilsulfonilamino de C₁-C₆, arilo, ariloxycarbonilo, arilo, arilcarbonilo, arilamino, arilsulfonilamino, heteroarilo, heteroariloxycarbonilo, heteroarilo, heteroarilcarbonilo, heteroarilamino, heteroarilsulfonilamino, heterociclilo, heterocicliloxycarbonilo, heterociclilo, heterociclilcarbonilo, heterociclilamino, heterociclilsulfonilamino, mono- y di(alquil C₁-C₆)amino, carbamilo, mono- y di(alquil de C₁-C₆)aminocarbonilo, amino-alquil de C₁-C₆-amino carbonilo, mono- y di(alquil C₁-C₆)amino-alquil C₁-C₆-aminocarbonilo, alquil-carbonilamino, amino-alquil de C₁-C₆-carbonilamino, mono- y di(alquil de C₁-C₆)amino-alquil de C₁-C₆-carbonilamino, amino-alquil de C₁-C₆-amino, mono- y di(alquil de C₁-C₆)amino-alquil de C₁-C₆-amino, ciano, guanidino, carbamido, alcanilo de C₁-C₆, alquilsulfonilo de C₁-C₆, alquilsulfinilo de C₁-C₆, alquilsulfonilo de C₁-C₆, aminosulfonilo, mono- y di(alquil de C₁-C₆)aminosulfonilo y alquilitio de C₁-C₆.

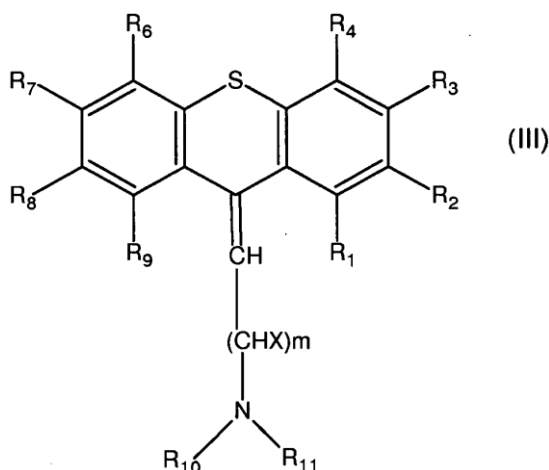
En una realización preferida de la invención, el sustituyente R₂ es un grupo atractor de electrones, tal como halógeno, nitro o alquilo de C₁-C₆ sustituido con halógeno. Más preferiblemente, R₂ se selecciona del grupo que consiste de F, Cl, Br, I, CH₂Y, CHY₂ y CY₃ (en donde Y representa a átomo de halógeno), tales como CH₂Cl, CH₂F, CHCl₂, CHF₂, CCl₃ o CF₃, en particular CCl₃ o CF₃. Más preferiblemente, R₂ es Cl o CF₃.

Preferiblemente, cada uno de los sustituyentes R₁, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈ y R₉ se selecciona individualmente del grupo que consiste de hidrógeno, alquilo de C₁-C₆ y alcoxi de C₁-C₆. Más preferiblemente, R₁, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈ y R₉ son todos hidrógeno

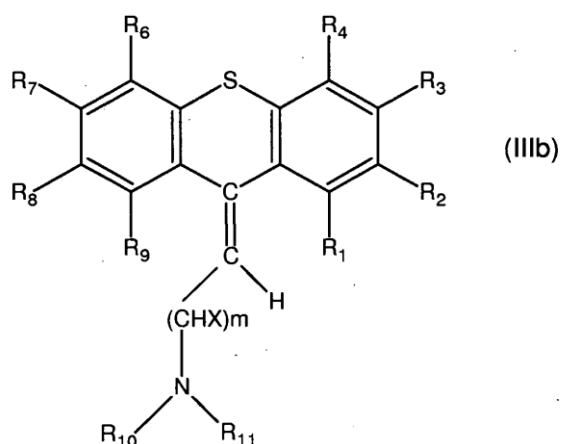
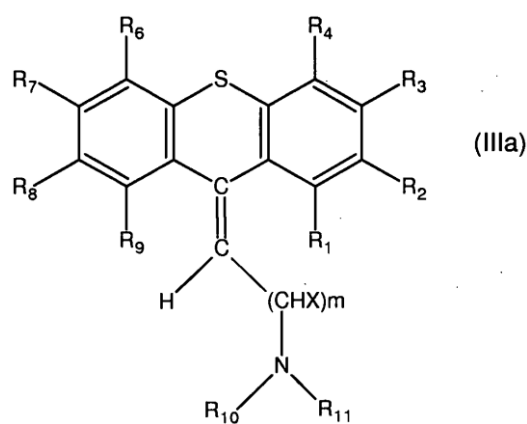
Por consiguiente, en una realización altamente preferida de la invención, R₂ es Cl o CF₃ y cada uno de R₁, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈ y R₉ es hidrógeno

Como se ha mencionado anteriormente, V se selecciona del grupo que consiste de S, SO₂ y SO, tal como S o SO. En una realización altamente preferida de la invención, V es S.

Como será entendido, en caso que W sea N-(CHX)_m-N(R₁₀)(R₁₁) y V sea S, el compuesto quimiosensibilizante de la fórmula general (I) llegar a ser una fenotiazina de la fórmula general (III)



Un tioxanteno de la fórmula general (III) da origen a isomería *cis* y *trans*. En el presente contexto, los compuestos de la fórmula general (IIIa) son los que están en la configuración *cis*, mientras que los compuestos de la fórmula general (IIIb) son los que están en la configuración *trans*:



- en donde m es un número entero en el intervalo de 1 a 5, tal como 1, 2, 3, 4 o 5, y cada X se selecciona individualmente del grupo que consiste de hidrógeno, halógeno, hidroxilo, amino, nitro, alquilo de C_1-C_6 y alcoxi de C_1-C_6 . R_{10} y R_{11} se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste de hidrógeno, alquilo de C_1-C_6 , alqueno de C_2-C_6 , alquino de C_2-C_6 , alcoxi de C_1-C_6 -carbonilo, alquil de C_1-C_6 -carbonilo C_1-C_6 , arilo, ariloxycarbonilo, arilcarbonilo, heteroarilo, heteroariloxycarbonilo, heteroarilcarbonilo, aminocarbonilo, mono- y di(alquil de C_1-C_6)aminocarbonilo; o R_{10} y R_{11} , junto con el átomo de nitrógeno al cual están unidos, forman un heteroarilo o heterociclilo que contiene nitrógeno.
- 10 En general, se prefiere que los compuestos de la fórmula general (III) tengan la configuración *trans*, es decir la estructura mostrada en la fórmula general (IIIb).
- En una realización preferida, X es hidrógeno y m es 2 o 3, en particular 3. Por tanto, en una realización preferida de la invención, W tiene la estructura $C=CH-(CH_2)_2-N(R_{10})(R_{11})$.
- 15 En una realización interesante de la invención, R_{10} y R_{11} se seleccionan cada uno individualmente del grupo que consiste de hidrógeno y alquilo de C_1-C_6 . De acuerdo con esta realización, se prefiere que tanto R_{10} como R_{11} sean alquilo de C_1-C_6 . Más preferiblemente que tanto R_{10} como R_{11} sean CH_3 .
- En otra realización interesante de la invención, R_{10} y R_{11} , junto con el átomo de nitrógeno al cual están unidos, forman un heterociclilo, tal como 2-pirrolinilo, 3-pirrolinilo, pirrolidinilo, 2-imidazolinilo, imidazolidinilo, 2-pirazolinilo, 3-pirazolinilo, pirazolidinilo, piperidinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo o piperazinilo. De acuerdo con esta realización, se prefiere que R_{10} y R_{11} , junto con el átomo de nitrógeno al cual están unidos, formen piperidinilo o piperazinilo, en particular piperazinilo. El anillo de piperazinilo puede no estar sustituido, pero está sustituido preferiblemente con un grupo alquilo de C_1-C_6 , en particular en la posición *para*, es decir un grupo alquilo de C_1-C_6 está unido covalentemente al segundo átomo de nitrógeno del anillo de piperazinilo. En una realización altamente preferida de la invención, el grupo alquilo de C_1-C_6 se selecciona del grupo que consiste de $-CH_3$, $-CH_2OH$, $-CH_2-CH_3$ y CH_2-CH_2OH , tal como $-CH_3$ o $-CH_2-CH_2OH$, en particular $-CH_2-CH_2OH$.
- 20 Los ejemplos específicos de las fenotiazinas mencionadas anteriormente incluyen *trans*-flupentixol, *cis*-flupentixol, *trans*-clopentixol y *cis*-clopentixol. Los compuestos quimiosensibilizantes particularmente preferidos para el uso de acuerdo con la invención son *trans*-flupentixol y *trans*-clopentixol. Es mucho más preferido el *trans*-clopentixol.
- 30 Como es evidente a partir de las fórmulas mostradas en la presente memoria y las definiciones asociadas con las mismas, ciertos compuestos quimiosensibilizantes que se describen en la presente memoria son quirales. Además,

la presencia de ciertos fragmentos insaturados o cíclicos o múltiples átomos estereogénicos proporciona la existencia de formas diastereoisómeras de algunos de los compuestos quimiosensibilizantes. Se propone que la invención incluya todos los estereoisómeros, incluyendo isómeros ópticos y sus mezclas, así como también formas puras, parcialmente enriquecidas o, donde sea relevante, racémicas. En particular, muchos de los compuestos quimiosensibilizantes descritos en la presente memoria pueden estar en la forma de estereoisómeros *E* o *Z*, o mezclas de dichos isómeros.

Además, se debe entender que los compuestos quimiosensibilizantes descritos en la presente memoria incluyen sus posibles sales, de las cuales las sales farmacéuticamente aceptables son en particular especialmente relevantes para las aplicaciones terapéuticas. Las sales incluyen sales de adición de ácido y sales básicas. Los ejemplos de sales de adición de ácido son sales hidrocioruro, fumarato, oxalato, etc. Los ejemplos de sales básicas son sales donde el contraión (restante) se selecciona de metales alcalinos, tales como sodio y potasio, metales alcalino-térreos, tales como sales de calcio, sales de potasio y iones de amonio ($^+N(R')_4$, donde las variables R' designan independientemente alquilo de C_1-C_6 , alquenilo de C_2-C_6 , arilo o heteroarilo). Las sales farmacéuticamente aceptables son, por ejemplo, las descritas en *Remington's - The Science and Practice of Pharmacy*, 20th Edition, Alfonso R. Gennaro (Ed.), Lippincott, Williams & Wilkins; ISBN: 0683306472, 2000 y en *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*.

El efecto de los compuestos quimiosensibilizantes para revertir la resistencia a fármacos o la resistencia a múltiples fármacos puede someterse a ensayo como se describe en la presente memoria y la eficacia del compuesto quimiosensibilizante en combinación con agentes anti-infecciosos, seleccionados contra microorganismos seleccionados puede ser expresada como el valor de MIC, relación de DR y/o el índice de FIC.

La concentración inhibitoria mínima (MIC) se define como la concentración inhibitoria más baja que no muestra un crecimiento visible de acuerdo con las directrices del *National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)*.

La relación de resistencia a fármacos (abreviadamente DR, por la expresión inglesa *Drug Resistance*) se define como la relación entre el valor de MIC para un agente anti-infeccioso solo dividida por la MIC para el agente anti-infeccioso en presencia del compuesto quimiosensibilizante. Esta relación representa el aumento en la potencia aparente del agente anti-infeccioso causada por el compuesto quimiosensibilizante y puede ser expresada como:

$$\text{Relación de DR} = (\text{MIC}_{\text{agente anti-infeccioso}}) / (\text{MIC}_{\text{agente anti-infeccioso} + \text{compuesto quimiosensibilizante}})$$

El índice de concentración inhibitoria fraccional (abreviadamente FIC, por la expresión inglesa *Fractional Inhibitory concentration*) puede calcularse para cada agente anti-infeccioso solo y en combinación con la quimiosensibilización de acuerdo con las siguientes fórmulas:

$$\text{FIC} = \text{FIC}_{\text{agente quimiosensibilizante}} + \text{FIC}_{\text{agente anti-infeccioso}}$$

donde:

$$\text{FIC}_{\text{compuesto quimiosensibilizante}} = (\text{MIC}_{\text{compuesto quimiosensibilizante} + \text{agente anti-infeccioso}}) / (\text{MIC}_{\text{compuesto quimiosensibilizante}})$$

$$\text{FIC}_{\text{agente anti-infeccioso}} = (\text{MIC}_{\text{agente anti-infeccioso} + \text{compuesto quimiosensibilizante}}) / (\text{MIC}_{\text{agente anti-infeccioso}})$$

Los efectos sinérgicos de los compuestos quimiosensibilizantes descritos en la presente memoria, es decir su capacidad para revertir la resistencia a fármacos o resistencia a múltiples fármacos en un microorganismo, pueden determinarse por medio de cualquiera de los métodos disponibles para los expertos en la técnica, que incluyen los ensayos *in vitro* descritos en los ejemplos de la presente memoria. En una realización preferida de la invención, el compuesto quimiosensibilizante, el agente anti-infeccioso y el agente infeccioso (y por lo tanto la enfermedad infecciosa que será tratada) exhiben un índice de FIC de como máximo 0,5 determinado como se describe en los ejemplos de la presente memoria. Más preferiblemente, el índice de FIC es como máximo 0,4, tal como máximo 0,3, por ejemplo como máximo 0,2. Aún más preferiblemente, el índice de FIC es como máximo 0,1, tal como máximo 0,075, como máximo 0,05 o incluso como máximo 0,025.

Como se ha descrito previamente, los compuestos quimiosensibilizantes descritos en la presente memoria tienen típicamente un valor de MIC alto. Para los compuestos quimiosensibilizantes, que son inhibidores eficaces, esto significa que la relación $(\text{MIC}_{\text{compuesto quimiosensibilizante} + \text{agente anti-infeccioso}}) / (\text{MIC}_{\text{compuesto quimiosensibilizante}})$ llega a ser próxima a cero, lo cual, a su vez, significa que $\text{FIC}_{\text{compuesto quimiosensibilizante}} \approx 0$. Esto también significa que $\text{FIC} \approx \text{FIC}_{\text{agente anti-infeccioso}} = (\text{MIC}_{\text{agente anti-infeccioso} + \text{compuesto quimiosensibilizante}}) / (\text{MIC}_{\text{agente anti-infeccioso}}) \approx 1/\text{DR}$.

Por consiguiente, en otra realización preferida de la invención, el compuesto quimiosensibilizante, el agente anti-infeccioso y el agente infeccioso (y por lo tanto la enfermedad infecciosa que será tratada) exhiben una relación de DR de al menos 2 determinada como se describe en los ejemplos de la presente memoria. Más preferiblemente, la relación de DR es al menos 5, tal como al menos 10, por ejemplo al menos 20. Aún más preferiblemente, el valor de MIC es al menos 30, tal como al menos 50, al menos 75 o aún al menos 100.

Terapia, composiciones farmacéuticas y dosificaciones.

5 Como se ha explicado anteriormente, los compuestos quimiosensibilizantes descritos en la presente memoria son útiles para el tratamiento de enfermedades infecciosas en combinación con un agente anti-infeccioso. Por tanto, los compuestos quimiosensibilizantes descritos en la presente memoria se pueden utilizar para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad infecciosa en combinación con un agente anti-infeccioso.

10 Además, los compuestos quimiosensibilizantes descritos en la presente memoria son útiles para el tratamiento profiláctico de enfermedades infecciosas en combinación con un agente anti-infeccioso. Esto puede ser particularmente relevante en situaciones donde una persona tiene un alto riesgo de contraer infecciones, tales como pacientes inmunosuprimidos o pacientes que se someten a cirugía. Por tanto, los compuestos quimiosensibilizantes descritos en la presente memoria también se pueden utilizar para la fabricación de un medicamento para el tratamiento profiláctico de una enfermedad infecciosa en combinación con un agente anti-infeccioso.

También, los compuestos quimiosensibilizantes descritos en la presente memoria se pueden utilizar, en combinación con un agente anti-infeccioso, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o profilaxis de enfermedades infecciosas.

15 En un aspecto adicional, la presente invención se dirige a los compuestos quimiosensibilizantes descritos en la presente memoria para el uso como medicamentos en combinación con un agente anti-infeccioso, o a los compuestos quimiosensibilizantes descritos en la presente memoria, en combinación con un agente anti-infeccioso, para el uso como medicamentos.

20 En otro aspecto, pero relacionado, los compuestos quimiosensibilizantes que se describen en la presente memoria son útiles para disminuir la resistencia, en particular la resistencia a múltiples fármacos, de un agente infeccioso. Por tanto, los compuestos quimiosensibilizantes descritos en la presente memoria se pueden utilizar para la fabricación de un medicamento para disminuir la resistencia de un agente infeccioso contra un agente anti-infeccioso.

25 En aún otro aspecto, pero también relacionado, los compuestos quimiosensibilizantes descritos en la presente memoria son útiles para sensibilizar células resistentes y resistentes a múltiples fármacos, susceptibles, preferiblemente células resistentes y resistentes a múltiples fármacos, más preferiblemente células resistentes a múltiples fármacos, a un agente anti-infeccioso. Por tanto, los compuestos quimiosensibilizantes descritos en la presente memoria se pueden utilizar para la fabricación de un medicamento para sensibilizar células resistentes o resistentes a múltiples fármacos, susceptibles, preferiblemente células resistentes y resistentes a múltiples fármacos, más preferiblemente células resistentes a múltiples fármacos, a un agente anti-infeccioso.

30 Todavía un aspecto adicional de la invención se refiere a un kit que comprende una primera unidad de dosificación que comprende un compuesto quimiosensibilizante como se describe en la presente memoria y una unidad de dosificación adicional que comprende un agente antimicrobiano

Terapia

35 Como será entendido a partir de la descripción de la presente memoria, la enfermedad infecciosa que será tratada es una que se trata normalmente con un agente anti-infeccioso. La enfermedad infecciosa es causada normalmente por un agente infeccioso, tal como una bacteria, virus, hongo o un parásito intra- o extra-celular. El agente infeccioso es típicamente de origen natural, es decir una bacteria de origen natural, un virus de origen natural, un hongo de origen natural o un parásito intra- o extra-celular de origen natural.

Más particularmente, el agente infeccioso puede ser una bacteria Gram-negativa o Gram-positiva.

40 Los ejemplos específicos incluyen bacterias Gram-negativas de un género seleccionado del grupo que consiste en: *Escherichia*, *Proteus*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Providencia*, *Enterobacter*, *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Haemophilus*, *Yersinia*, *Neisseria*, *Erwinia*, *Rhodopseudomonas* y *Burkholderia*.

45 Los ejemplos específicos de bacterias Gram-positivas incluyen bacterias de un género seleccionado del grupo que consiste en: *Lactobacillus*, *Azorhizobium*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Photobacterium*, *Bacillus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Clostridium*, *Butyrivibrio*, *Sphingomonas*, *Rhodococcus* y *Streptomyces*.

En otras realizaciones, el agente infeccioso es, por ejemplo, de un género seleccionado del grupo que consiste en: *Methanobacterium*, *Sulfolobus*, *Archaeoglobus*, *Rhodobacter* y *Sinorhizobium*.

50 En aún otras realizaciones, el agente infeccioso es un hongo, tal como del género *Mucor* o *Candida*, por ejemplo, *Mucor racemosus* o *Candida albicans*; del género *Cryptococcus* por ejemplo, *Cr. Neoformans*; o del género *Aspergillus*, por ejemplo, *A. fumigatus*.

En las realizaciones adicionales, el agente infeccioso es un virus, tal como *picornaviridae*, *reoviridae*, *orthomyxoviridae*, *paramyxoviridae*, *adenoviridae*, *coronaviridae*, Virus de la inmunodeficiencia humana, virus de hepatitis, herpesviridae, oncovirus, citomegalovirus, papovaviridae o priones.

En todavía otras realizaciones, el agente infeccioso es un protozoo, tal como un parásito de malaria o criptosporidio.

En una realización particular de la invención, el agente infeccioso no es una cepa de *Staphylococcus aureus* seleccionada del grupo que consiste de ATCC 2593 y cepas derivadas de la misma, SA-1199, SA-1199B, SA-K1712, SA-K1748, SA 8325-4 y SA-K2068.

- 5 En otra realización de la invención, el agente infeccioso no es *Plasmodium falciparum*.

La toxicidad y eficacia terapéutica de los compuestos quimiosensibilizantes descritos en la presente memoria puede determinarse por medio de procedimientos farmacéuticos estándares en cultivos de células o animales experimentales, por ejemplo, al determinar el valor dosis letal 50 (DL₅₀) (que es la dosis letal para 50% de la población) y el valor de la dosis eficaz 50 (DE₅₀) (que es la dosis terapéuticamente eficaz en 50% de la población).

- 10 La relación de dosis entre efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico y puede expresarse como la relación entre DL₅₀ y DE₅₀ (DL₅₀/DE₅₀). Los compuestos quimiosensibilizantes que exhiben índices terapéuticos grandes son preferidos. Los datos obtenidos de estos ensayos de cultivo de células o estudios en animales se pueden utilizar en la formulación de un intervalo de dosificación para el uso en sujetos humanos. La dosificación de estos compuestos quimiosensibilizantes se encuentra preferiblemente dentro de un intervalo de concentraciones
15 circulantes que incluyen el valor DE₅₀ con poco o nada de toxicidad. La dosificación puede variar dentro de este intervalo dependiendo de la forma de dosificación empleada y la vía de administración utilizada.

Composiciones farmacéuticas

Los compuestos quimiosensibilizantes que se describen en la presente memoria son formulados típicamente en una composición farmacéutica antes del uso como una sustancia fármaco.

- 20 Por consiguiente, en un aspecto adicional, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto quimiosensibilizante como se describe en la presente memoria y al menos un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

La composición farmacéutica puede contener uno o dos o más compuestos quimiosensibilizantes como se describe en la presente memoria. En una realización interesante de la invención, la composición farmacéutica comprende,
25 además de un compuesto quimiosensibilizante, uno o más agentes anti-infecciosos.

La vía de administración de los compuestos quimiosensibilizantes descritos en la presente memoria puede ser cualquier vía adecuada que conduzca a una concentración en la sangre o tejido correspondiente a una concentración clínicamente relevante. Por tanto, por ejemplo, las siguientes vías de administración pueden ser aplicables aunque la invención no está limitada a las mismas: la vía oral, vía parenteral, vía cutánea, vía percutánea,
30 vía nasal, vía tópica, vía rectal, vía vaginal y vía ocular. Debe quedar claro para un experto en la técnica que la vía de administración es dependiente del compuesto quimiosensibilizante particular en cuestión, particularmente, la selección de la vía de administración depende de las propiedades fisicoquímicas del compuesto quimiosensibilizante junto con la edad y peso del paciente y de la enfermedad o estado particular y la gravedad de la misma. En general, sin embargo, se prefieren las vías oral y parenteral.

- 35 Los compuestos quimiosensibilizantes que se describen en la presente memoria pueden estar contenidos en cualquier cantidad apropiada en la composición farmacéutica y están contenidos generalmente en una cantidad de aproximadamente 0,1-95% en peso del peso total de la composición. La composición puede presentarse en una forma de dosificación, tal como una forma farmacéutica unitaria, la cual es adecuada para la vía de administración oral, parenteral, rectal, cutánea, percutánea, nasal, tópica, vaginal y/u ocular. Por tanto, la composición puede estar
40 en la forma de, por ejemplo, comprimidos, cápsulas, píldoras, polvos, gránulos, suspensiones, emulsiones, soluciones, geles incluyendo hidrogeles, pastas, ungüentos, cremas, emplastos, rocíos, dispositivos de suministro, supositorios, enemas, composiciones inyectables, implantes, pulverizaciones, aerosoles y en otra forma adecuada.

Las composiciones farmacéuticas pueden formularse de acuerdo con la práctica farmacéutica convencional, véase por ejemplo "*Remington's Pharmaceutical Sciences*" y "*Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*", editados por Swarbrick, J. & J.C. Boylan, Marcel Dekker, Inc., Nueva York, 1988. Típicamente, los compuestos quimiosensibilizantes que se describen en la presente memoria son formulados con (al menos) un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. Los vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables son los conocidos por los expertos en la técnica.

Formulaciones orales

- 50 Las composiciones farmacéuticas para el uso oral incluyen comprimidos que contienen un compuesto quimiosensibilizante como se describe en la presente memoria, en combinación opcionalmente con al menos un agente anti-infeccioso, en una mezcla con excipientes no tóxicos y farmacéuticamente aceptables. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes o materiales de carga inertes, tales como sacarosa, sorbitol, azúcar, manitol, celulosa microcristalina, almidones incluyendo almidón de patata, croscarmelosa de sodio, alginatos o ácido algínico;
55 agentes de granulación y disgregación, por ejemplo, derivados de celulosa incluyendo celulosa microcristalina,

almidones incluyendo almidón de patata, croscarmelosa de sodio, alginatos o ácido algínico;

agentes aglutinantes, por ejemplo, sacarosa, glucosa, sorbitol, goma acacia, ácido algínico, alginato de sodio, gelatina, almidón, almidón pregelatinizado, celulosa microcristalina, aluminosilicato de magnesio, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, etilcelulosa, polivinilpirrolidona o polietilenglicol; y

agentes lubricantes, incluyendo sustancias deslizantes y anti-adhesivos, por ejemplo, estearato de magnesio, estearato de zinc, ácido esteárico, sílices, aceites vegetales hidrogenados o talco.

Otros excipientes farmacéuticamente aceptables pueden ser colorantes, agentes saborizantes, plastificantes, humectantes, agentes tampones (amortiguadores del pH), etcétera.

- 10 Los comprimidos pueden ser no revestidos o pueden ser revestidos por medio de técnicas conocidas, opcionalmente para retardar la disgregación y absorción en el tracto gastrointestinal y proporcionar con lo cual una acción prolongada durante un período más grande. El revestimiento puede adaptarse para liberar el compuesto quimiosensibilizante en un patrón predeterminado, por ejemplo, a fin de obtener una formulación de liberación controlada (véase más adelante) o puede adaptarse para no liberar la sustancia de fármaco activo hasta después del paso por el estómago (revestimiento entérico). El revestimiento puede ser un revestimiento de azúcar, un
- 15 revestimiento de película (por ejemplo, basado en hidroxipropil-metilcelulosa, metilcelulosa, metil-hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, carboximetilcelulosa, copolímeros de acrilato, (Eudragit E^R), polietilenglicoles y/o polivinilpirrolidona) o un revestimiento entérico (por ejemplo basado en un copolímero de ácido metacrílico (Eudragit L y S^R), acetato-ftalato de celulosa, ftalato de hidroxipropil-metilcelulosa, acetato-succinato de
- 20 hidroxipropilmetilcelulosa, poli(acetato-ftalato) de vinilo, goma laca y/o etilcelulosa).

Además, se puede emplear un material de retardo de la liberación, tal como, por ejemplo, monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo.

- Además, las composiciones en forma de comprimidos sólidos mencionados anteriormente pueden ser provistos con un revestimiento adaptado para proteger la composición de cambios químicos no deseados, por ejemplo degradación química, antes de la liberación del compuesto quimiosensibilizante.

El revestimiento se puede aplicar a la forma de dosificación sólida de manera similar a la descrita en “*Aqueous film coating*” por James A. Seitz en “*Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*”, Volume 1, pp. 337-349 editado por Swarbrick, J. & J. C. Boylan, Marcel Dekker, Inc., Nueva York, 1988.

- 30 Las formulaciones para el uso oral también pueden presentarse como comprimidos masticables o como cápsulas de gelatina dura en donde el ingrediente activo está mezclado con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, almidón de patata, lactosa, celulosa microcristalina, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín o cápsulas de gelatina blanda en donde el ingrediente activo está mezclado con agua o un medio oleoso, por ejemplo, aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

- 35 Los polvos y gránulos pueden prepararse utilizando los ingredientes mencionados anteriormente en los comprimidos y cápsulas de manera convencional utilizando, por ejemplo, un aparato mezclado, un aparato de lecho fluido o un equipo de secado por pulverización.

Las composiciones de liberación controlada para el uso oral pueden elaborarse, por ejemplo, para liberar la sustancia fármaco activo controlando la disolución y/o la difusión de la sustancia fármaco activo.

- 40 La liberación controlada por disolución o difusión puede lograrse por medio del revestimiento apropiado de una formulación en forma de comprimido, cápsula, pelet o granulado del compuesto quimiosensibilizante o por medio de la incorporación del compuesto quimiosensibilizante en cuestión en, por ejemplo, una matriz apropiada.

- 45 Un revestimiento de liberación controlada puede comprender una o más de las sustancias de revestimiento mencionadas anteriormente y/o, por ejemplo, goma laca, cera de abeja, Glicowax^R, cera de ricino, cera de carnauba, alcohol estearílico, monoestearato de glicerilo, diestearato de glicerilo, palmitoestearato de glicerol, etilcelulosa, resinas acrílicas, ácido di-polliláctico, butirato de acetato de celulosa, poli(cloruro de vinilo), poli(acetato de vinilo), vinil-pirrolidona, polietileno, polimetacrilato, metacrilato de metilo, 2-hidroxiacetato de metilo, 2-hidroxiacetato de metilo, 1,3-butilenglicol, metacrilato de etilenglicol y/o polietilenglicoles.

- 50 En una formulación de matriz de liberación controlada del compuesto quimiosensibilizante, el material de la matriz puede comprender, por ejemplo, metilcelulosa hidratada, cera de carnauba y alcohol estearílico, carbopol 934, silicona, triestearato de glicerilo, acrilato de metilo-metacrilato de metilo, poli(cloruro de vinilo), polietileno y/o fluorocarburo halogenado.

Una composición de liberación controlada de los compuestos quimiosensibilizantes descritos en la presente memoria también puede estar en la forma de un comprimido o cápsula flotante, es decir, un comprimido o cápsula que con la administración oral flota en la parte superior del contenido gástrico durante un cierto período de tiempo. Una

5 formulación de comprimido flotante del compuesto quimiosensibilizante en cuestión puede prepararse granulando una mezcla del compuesto quimiosensibilizante, excipientes y 20-75% p/p de hidrocoloides, tales como hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa. Los gránulos obtenidos entonces se pueden transformar en comprimidos. Al entrar en contacto con el jugo gástrico, el comprimido puede formar una barrera de gel sustancialmente impermeable al agua alrededor de su superficie. Esta barrera de gel toma parte en el mantenimiento de una densidad menor que uno, permitiendo con lo cual que el comprimido permanezca flotando en el jugo gástrico.

Composiciones fluidas/líquidas para el uso oral

10 Los polvos, polvos dispersables o gránulos adecuados para la preparación de una suspensión acuosa por la adición de agua también son formas de dosificación convenientes. La formulación como una suspensión, emulsión o dispersión proporciona la sustancia activa en una mezcla con un agente de dispersión o humectante, agente de suspensión y/o uno o más conservantes. Estas formulaciones también pueden ser adecuadas para el uso de una sustancia activa para, por ejemplo, una mucosa tal como la mucosa gastrointestinal, bucal, nasal, rectal o vaginal o para la administración a la piel intacta o dañada o a las heridas.

15 Los agentes de dispersión o humectantes adecuados son, por ejemplo, fosfátidos de origen natural, por ejemplo lecitina o lecitina de semilla de soja; productos de condensación de óxido de etileno con, por ejemplo, un ácido graso, un alcohol alifático de cadena larga o un éster parcial derivado de ácidos grasos y un hexitol o un anhídrido de hexitol, por ejemplo estearato de polioxietileno, monooleato de polioxietileno-sorbitol, monooleato de polioxietileno-sorbitán, etc.

20 Los agentes de suspensión adecuados son, por ejemplo, gomas de origen natural tales como, por ejemplo, goma acacia, goma de xantán o goma de tragacanto; celulosas tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa de sodio, celulosa microcristalina (por ejemplo, Avicel^R RC 591, metilcelulosa, alginatos tales como, por ejemplo, alginato de sodio, etc).

25 Los ejemplos adecuados de conservantes para el uso en formulaciones de acuerdo con la invención son parabenos, tal como p-hidroxibenzoato de metilo o propilo y cloruro de benzalconio.

Formulaciones rectales y/o vaginales

30 Para la aplicación a la mucosa rectal o vaginal, las formulaciones adecuadas para el uso de acuerdo con la invención incluyen supositorios (de tipo emulsión o suspensión), enemas y cápsulas de gelatina para uso rectal (soluciones o suspensiones). Las bases para supositorio apropiadas, farmacéuticamente aceptables incluyen manteca de cacao, ácidos grasos esterificados, gelatina glicerizada y diversas bases solubles o dispersables en agua como polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de polioxietileno-sorbitán.

Se pueden incorporar varios aditivos como, por ejemplo, mejoradores o tensioactivos.

Formulaciones nasales

35 Para la aplicación a la mucosa nasal, las pulverizaciones nasales y aerosoles para inhalación son composiciones adecuadas para el uso de acuerdo con la invención. En una formulación típicamente nasal, la sustancia activa está presente en la forma de una formulación en partículas que esta dispersada opcionalmente en un vehículo adecuado. Todos los vehículos y excipientes farmacéuticamente aceptables y opcionalmente otros materiales farmacéuticamente aceptables que están presentes en la composición tales como diluyentes, mejoradores, agentes saborizantes, conservantes, etc., se seleccionan de acuerdo con la práctica farmacéutica convencional de una manera entendida por los expertos en la técnica de la formulación de productos farmacéuticos.

40 La administración nasal se puede emplear en los casos donde se desea un efecto inmediato. Además, después de la administración de una formulación nasal de acuerdo con la invención, la sustancia activa puede ser adsorbida en la mucosa nasal. Se cree que la adsorción en la mucosa conduce a un efecto menos irritante que cuando se emplea un vehículo líquido, por ejemplo, que contiene un mejorador o promotor de la penetración.

Formulaciones tópicas

50 Para la aplicación a la piel, las formulaciones de acuerdo con la invención pueden contener convencionalmente vehículos y excipientes no tóxicos, farmacéuticamente aceptables que incluyen microsferas y liposomas. Las formulaciones incluyen cremas, ungüentos, lociones, linimentos, geles, hidrogeles, soluciones, suspensiones, barras, pulverizaciones, pastas, emplastos y otras clases de sistemas de suministro transdérmico de fármacos. Los excipientes farmacéuticamente aceptables pueden incluir agentes emulsionantes, antioxidantes, agentes amortiguadores del pH, conservantes, humectantes, mejoradores de la penetración, agentes quelantes, agentes formadores de gel, bases para ungüentos, perfumes y agentes protectores de la piel.

Los ejemplos de agentes emulsionantes son gomas de origen natural, por ejemplo, goma acacia o goma de tragacanto, fosfátidos de origen natural, por ejemplo, lecitina de semilla de soja y derivados de monooleato de

sorbitán.

Los ejemplos de antioxidantes son hidroxí-anisol butilado (BHA), ácido ascórbico y sus derivados, tocoferol y sus derivados, hidroxí-anisol butilado y cisteína.

5 Los ejemplos de conservantes son parabenos, tales como p-hidroxibenzoato de metilo o propilo y cloruro de benzalconio.

Los ejemplos de humectantes son glicerina, propilenglicol, sorbitol y urea.

Los ejemplos de mejoradores de la penetración son propilenglicol, DMSO, trietanolamina, N,N-dimetilacetamida, N,N-dimetilformamida, 2-pirrolidona y sus derivados, alcohol tetrahidrofurfúrico y Azone^R.

Los ejemplos de agentes quelantes son EDTA sódico, ácido cítrico y ácido fosfórico.

10 Los ejemplos de otros excipientes son aceites comestibles como aceite de almendra, aceite de ricino, manteca de cacao, aceite de coco, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de linaza, aceite de oliva, aceite de palma, aceite de cacahuete, aceite de semilla de amapola, aceite de semilla de colza, aceite de ajonjolí, aceite de semilla de soja, aceite de girasol y aceite de semilla de té; y polímeros tales como carmelosa, carmelosa sódica, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, quitosán, pectina, goma de xantán, carragenina, 15 goma de semilla de algarroba, goma acacia, gelatina y alginatos. Los ejemplos de bases para ungüentos son cera de abeja, parafina, palmitato de cetilo, aceites vegetales, ésteres de sorbitán de ácidos grasos (Span), polietilenglicoles y productos de condensación entre ésteres de sorbitán de ácidos grasos y óxido de etileno, por ejemplo monooleato de polioxietilén-sorbitán (Tween).

20 Las formulaciones mencionadas anteriormente para la administración tópica también se pueden aplicar a heridas o pueden ser adecuadas para la aplicación directa o para la introducción en orificios relevantes del cuerpo, por ejemplo el orificio rectal, uretral, vaginal u oral. La formulación puede aplicarse simplemente de manera directa sobre la parte que será tratada tal como, por ejemplo, la mucosa.

Formulaciones parenterales

25 La composición farmacéutica también puede administrarse por la vía parenteral por medio de la inyección, infusión o implante (intravenoso, intramuscular, intra-articular, subcutáneo o similares) en formas farmacéuticas, formulaciones o por ejemplo dispositivos de suministro adecuados o implantes que contienen vehículos y adyuvantes no tóxicos, convencionales, farmacéuticamente aceptables.

30 La formulación y preparación de estas composiciones son bien conocidas por los expertos en la técnica de la formulación farmacéutica. Las formulaciones específicas se pueden encontrar en el libro de texto titulado "*Remington's Pharmaceutical Sciences*".

35 Las composiciones para el uso parenteral pueden presentarse en formas de dosificación unitaria, por ejemplo en ampollas o en viales que contienen varias dosis y en los cuales se puede agregar un conservante adecuado (véase posteriormente). La composición puede estar en la forma de una solución, suspensión, emulsión, dispositivo de infusión o dispositivo de suministro para el implante o puede presentarse como un polvo seco que será reconstituido con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso. Además de los compuestos quimiosensibilizantes descritos en la presente memoria, las composiciones pueden comprender vehículos y/o excipientes adecuados, parenteralmente aceptables o la sustancia fármaco activo puede ser incorporada en microesferas, microcápsulas, nanopartículas, liposomas o similares para la liberación controlada. Además, la composición puede comprender convenientemente, además, agentes de puesta en suspensión, solubilizantes, estabilizantes, de ajuste de pH y/o agentes dispersantes.

40 En otra realización interesante de la invención, la composición farmacéutica es una forma farmacéutica sólida, tal como un comprimido, preparada a partir del material en partículas descrito en los documentos WO 03/004001 y WO 2004/062643.

45 Como se indicó anteriormente, las composiciones farmacéuticas pueden contener el compuesto quimiosensibilizante en la forma de una inyección estéril. Para preparar esta composición, el compuesto quimiosensibilizante se disuelve o suspende en un vehículo líquido, parenteralmente aceptable. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse está el agua, agua ajustada a un pH adecuado por la adición de una cantidad apropiada de ácido clorhídrico, hidróxido de sodio o un amortiguador del pH adecuado, 1,3-butanodiol, solución de Ringer y una solución isotónica de cloruro de sodio. La formulación acuosa también puede contener uno o más conservantes, por ejemplo, p-hidroxibenzoato de metilo, etilo o n-propilo. En casos donde el compuesto quimiosensibilizante solo es escasa o 50 ligeramente soluble en agua, se puede añadir un agente mejorador de la disolución o solubilizante o el disolvente puede comprender, además de agua, 10-60% en p/p de propilenglicol o similares.

Dosificaciones

Como se describió con mayor detalle previamente, un aspecto importante de la presente invención es la realización

de que los compuestos quimiosensibilizantes descritos en la presente memoria son capaces de revertir la resistencia o resistencia a múltiples fármacos cuando se administran en cantidades clínicamente relevantes, es decir en cantidades suficientemente pequeñas para evitar los graves efectos secundarios que están asociados normalmente con los compuestos quimiosensibilizantes descritos en la presente memoria.

- 5 Se entenderá que la dosificación que será administrada dependerá de la forma de administración (véase más adelante). Independientemente de la forma de administración, el compuesto quimiosensibilizante debe administrarse en cantidades clínicamente relevantes, es decir en cantidades que por una parte ejerzan el efecto terapéutico relevante, pero que por otra parte no proporcionen graves efectos secundarios.

- 10 Preferiblemente, un compuesto quimiosensibilizante como uno de los descritos en la presente memoria se administra en una cantidad clínicamente relevante dando origen a una concentración en el suero en estado estacionario menor que 8,0 mg/l. Más preferiblemente, el compuesto quimiosensibilizante se administrado en una cantidad clínicamente relevante dando origen a una concentración en el suero en estado estacionario menor que 7,0 mg/l, tal como menor que 6,0 mg/l, por ejemplo menor que 5,0 mg/l. Aún más preferiblemente, el compuesto quimiosensibilizante se administra en una cantidad clínicamente relevante dando origen a una concentración en el suero en estado estacionario menor que 4,0 mg/l, tal como menor que 3,0 mg/l, por ejemplo menor que 2,0 mg/l. Lo más preferiblemente, el compuesto quimiosensibilizante se administra en una cantidad clínicamente relevante dando origen a una concentración en el suero en estado estacionario menor que 1,5 mg/l, por ejemplo, aproximadamente 1,0 mg/l o aproximadamente 0,5 mg/l.

- 20 En otras palabras, el compuesto quimiosensibilizante se administra preferiblemente en una cantidad clínicamente relevante dando origen a una concentración en el suero en estado estacionario en el intervalo de 0,01 µg/l a menos de 8,0 mg/l, tal como en el intervalo de 0,02 µg/l a 7,0 mg/l, por ejemplo en el intervalo de 0,04 µg/l a 6,0 mg/l. Más preferiblemente, la concentración en el suero en estado estacionario del compuesto quimiosensibilizante está en el intervalo de 0,06 µg/l a 5,0 mg/l, tal como en el intervalo de 0,08 µg/l a 4,0 mg/l, por ejemplo en el intervalo de 0,1 µg/l a 3,0 mg/l. Aún más preferiblemente, la concentración en el suero en estado estacionario del compuesto quimiosensibilizante está en el intervalo de 0,2 µg/l a 2,0 mg/l, tal como en el intervalo de 0,4 µg/l a 2,0 mg/l, por ejemplo en el intervalo de 0,5 µg/l a 2,0 mg/l. Aún más preferiblemente, la concentración en el suero en estado estacionario del compuesto quimiosensibilizante está en el intervalo de 0,6 µg/l a 2,0 mg/l, tal como en el intervalo de 0,8 µg/l a 2,0 mg/l, por ejemplo en el intervalo de 0,9 µg/l a 2,0 mg/l. Mucho más preferiblemente, la concentración en el suero en estado estacionario del compuesto quimiosensibilizante está en el intervalo de 1,0 µg/l a 2,0 mg/l, tal como en el intervalo de 1,5 µg/l a 2,0 mg/l, por ejemplo en el intervalo de 1,5 µg/l a 1,5 mg/l.

El compuesto quimiosensibilizante se administra preferiblemente en una cantidad de aproximadamente 0,1 a 3000 mg al día, tal como de aproximadamente 0,5 a 2000 mg al día. Como será entendido por los expertos, la cantidad real que será administrada será dependiente *inter alia* de la vía de administración, es decir, si el compuesto quimiosensibilizante se administra por la vía oral, intravenosa, intramuscular, etc.

- 35 Para las composiciones adaptadas para la administración oral para el uso sistémico, la dosificación es 0,1 mg a 3 g por dosis, tal como de 0,1 mg a 1000 mg, preferiblemente de 1 mg a 600 mg, más preferiblemente de 2 mg a 400 mg, administrada 1-10 veces al día, tal como 1-4 veces al día, durante 1 día a 12 meses dependiendo de la enfermedad infecciosa que se ha de tratar. Las dosificaciones para composiciones que serán administradas por medio de la inhalación se encuentran dentro de estos mismos intervalos.

- 40 Para la administración parenteral, en particular la administración intravenosa, es conveniente una dosis de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 2000 mg al día. Para la administración intravenosa, es conveniente una dosis de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 2000 mg al día administrada durante 1 día a 12 meses.

- 45 Para la administración percutánea y tópica, la dosificación es de 0,1 mg a 5 g por dosis, administrada de 1 a 10 veces al día durante 1 día a 12 meses. Para la administración rectal, la dosificación es normalmente de 0,1 a 2000 mg por dosis, administrada de 1 a 10 veces al día durante 1 día a 12 meses.

- 50 Las concentraciones en el suero en estado estacionario y dosificaciones mencionadas anteriormente darán origen a los efectos clínicos deseados y, al mismo tiempo, evitarán los efectos secundarios graves que están asociados normalmente con los compuestos quimiosensibilizantes descritos en la presente memoria. Algunos de los compuestos quimiosensibilizantes descritos en la presente memoria, en particular los compuestos quimiosensibilizantes de la fórmula general IIIb, pueden administrarse, sin embargo, en cantidades más altas, dando origen con ello a concentraciones en el suero en estado estacionario superiores a los niveles indicados anteriormente. Esto es debido al hecho que se espera que estos compuestos quimiosensibilizantes no exhiban efectos secundarios graves, aún cuando se administren en cantidades más altas.

La invención se ilustra adicionalmente por los siguientes ejemplos no limitantes.

55

MATERIALES Y MÉTODOS

Bacterias

Las bacterias fueron sub-cultivadas en placas de agar-agar Mueller-Hinton y fueron incubadas durante la noche a 37°C. El caldo Mueller-Hinton precalentado se inoculó con colonias de la placa y se incubó durante
5 aproximadamente tres horas para obtener un cultivo en fase logarítmica. El cultivo en fase logarítmica de las bacterias se diluyó con medio precalentado reciente y se ajustó a una densidad óptica definida (DO) a 600 nm a fin de proporcionar una concentración de ensayo final de 1×10^4 bacterias/ml de medio.

Las células DR fueron aproximadamente de 10 a 100 veces más resistentes en comparación con las líneas de células sensibles y mantuvieron un fenotipo DR estable cuando se desarrollaron en un medio libre de fármaco. La
10 única excepción fue el aislado F84 de *Enterococcus faecalis*. Esta cepa se cultivó en presencia de vancomicina a 4 µg/ml a fin de retener el valor de MIC en 4 µ/ml.

Las cepas se obtuvieron de Statens Seruminstitut, Dinamarca, The Technical University of Denmark, y The Department of Clinical Microbiology, Soenderborg Hospital, Dinamarca.

Aislados

15 *E. coli*, LN 3164. Mutante seleccionado *in vitro* de Acr AB-Tolc MDR. Resistente a tetraciclina, beta-lactamas, fluoroquinolonas, cloranfenicol y aminoglicósidos.

E. coli 331 ME. Aislados clínicos resistentes a múltiples fármacos seleccionados *in vivo* de *E. coli*. Las cepas se aislaron de un paciente con cistitis/urosepsis grave. Resistentes a tetraciclina, beta-lactamas, fluoroquinolonas, cloranfenicol y aminoglicósidos.

20 *P. aeruginosa* 432b. Aislado clínico resistente a múltiples fármacos. Resistente a tetraciclina, beta-lactamas, fluoroquinolonas y aminoglicósidos. Productor de beta-lactamasa, cambios en las proteínas de unión a penicilina y cambios en las Proteínas de Membrana Exterior.

Staphylococcus aureus E45 MRSA. Aislado clínico. Resistente a meticilina. Susceptible a cloranfenicol de teicoplanina, fosfomicina, netilmicina y vancomicina.

25 *Staphylococcus aureus* 011. Aislado clínico resistente a penicilina. Susceptible a meticilina, tetraciclina, beta-lactamas, fluoroquinolonas, cloranfenicol y aminoglicósidos.

Enterococcus faecalis, F84. Un aislado clínico resistente a múltiples fármacos. Resistente a ampicilina, ciprofloxacina, gentamicina y resistencia disminuida a vancomicina. Expresa un cambio en la diana precursora de la pared celular como un mecanismo de resistencia principal (expresión del gen VanA).

30 *Enterococcus faecalis*, F86. Aislado clínico, susceptible. Sin desarrollo de resistencia.

Fármacos

Los fármacos se disolvieron en pequeñas cantidades de agua o DMSO al 1% (concentración de cultivo final de DMSO menor que 0,05% de DMSO) antes de la dilución con el medio. Las soluciones se prepararon recientemente para cada experimento.

35 La clorpromazina, promazina, prometazina, proclorperazina, trifluoperazina, flufenazina, tioridazina, clorpotixeno, *trans*-clorprometixol, *cis*- y *trans*-flupentixol se obtuvieron de H. Lundbeck (Copenhague, Dinamarca) y British Pharmacopoeia Commission Laboratory, Middlesex, Reino Unido. La 7-hidroxiclorpromazina, 7,8-dihidroxiclorpromazina, hidrocloreuro de desmetilclorpromazina, trifluopromazina, sulfóxido de clorpromazina, 1-clorpromazina, fenotiazina, hidrocloreuro de 2-cloro-10-(2-dimetilaminoetilo) se obtuvieron de The National Institute of
40 Mental Health (EE.UU.). La tiometilpromazina se obtuvo de Statens Seruminstitut (Copenhague, Dinamarca). La perfenazina se obtuvo de Sigma (Copenhague, Dinamarca). El ácido fusídico se obtuvo de Leo Pharma AS (Copenhague, Dinamarca), el aztreonam se obtuvo de Bristol Meyers (Bromma, Suecia). La vancomicina se obtuvo de Alpharma AS (Copenhague, Dinamarca). La ciprofloxacina se obtuvo de 1A Pharma (Copenhague, Dinamarca) y la gentamicina se obtuvo de Schering-Plough Europe (Bruselas, Bélgica).

45 Efecto de fármacos sobre el crecimiento de células microbianas y DR

El crecimiento de células se sometió a ensayo utilizando los ensayos de susceptibilidad a la MIC por medio del uso del método de caldo de microdilución de acuerdo con las Directrices NCCLS (*NCCLS Guidelines, Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard, Sixth Edition, Volume 23; Number 2*). Se utilizaron un caldo Mueller-Hinton al 100% y una concentración bacteriana de 1×10^4 /ml.

50 Un cultivo en fase logarítmica de bacterias se diluyó con medio precalentado reciente y se ajustó a una DO definida a 600 nm a fin de proporcionar una concentración final de 1×10^4 bacterias/ml de medio en cada pocillo. Cada

compuesto quimiosensibilizante se agregó al cultivo bacteriano en los pocillos en diluciones de dos veces a fin de proporcionar concentraciones finales que variaban de 8 a 500 µg/ml. Las charolas se incubaron a 37°C durante 16 horas. La Concentración inhibitoria mínima (MIC) se define como la concentración inhibitoria más baja que no muestra un crecimiento visible de acuerdo con las Directrices NCCLS.

5 Los efectos de los compuestos quimiosensibilizantes sobre la DR se estudiaron por medio del ensayo de microtitulación descrito anteriormente por medio de la exposición de las células a 0-64 µg/ml de fármaco anti-infeccioso en ausencia o presencia del compuesto quimiosensibilizante. Cada experimento se repitió por triplicado. Los valores de MIC representan los valores promedio de dos experimentos separados.

10 Un cultivo en fase logarítmica de bacterias se diluyó con medio precalentado, reciente y se ajustó a una DO definida a 600 nm a fin de proporcionar una concentración final a 1×10^4 bacterias/ml de medio en cada pocillo. Un compuesto quimiosensibilizante se añadió al cultivo bacteriano en los pocillos a fin de proporcionar concentraciones finales a 1/4 del valor de MIC del compuesto quimiosensibilizante. Un agente anti-infeccioso se añadió al cultivo bacteriano en los pocillos en diluciones de dos veces a fin de proporcionar concentraciones finales que variaban desde 0 hasta 64 µg/ml. Las bandejas se incubaron a 37°C durante 16 horas. La relación de DR se definió como la relación entre el valor de MIC para el agente anti-infeccioso solo dividido por la MIC para el agente anti-infeccioso en presencia del compuesto quimiosensibilizante. Esta relación representa el aumento en la potencia aparente del agente anti-infeccioso causada por el compuesto quimiosensibilizante y se puede expresar como:

$$\text{Relación de DR} = (\text{MIC}_{\text{agente anti-infeccioso}}) / (\text{MIC}_{\text{agente anti-infeccioso} + \text{compuesto quimiosensibilizante}})$$

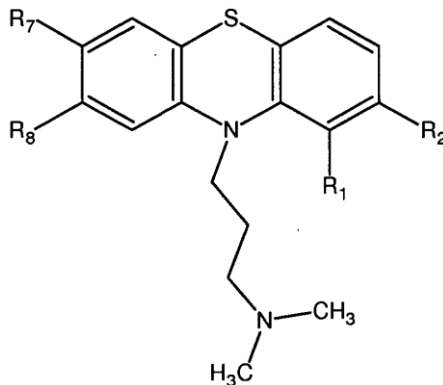
Ejemplos

20 **Ejemplo 1 - Efecto de la modificación de promazina**

La Tabla 1 muestra las estructuras, valores de MIC y relaciones de DR para una serie de derivados de promazina que tienen diferentes sustituyentes R₁, R₂, R₇ y R₈.

El agente anti-infeccioso empleado fue ciprofloxacina y la cepa bacteriana fue *E. coli*, LN 3164.

Los compuestos quimiosensibilizantes (promazina y sus derivados) tenían la siguiente estructura general:



25

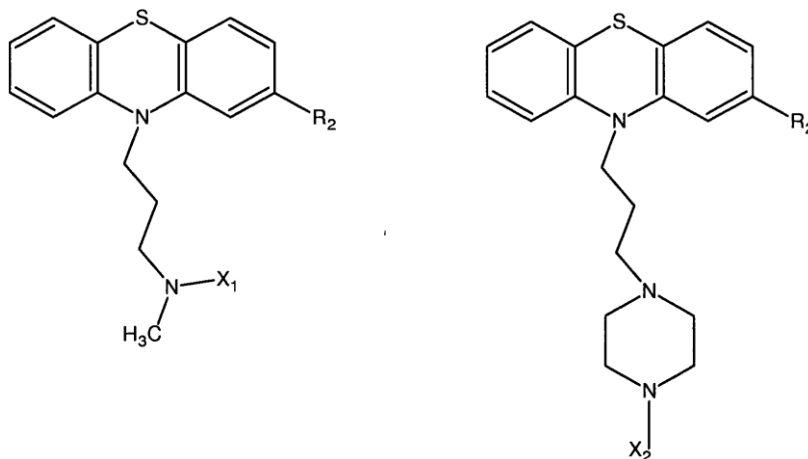
Los resultados obtenidos se recopilan en la Tabla 1 a continuación:

Tabla 1

R ₁	R ₂	R ₇	R ₈	Nombre	MIC (µg/ml)	Relación de DR
H	H	H	H	Promazina	64	2
Cl	H	H	H	1-clorpromazina	64	2
H	Cl	H	H	clorpromazina	32	4
H	Cl	OH	H	7-hidroxiclorpromazina	125	1
H	Cl	OH	OH	7,8-dihidroxiclorpromazina	125	0.5
H	S-CH ₃	H	H	Tiometilpromazina	32	4
H	CF ₃	H	H	Trifluoropromazina	32	8

Como se puede observar, el compuesto quimiosensibilizante no sustituido (promazina) inhibió el crecimiento celular y sensibilizó a las células de *E. coli* resistentes a fármacos hacia la ciprofloxacina en un 100% (relación de DR = 2). Sin embargo, la introducción de un átomo de cloro en la posición 1 o 2 aumentó la potencia contra la resistencia a fármacos. En particular, la introducción del átomo de cloro en la posición 2 tuvo el efecto más grande y sensibilizó a las células resistentes a fármacos en 220%. De manera similar, la introducción de un grupo CF₃ en la posición 2 también aumentó la potencia contra el crecimiento de células y la resistencia a fármacos. La oxidación del átomo de azufre del anillo para producir sulfóxido de clorpromazina tuvo la misma actividad contra la resistencia a fármacos como la clorpromazina.

A fin de determinar la influencia de la cadena lateral de amino, se sometieron a ensayo como se describió anteriormente los compuestos quimiosensibilizantes que tienen las siguientes estructuras generales:



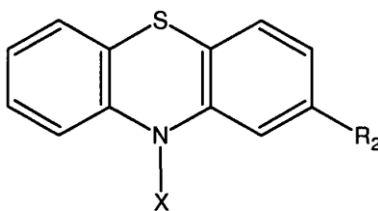
Los resultados obtenidos se recopilan en la tabla 2 a continuación:

Tabla 2

R ₂	X ₁	X ₂	Nombre	MIC (µg/ml)	Relación de DR
Cl	H	-	Desmetilclorpromazina	32	2
Cl	CH ₃	-	Clorpromazina	32	4
CF ₃	CH ₃	-	Trifluopromazina	32	8
Cl	-	CH ₂ -CH ₂ -OH	Perfenazina	125	4
Cl	-	CH ₃	Proclorperazina	64	4
CF ₃	-	CH ₂ -CH ₂ -OH	Flufenazina	32	8
CF ₃	-	CH ₃	Trifluoperazina	16	16

La Tabla 2 anterior muestra que las fenotiazinas que contienen aminas terciarias (por ejemplo clorpromazina) y aminas secundarias (desmetilclorpromazina) poseen actividad similar en la inhibición del crecimiento de células (valores de la MIC 2 µg/ml). Sin embargo, las fenotiazinas que contienen aminas terciarias, tal como clorpromazina, fueron antagonistas más potentes de DR que las que tenían aminas secundarias, tal como desmetilclorpromazina, que producían un aumento de 1,6 veces en la actividad anti-DR. Otros cambios en el tipo de grupo amino también afectaron la actividad anti-DR. Por ejemplo, los derivados de piperazinilo aumentaron la potencia contra DR. Por consiguiente, las relaciones de DR para los compuestos trifluoperazina y flufenazina fueron más grandes que la de trifluopromazina, un compuesto con un patrón de sustitución de anillos ideal, pero que poseía una cadena lateral alifática. De manera similar, la perfenazina y la proclorperazina fueron antagonistas más potentes de DR que la clorpromazina. Esta serie de experimentos también señala la importancia de la sustitución de CF₃ en la posición 2 para la actividad anti-DR. Por ejemplo, la relación de DR para trifluoperazina fue mayor que la de proclorperazina. Estas fenotiazinas tienen estructuras idénticas excepto que las primeras tienen un grupo CF₃ en lugar de un átomo de cloro en la posición 2. Una relación similar se observa al comparar la flufenazina con la perfenazina. Finalmente, una sustitución de metilo *para* en el anillo de piperazinilo pareció ser más potente que una sustitución de etanol *para*, como se puede observar al comparar las relaciones de DR para proclorperazina con respecto a perfenazina o trifluoperazina con respecto a flufenazina.

Con el fin de determinar la influencia de la longitud de la cadena lateral que contiene amino se sometieron a ensayo, como se describió anteriormente, los compuestos quimiosensibilizantes que tenían las siguientes estructuras generales:



5 Los resultados obtenidos se recopilan en la Tabla 3 a continuación:

Tabla 3

R ₂	X	Nombre	MIC (µg/ml)	relación de DR
Cl	CH ₂ -CH ₂ -N(CH ₃) ₂	2-cloro-10-dimetilamino-etil)fenotiazina	64	2
Cl	(CH ₂) ₃ -N(CH ₃) ₂	Clorpromazina	32	4
Cl	CH ₂ -CH(CH ₃)-N(CH ₃) ₂	Prometazina	64	8
H	CH ₂ -CH ₂ -N(CH ₃) ₂	Promazina	64	2

10 La Tabla 3 anterior muestra el efecto sobre el crecimiento de células y la DR de una serie de dimetilamino-fenotiazinas en las cuales se varió la longitud de la cadena lateral que contiene amino. Como se puede observar, el movimiento de un puente de alquilo de 2 a 3 átomos de carbono aumentó los efectos anti-DR de estos compuestos quimiosensibilizantes. Por ejemplo, la clorpromazina tenía una relación de DR mayor que la de la 2-cloro-10-(2-dimetilaminoetil)fenotiazina. La Prometazina, que tiene una cadena lateral de isopropilo, fue un inhibidor de DR más potente en comparación con la promazina, que tiene una cadena lateral lineal de tres átomos de carbono

Ejemplo 2 - Efecto de la estereoquímica

15 Con el fin de investigar la influencia de la estereoquímica cis y trans se sometieron a ensayo una serie de tioxantenos como se describió anteriormente. La Tabla 4 muestra los valores de las MIC y las relaciones de DR para los tioxantenos sometidos a ensayo.

Tabla 4

Nombre	MIC (µg/ml)	Relación de DR
<i>trans</i> -flupentixol	32	64
<i>cis</i> -flupentixol	32	32
<i>trans</i> -clopentixol	16	128

20 Los resultados anteriores demuestran que se requieren configuraciones estereoisómeras para la actividad óptima contra la DR. Por ejemplo, el *trans*-flupentixol es un agente anti-DR más potente que la forma *cis* del compuesto y el *trans*-clopentixol fue el agente anti-DR más potente. Por tanto, la orientación de la amina de cadena lateral con relación al núcleo tricíclico parece ser un factor importante para la actividad anti-DR.

Ejemplo 3 - Efecto de la hidrofobicidad

25 Para determinar si las diferencias en la potencia anti-DR en los compuestos quimiosensibilizantes con alteraciones de cadenas laterales también fueron debido a cambios en la hidrofobicidad total, los coeficientes de reparto de octanol:amortiguador de pH para cada uno de los fármacos en las Tablas 1, 2, 3 y 4 se compararon con sus relaciones de DR. No se encontró una correlación estadísticamente significativa entre la hidrofobicidad y la actividad anti-DR (p>0.5) (Datos no mostrados).

Ejemplo 4 - Efectos sinérgicos de derivados de tioxanteno

El efecto sinérgico de *trans*-flupentixol, *cis*-flupentixol y *trans*-clopentixol sobre una variedad de agentes anti-infecciosos se examinó contra un panel de aislados bacterianos susceptibles y resistentes que representan diferentes especies y mecanismo de resistencia.

5 El efecto sinérgico se analizó por medio de estudios de combinación de tablero de ajedrez que exponían células a 0-64 µg/ml de agente anti-infeccioso en ausencia o presencia de *trans*-flupentixol, *cis*-flupentixol o *trans*-clopentixol. Cada experimento se repitió por tri-duplicado. Los valores de las MIC representan los valores medios de dos experimentos separados.

10 Un cultivo en fase logarítmica de bacterias se diluyó con un medio precalentado reciente y se ajustó a una DO definida a 600 nm a fin de proporcionar una concentración final de 1×10^4 bacterias/ml de medio en cada pocillo. Cada compuesto quimiosensibilizante se añadió al cultivo bacteriano en los pocillos en diluciones de dos veces a fin de proporcionar concentraciones finales que variaban desde 0 hasta 8 µg/ml. El agente anti-infeccioso se añadió al cultivo bacteriano en los pocillos en diluciones de dos veces a fin de proporcionar concentraciones finales que variaban desde 0 hasta 64 µg/ml. Las bandejas se incubaron a 37°C durante 16 horas. Los pocillos se evaluaron visualmente por el crecimiento. La concentración inhibitoria fraccional (FIC) se calculó para cada agente anti-infeccioso solo y en combinación con *trans*-flupentixol, *cis*-flupentixol o *trans*-clopentixol. Para calcular el índice de FIC se utilizaron las siguientes fórmulas:

$$\text{FIC} = \text{FIC}_{\text{agente quimiosensibilizante}} + \text{FIC}_{\text{agente anti-infeccioso}}$$

donde:

$$\text{FIC}_{\text{compuesto quimiosensibilizante}} = (\text{MIC}_{\text{compuesto quimiosensibilizante + agente anti-infeccioso}}) / (\text{MIC}_{\text{compuesto quimiosensibilizante}})$$

$$20 \quad \text{FIC}_{\text{agente anti-infeccioso}} = (\text{MIC}_{\text{agente anti-infeccioso + compuesto quimiosensibilizante}}) / (\text{MIC}_{\text{agente anti-infeccioso}})$$

La sinergia se definió como un índice de FIC de <0,5. Los índices de FIC calculados se muestran en la Tabla 5 a continuación:

Tabla 5.

Aislado	Agente anti-infeccioso	Resistencia *	<i>Cis</i> -flupentixol	<i>Trans</i> -flupentixol	<i>Trans</i> -clopentixol
<i>E. faecalis</i> F84	Vanomicina	MDR	0,25	0,13	0,06
	Dicloxacilina		0,13	0,06	0,03
<i>E. faecalis</i> F86	Dicloxacilina	S	0,50	0,50	0,25
<i>S. aureus</i> E45	Dicloxacilina	R	0,25	0,13	0,06
	Ácido fusídico	R	0,26	0,13	0,06
<i>S. aureus</i> 011	Dicloxacilina	S	0,50	0,50	0,25
<i>E. coli</i> LN 3164	Ciprofloxacina	MDR	0,25	0,13	0,063
	Gentamicina		0,25	0,063	0,063
	Piperacilina		0,25	0,13	0,063
<i>E. coli</i> 331ME	Ciprofloxacina	MDR	0,013	0,006	0,003
	Gentamicina		0,06	0,02	0,008
	Piperacilina		0,25	0,13	0,063
<i>P. aeruginosa</i>	Ciprofloxacina	R	0,06	0,03	0,008
	Gentamicina	R	0,13	0,006	0,032
	Piperacilina	R	0,25	0,13	0,063

*R= Aislado resistente a un agente anti-infeccioso; S = aislado susceptible a un agente anti-infeccioso; MDR = aislado resistente a múltiples fármacos.

25 Los índices de FIC para *trans*-clopentixol y *cis*- y *trans*-flupentixol muestran que estos compuestos son fuertemente sinérgicos en la promoción de los efectos bacteriostáticos de agentes anti-infecciosos en las células resistentes a

fármacos. La mayoría de los índices de FIC para los compuestos quimiosensibilizantes sometidos a ensayo en células resistentes a fármacos fueron $<0,5$. El *trans*-clopentixol fue el más potente de todos los compuestos quimiosensibilizantes sometidos a ensayo, es decir la forma *trans* fue más potente en comparación con la forma *cis*. Por tanto, el uso clínico de, por ejemplo, *trans*-clopentixol o *trans*-flupentixol en combinación con un agente anti-infeccioso cambiaría probablemente la MIC de este agente anti-infeccioso para las células DR a muy por debajo de la concentración clínicamente alcanzable, mostrando concentraciones eficaces a <500 ng/ml (las concentraciones eficaces de los compuestos quimiosensibilizantes están en el intervalo de $0,32$ $\mu\text{g/ml}$ a 4 $\mu\text{g/ml}$). El efecto anti-DR fue el más potente en las células resistentes. Sin embargo, un efecto mejorador de antibióticos, remarcable también se mostró en las células susceptibles indicando enfáticamente que el efecto anti-DR de estos compuestos quimiosensibilizantes no está restringido a las células que sobre-expresan bombas de evacuación y el mecanismo anti-DR no está restringido a esta diana. Los índices de FIC para células susceptibles a antibióticos variaron desde $0,25$ hasta $0,5$.

Además, los resultados demuestran que el *cis*- y *trans*-flupentixol así como también el *trans*-clopentixol mejoraron la actividad anti-infecciosa del antibiótico de beta-lactama piperacilina contra células de *P. aeruginosa* que expresaban beta-lactamasa capaces de inhibir la piperacilina (Giwerzman B et al., 1992 y 1990) lo que sugiere que el mecanismo anti-DR de los compuestos no está restringido a la inhibición de bombas de evacuación MDR. Los efectos antiproliferantes de los compuestos quimiosensibilizantes fueron modestos, aproximadamente de igual potencia, tanto en los aislados sensibles como resistentes. Los valores de las MIC variaron desde 16 hasta 64 $\mu\text{g/ml}$ (datos no mostrados).

20 Ejemplo 5. Efectos sinérgicos de derivados de fenotiazina

El efecto sinérgico del agente anti-infeccioso ciprofloxacina se examinó contra un aislado bacteriano clínico resistente a ciprofloxacina de *Enterococcus faecalis*.

El efecto sinérgico se estudió por medio de estudios de combinación de tablero de ajedrez que exponían células a $0-8$ $\mu\text{g/ml}$ de agente anti-infeccioso en ausencia o presencia de clorpromazina, promazina o perfenazina. Cada experimento se repitió por duplicado. Los valores de las MIC representan los valores medios de dos experimentos separados.

Un cultivo en fase logarítmica de bacterias se diluyó con medio precalentado reciente y se ajustó a una DO definida a 600 nm con el fin de proporcionar una concentración final de $1 \times 10^{4-5}$ bacterias/ml de medio en cada pocillo. Cada compuesto quimiosensibilizante se añadió al cultivo bacteriano en los pocillos en diluciones de dos veces a fin de proporcionar concentraciones finales que variaban desde 0 hasta 16 $\mu\text{g/ml}$. El agente anti-infeccioso se añadió al cultivo bacteriano en los pocillos en diluciones de dos veces con el fin de proporcionar concentraciones finales que variaban desde 0 hasta 16 $\mu\text{g/ml}$. Las bandejas se incubaron a 37°C durante 16 horas. Los pocillos se evaluaron visualmente por el crecimiento. La concentración inhibitoria fraccional (FIC) se calculó para el agente anti-infeccioso solo y en combinación con clorpromazina, promazina o perfenazina. Para calcular el índice de FIC se utilizaron las siguientes fórmulas:

$$\text{FIC} = \text{FIC}_{\text{agente quimiosensibilizante}} + \text{FIC}_{\text{agente anti-infeccioso}}$$

donde:

$$\text{FIC}_{\text{compuesto quimiosensibilizante}} = (\text{MIC}_{\text{compuesto quimiosensibilizante + agente anti-infeccioso}}) / (\text{MIC}_{\text{compuesto quimiosensibilizante}})$$

$$\text{FIC}_{\text{agente anti-infeccioso}} = (\text{MIC}_{\text{agente anti-infeccioso + compuesto quimiosensibilizante}}) / (\text{MIC}_{\text{agente anti-infeccioso}})$$

40 La sinergia se definió como un índice de FIC de $<0,5$. Los índices de FIC calculados se muestran en la Tabla 6 a continuación:

Los índices de FIC para clorpromazina, promazina o perfenazina muestran que estos compuestos son sinérgicos en la promoción de los efectos bacteriostáticos de los agentes anti-infecciosos en células resistentes a fármacos. Todos los índices de FIC para los compuestos quimiosensibilizantes sometidos a ensayo en células resistentes a fármacos fueron $<0,5$. La clorpromazina, promazina o perfenazina fueron iguales con respecto a la capacidad para mejorar el efecto de la ciprofloxacina. Las concentraciones eficaces más bajas de los compuestos mejoradores estuvieron entre 1 y 2 $\mu\text{g/ml}$. Por tanto, el uso clínico de, por ejemplo, clorpromazina, promazina o perfenazina en combinación con un agente anti-infeccioso cambiaría probablemente la MIC de este agente anti-infeccioso para las células DR a un valor muy por debajo de la concentración clínicamente alcanzable, mostrando concentraciones efectivas a <2 $\mu\text{g/ml}$.

Tabla 6

Aislado	Agente anti-infeccioso	Clorpromazina cip*, FIC	+ Promazina + cip FIC	Perfenazina + cip FIC
<i>E. faecalis</i> 21416A	Ciprofloxacina MIC 4 µg/ml	0,25	0,25	0,25

*: cip = ciprofloxacina

Ejemplo 6 - Desarrollo de insensibilidad a los compuestos quimiosensibilizantes

- 5 Una limitación potencial para la combinación de un agente anti-infeccioso con inhibidores de mecanismo(s) de resistencia es la posibilidad que el microorganismo desarrolle mutaciones las cuales lo vuelven insensible al inhibidor. Esta situación ha sido observada, por ejemplo, en bacterias, virus, hongos y levadura.

Se determinó el efecto de los inhibidores sobre la velocidad de aparición de resistencia a ciprofloxacina en una sola etapa seleccionada *in vitro* sobre el aislado clínico de *S. aureus* 011.

- 10 Los mutantes espontáneos se obtuvieron 24 horas después del cultivo en placas de agar-agar en caldo de Luria (LB) de células de *S. aureus* que contenían ciprofloxacina a una concentración de 1 µg/ml (dos veces la MIC) en ausencia o presencia de *trans*-clopentixol a 1 µg/ml. La frecuencia de la selección de mutantes se determinó que era 3×10^{-8} comparando el número de colonias que crecieron en placas que contenían el agente anti-infeccioso con el número de colonias obtenidas en el cultivo en placas de diluciones apropiadas en ausencia de agentes anti-infecciosos.

El aspecto probablemente más importante, cuando se evalúa el uso de los inhibidores en la clínica, es el efecto de estos inhibidores sobre la aparición de mutantes resistentes. De manera importante y como se muestra en la Tabla 7, el inhibidor sometido a ensayo disminuyó la frecuencia de la aparición espontánea de resistencia a ciprofloxacina en 100 veces o más. Este efecto acusado no pudo ser atribuido a un efecto tóxico del inhibidor puesto que la misma concentración del inhibidor, que fue al menos 10 veces menor que su MIC para *S. aureus*, no afectó la capacidad de formación de colonias ni el tamaño de colonias de células de *S. aureus* colocadas en placas en ausencia de ciprofloxacina. En conclusión, el *trans*-clopentixol inhibió la emergencia de resistencia a ciprofloxacina en *S. aureus*.

Tabla 7

Inhibidor (1 µg/ml)	Frecuencia en la emergencia de resistencia
Ninguno	3×10^{-8}
<i>trans</i> -clopentixol	$< 1 \times 10^{-10}$

Frecuencia de emergencia de variantes seleccionados *in vitro* de *S. aureus* resistentes a 1 µg de ciprofloxacina por ml (dos veces la MIC para la cepa de *S. aureus*) ya sea en ausencia o en presencia de inhibidores.

Ejemplo 7. Efecto mejorador del *trans*-clopentixol en un modelo de peritonitis en ratones25 Bacterias

Se utilizó un aislado clínico de *Enterococcus faecalis* BG-029 de orina humana. Esta cepa fue resistente a ciprofloxacina; MIC, 4 µg/ml. La MIC de *trans*-clopentixol fue 6 µg/ml.

Valores de las MIC

Las MIC se determinaron por medio de ensayo de microdilución de acuerdo con las Directrices de NCCLS.

30 Animales

Se utilizaron ratones hembra NMRI (edad aproximadamente 6 a 8 semanas; peso 30 ± 2 g) para el modelo de peritonitis neumónica en ratones (como se describe más adelante).

Antibióticos

La ciprofloxacina se obtuvo de Bayer A/S, Lyngby, Dinamarca, como una solución para infusión; 2 mg/ml. El trans-clopetixol se obtuvo como una sustancia de referencia en polvo de British Pharmacopoeia Commission Laboratory, Middlesex, Reino Unido.

5 Estudios farmacocinéticos del trans-clopetixol en ratones

Los estudios farmacocinéticos se realizaron con ratones NMRI. Las concentraciones en los sueros se determinaron después de la administración de una dosis individual de 0,3 mg por ratón. El fármaco se administró por medio de una inyección subcutánea en la región del cuello en un volumen de 0,2 ml por dosis. A las 1, 2, 4, 6 y 24 horas después de la inyección, se obtuvieron muestras de sangre de los ratones en grupos de tres. Después de la recolección, la sangre se centrifugó y el suero se conservó a -80°C hasta que se analizó por medio de cromatografía de líquidos a alta presión.

Modelo de peritonitis en ratones

Las suspensiones bacterianas se prepararon a partir de cultivos durante toda la noche, recientes (hechos a partir de cultivos de soluciones madre congeladas) en placas de agar-agar con sangre al 5% como se describió anteriormente. El inóculo para el modelo de peritonitis en ratones se preparó inmediatamente antes del uso y se ajustó a 540 nm para proporcionar una densidad de aproximadamente 10^7 UFC/ml. El tamaño del inóculo se determinó mediante el recuento de viabilidad en agar-agar con sangre al 5%.

La neutropenia se introdujo por medio del tratamiento previo de los ratones con ciclofosfamida (6 mg al día durante 3 días). Los ratones fueron inyectados por vía intraperitoneal con 0,5 ml de suspensión de enterococos, dando como resultado la bacteremia en una hora desde la inoculación. La terapia con antibiótico se inició una hora después de la inoculación. La ciprofloxacina y el trans-clopetixol se administraron por vía subcutánea en la región del cuello en un volumen de 0,1 ml por dosis. En cada grupo de tratamiento se incluyeron cinco ratones. Los ratones de control sin tratamiento, inoculados se incluyeron en todas los ensayos. (Referencia del Método: Erlandsdottir et al.,; *Antimicrob Agents Chemother.* Abril de 2001; 45(4): 1078-85).

25 Tabla 8. Regímenes de tratamiento de ratones infectados

Grupo	Tratamiento
1. Control	ninguno
2. Ciprofloxacina sola	12,5 mg de ciprofloxacina por ratón
3. Trans-clopetixol solo	5 mg por kg de ratón
4. Trans-clopetixol y ciprofloxacina	5 mg por kg de ratón de trans-clopetixol seguido inmediatamente por 12,5 mg de ciprofloxacina por ratón

Los efectos de los diversos regímenes de tratamiento se determinaron durante 6 horas de tratamiento mediante la evaluación de recuentos bacterianos en el fluido peritoneal. Después de que los ratones fueros sacrificados, los lavados peritoneales se realizaron inyectando 2 ml de solución salina estéril por vía intraperitoneal, seguido por el masaje del abdomen y luego la apertura del peritoneo para recolectar el fluido. Los fluidos peritoneales se diluyeron inmediatamente 10 veces en solución salina, de la cual 2 μ l se colocaron en placas de agar-agar con sangre al 5% en manchas, con el recuento subsiguiente de colonias después de la incubación durante toda la noche a 35°C. Los niveles de detección más bajos para los recuentos bacterianos en sangre y fluido peritoneal fueron 50 y 250 UFC/ml, respectivamente.

Las eficacias bactericidas de los regímenes de tratamiento en los modelos de ratones se calcularon restando los resultados para cada ratón tratado de los resultados medios para los ratones de control al final de la terapia (6 h). Un valor *P* de <0,05 se consideró significativo. Todas las comparaciones estadísticas fueron de dos colas.

Resultados:

Fuerte mejora de la actividad del trans-clopetixol en el peritoneo de ratón.

La actividad bactericida de ciprofloxacina y trans-clopetixol, solos o en combinación, en el peritoneo de ratón se muestra en la Figura 3. Como se observa, la ciprofloxacina sola en una dosis sub-terapéutica no tuvo efecto sobre la infección y las bacterias resistentes no fueron erradicadas del peritoneo de los ratones. Pero cuando los ratones fueron tratados con ciprofloxacina y trans-clopetixol en combinación, las bacterias fueron erradicadas (*p* < 0,05). El trans-clopetixol (TC) solo no afectó a las bacterias de acuerdo con la dosis sub-terapéutica administrada. (Los valores en el suero de TC en ratones son menores que 300 ng/ml. Esto es muy inferior al valor de MIC 6 μ g de

TC/ml, como se observa en la Figura 4).

Ejemplo 8 - Efectos sinérgicos de derivados de tioxanteno sobre hongos

El efecto sinérgico de *trans*-clopentixol se analizó por medio de estudios de combinación de tablero de ajedrez que exponían células a 0-256 µg/ml de agente anti-infeccioso en ausencia o presencia de *trans*-clopentixol (0 a 8 µg/ml en diluciones de dos veces). Cada experimento se repitió por triplicado. Los valores de MIC representan los valores medios de dos experimentos separados.

Cepa fúngica:

Aislado clínico de *Candida albicans* resistente a fluconazol de un paciente con candidemia.

Agente antifúngico:

10 Fluconazol (Pfizer, Ballerup, Dinamarca)

Los aislados se sub-cultivaron durante 24 horas en agar-agar Sabouraud-glucosa antes del ensayo de susceptibilidad.

Los ensayos de microdilución en caldo se realizaron de acuerdo con el documento de NCCLS M27-A (Referencia: National Committee for Clinical Laboratory Standards. (1997). *Reference Method for Broth Dilution Antifúngica Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard M27-A*. NCLLS, Wayne, PA).

Las placas de microtitulación se leyeron de manera espectrofotométrica a 530 nm, después de mezclar los pocillos mediante el uso de pipeta con los sedimentos de levadura resuspendidos. La MIC se definió como la dilución de fármaco más baja que da como resultado 80% de inhibición del crecimiento para fluconazol. Se aplicaron los siguientes puntos críticos tentativos: susceptible a fluconazol (S), MIC ≥ 8 µg/ml; susceptible dependiente de la dosis (SDD), 8 µg/ml < MIC < 64 µg/ml; y resistente (R), MIC ≤ 64 µg/ml.

La concentración inhibitoria fraccional (FIC) se calculó para el agente anti-infeccioso solo y en combinación con *trans*-clopentixol. Para calcular el índice de FIC se utilizaron las siguientes fórmulas:

$$FIC = FIC_{\text{agente quimiosensibilizante}} + FIC_{\text{agente anti-infeccioso}}$$

donde:

$$25 \quad FIC_{\text{compuesto quimiosensibilizante}} = (MIC_{\text{compuesto quimiosensibilizante + agente anti-infeccioso}}) / (MIC_{\text{compuesto quimiosensibilizante}})$$

$$FIC_{\text{agente anti-infeccioso}} = (MIC_{\text{agente anti-infeccioso + compuesto quimiosensibilizante}}) / (MIC_{\text{agente anti-infeccioso}})$$

La sinergia se definió como el índice FIC de <0,5. El índice FIC calculado se muestra en la Tabla 9 siguiente

Tabla 9

Cepa fúngica	MIC µg/ml de Fluconazol (FL)	MIC µg/ml de Trans-clopentixol (TC)	MIC µg/ml de FL + TC (3 µg/ml)	Índice de FIC
<i>Candida albicans</i>	128	32	4	0,16

El índice de FIC para el *trans*-clopentixol muestra que este compuesto es fuertemente sinérgico en la promoción del efecto antifúngico de los agentes antifúngicos en las células resistentes a fármacos. Como se observa, el índice de FIC para los compuestos quimiosensibilizantes sometidos a ensayo en células resistentes a fármacos fue <0,05. Por tanto, el uso clínico de, por ejemplo, *trans*-clopentixol en combinación con un agente antifúngico cambiaría probablemente la MIC de este agente antifúngico para las células DR a un valor muy por debajo de la concentración clínicamente alcanzable, mostrando concentraciones eficaces a ≤3 µg/ml.

Ejemplo 9 - Efectos mejoradores de los derivados de tioxanteno sobre compuestos antivirales

La mejora del efecto del *trans*-clopentixol sobre agentes antivirales se analizó por medio de estudios de combinación de tablero de ajedrez que exponían las células infectas con VIH a 0-3 µM de agente antiviral en ausencia o en presencia de *trans*-clopentixol en concentraciones desde 0 hasta 6 µM. Cada experimento se repitió por triplicado. Los valores de MIC representan los valores medios de dos experimentos separados.

40

Métodos:

Virus y células

La cepa de VIH-1 HTLV-IIIB se propagó en células H9 a 37°C, CO₂ al 5% utilizando RPMI 1640 con suero bovino fetal inactivado térmicamente al 10% (FCS) y antibióticos (medio de crecimiento). El líquido sobrenadante del cultivo se filtró (0,45 nm), se tomaron partes alícuotas y se conservó a -80°C hasta su uso. La cepa de VIH-1 se obtuvo de NIH AIDS Research and Reference Program.

Compuestos

Fármaco antiviral: AZT (3'-azido-3'-desoxitimidina), Glaxo Wellcome.

Compuesto mejorador: el compuesto trans-clopentixol se obtuvo como una sustancia de referencia en polvo de British Pharmacopoeia Commission Laboratory, Middlesex Reino Unido.

Inhibición de la replicación del VIH-1

Los compuestos se examinaron por la posible actividad antiviral contra la cepa IIB de VIH-1 utilizando células MT4 como células dianas. Las células MT4 se incubaron con virus (multiplicidad de infección (MOI) 0,005) y medio de crecimiento que contenía las diluciones de ensayo del (los) compuesto(s) durante seis días en paralelo con cultivos infectados con virus y cultivos de control no infectados sin compuesto añadido. La expresión del VIH en los cultivos se cuantificó indirectamente utilizando el ensayo MTT como se describió previamente. Los compuestos que mediaban menos de 30% de reducción de la expresión de VIH se consideraron sin actividad biológica. Los compuestos se sometieron a ensayo en paralelo por el efecto citotóxico en cultivos de células MT4 no infectadas que contenían las diluciones de ensayo del compuesto como se describió anteriormente. Los cultivos para el ensayo tanto de la actividad antiviral como del efecto citotóxico se establecieron por triplicado, 200 ml por cultivo en placas de microtitulación. Una inhibición del 30% en el crecimiento celular con relación a los cultivos de control se consideró significativa.

La concentración inhibitoria del 50% se determinó por medio de la interpolación de los diagramas del porcentaje de inhibición contra concentración de compuesto.

El valor de la CE₅₀ se define como la concentración eficaz que inhibe 50% de la producción viral, 50% de la ineficacia viral o 50% del efecto citopático inducido por virus. El valor de la concentración crítica 50 (CC₅₀) se define como la concentración inhibitoria que reduce el crecimiento celular o viabilidad de células no infectadas en 50%.

Resultados

Como se observa en la Tabla 10, la combinación de *Trans*-clopentixol y AZT dio como resultado una mejora de 10 veces el efecto antiviral de AZT y de esta manera puede ser suficiente para inhibir las cepas virales resistentes. El *trans*-clopentixol solo no tuvo efecto viral o citotóxico a las concentraciones utilizadas.

Tabla 10: Mejoramiento del efecto de trans-clopentixol (TC) sobre un compuesto antiviral AZT (A). Concentraciones en µM. (véase el texto)

CE ₅₀ A	CC ₅₀ A	CE ₅₀ TC	CC ₅₀ TC	CE ₅₀ A+TC (1 µM)	CC ₅₀ A+TC (1 µM)
0.05	>3	>3	>3	0.01	>3

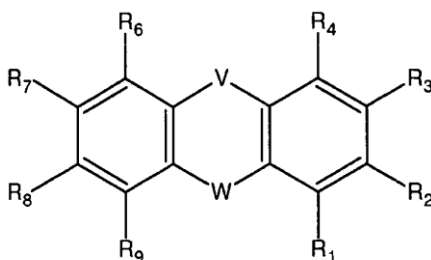
El valor CE₅₀ se define como la concentración eficaz que inhibe 50% de la producción viral, 50% de la ineficacia viral o 50% del efecto citopático inducido por virus.

El valor CC₅₀ se define como la concentración inhibitoria que reduce el crecimiento celular o viabilidad de células no infectadas en 50%.

Referencia del Método de ensayo viral: Petersen L, Jørgesen PT, Nielsen C, Hansen TH, Nielsen J, Pedersen EB, *Synthesis and Evaluation of Double-Prodrugs against HIV. Conjugation of D4T with 6-Benzyl-1-(ethoxymethyl)-5-isopropyluracil (MKC - 442, Emivirine) Type Reverse Transcriptase Inhibitors via the SATE. Prodrug Approach J. Med. Chem.* 2005, 48, 1211-1220.

REIVINDICACIONES

1. Uso de un compuesto de la fórmula general (I)

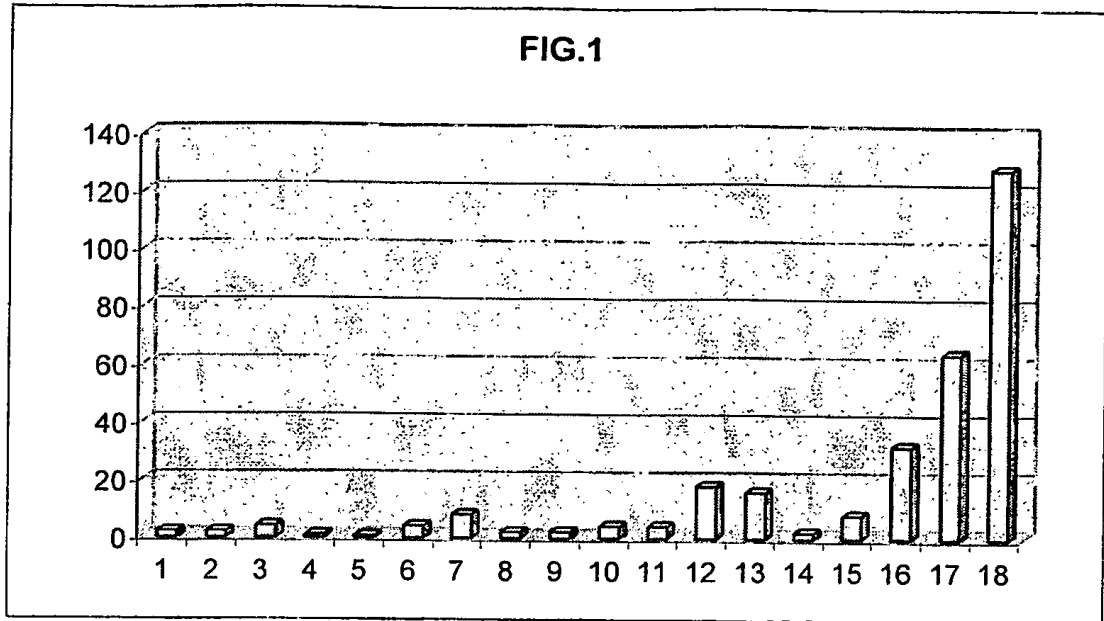


(I)

en donde:

- 5 V se selecciona del grupo que consiste de S, SO₂ y SO;
- W es C=CH-(CHX)_m-N(R₁₀)(R₁₁);
- m es un número entero en el intervalo de 1 a 5;
- cada X se selecciona individualmente del grupo que consiste de hidrógeno, halógeno, hidroxilo, amino, nitro, alquilo de C₁-C₆ y alcoxi de C₁-C₆;
- 10 R₂ se selecciona del grupo que consiste de F, Cl, Br, I, CH₂Y, CHY₂ y CY₃ en donde Y es un átomo de halógeno; cada uno de R₁, R₃, R₄, R₆, R₇, R₈ y R₉ se selecciona individualmente del grupo que consiste de hidrógeno, alquilo de C₁-C₆ y alcoxi de C₁-C₆;
- R₁₀ y R₁₁, junto con el átomo de nitrógeno al cual están unidos, forman un heteroarilo o heterociclilo que contiene nitrógeno;
- 15 o una de sus sales para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o profilaxis de una enfermedad infecciosa en combinación con un agente anti-infeccioso;
- en donde la enfermedad infecciosa es causada por un agente infeccioso seleccionado del grupo que consiste de virus, bacterias y hongos, siendo dicho agente infeccioso resistente a fármacos; y en donde el agente infeccioso no se selecciona del grupo que consiste de las cepas de *Staphylococcus aureus* SA-1199, SA-1199B, SA-K1712, SA-K1748, SA 8325-4 y SA-K2068.
- 20
2. El uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde R₂ se selecciona del grupo que consiste de F, Cl, CF₃ y CCl₃.
3. El uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde R₂ es Cl o CF₃.
4. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde R₁, R₃, R₄, R₆, R₇, R₈ y R₉ son hidrógeno.
- 25 5. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde V es S o SO.
6. El uso de acuerdo con la reivindicación 5, en donde V es S.
7. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde m es 2 o 3.
8. El uso de acuerdo con la reivindicación 7, en donde m es 2.
9. El uso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde W es C=CH-(CH₂)₂-N(R₁₀)(R₁₁) y R₁₀ y R₁₁ son como se ha definido en la reivindicación 1.
- 30 10. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde R₁₀ y R₁₁, junto con el átomo de nitrógeno al cual están unidos, forman un heterociclilo.
11. El uso de acuerdo con la reivindicación 10, en donde dicho heterociclilo se selecciona del grupo que consiste de 2-pirrolinilo, 3-pirrolinilo, pirrolidinilo, 2-imidazolinilo, imidazolidinilo, 2-pirazolinilo, 3-pirazolinilo, pirazolidinilo, piperidinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo y piperazinilo o piperazinilo sustituido en la posición *para*.
- 35 12. El uso de acuerdo con la reivindicación 11, en donde dicho heterociclilo es un piperidinilo o un piperazinilo.

13. El uso de acuerdo con la reivindicación 12, en donde dicho heterociclilo está un piperazinilo.
14. El uso de acuerdo con la reivindicación 13, en donde dicho piperazinilo está sustituido en la posición *para*.
15. El uso de acuerdo con la reivindicación 13 o 14, en donde dicho piperazinilo está sustituido por un grupo alquilo de C₁-C₆.
- 5 16. El uso de acuerdo con la reivindicación 15, en donde dicho grupo alquilo de C₁-C₆ se selecciona del grupo que consiste de -CH₃, -CH₂OH, -CH₂-CH₃ y -CH₂-CH₂OH.
17. El uso de acuerdo con la reivindicación 16, en donde dicho grupo alquilo de C₁-C₆ es -CH₃ o -CH₂-CH₂OH.
18. El uso de acuerdo con la reivindicación 17, en donde dicho grupo alquilo de C₁-C₆ es -CH₂-CH₂OH.
- 10 19. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 15-18, en donde dicho grupo alquilo de C₁-C₆ está en la posición *para*.
20. El uso de acuerdo con la reivindicación 13, en donde dicho piperazinilo no está sustituido.
21. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicho grupo C=CH-(CHX)_m-N(R₁₀)(R₁₁) está en la configuración *trans*.
- 15 22. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-19, en donde dicho compuesto se selecciona del grupo que consiste de *trans*-flupentixol, *cis*-flupentixol, *trans*-clopentixol y *cis*-clopentixol.
23. El uso de acuerdo con la reivindicación 22, en donde dicho compuesto es *trans*-flupentixol o *trans*-clopentixol.
24. El uso de acuerdo con la reivindicación 23, en donde dicho compuesto es *trans*-clopentixol.
25. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicho compuesto se administra diariamente de 1 a 10 veces, durante 1 día a 12 meses en dosis de 0,1 mg a 3 g por dosis.
- 20 26. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicho agente infeccioso es resistente a múltiples fármacos.
27. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto como el definido en cualquiera de las reivindicaciones 1-24 y un agente anti-infeccioso que es capaz de eliminar, inhibir o de otro modo disminuir el crecimiento de un agente infeccioso seleccionado del grupo que consiste de bacterias, virus y hongos; y al menos un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable; en donde la composición está en una forma seleccionada del grupo que consiste en comprimidos, cápsulas, píldoras, polvos, gránulos, emulsiones, geles incluyendo hidrogeles, pastas, ungüentos, cremas, emplastos, baños, dispositivos de suministro, supositorios, enemas, composiciones inyectables, implantes, pulverizaciones y aerosoles, siendo dicha composición útil para el tratamiento o profilaxis de una enfermedad infecciosa; en donde la enfermedad infecciosa es causada por un agente infeccioso seleccionado del grupo que consiste de bacterias, virus y hongos, siendo dicho agente infeccioso resistente a fármacos; y en donde dicho agente infeccioso no se selecciona del grupo que consiste de las cepas de *Staphylococcus aureus* SA-1199, SA-1199B, SA-K1712, SA-K1748, SA 8325-4 y SA-K2068.
- 25 30 30. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 27, en donde dicha composición está en una forma farmacéutica unitaria.
- 35 29. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 28, en donde dicha composición está en la forma de un comprimido.
30. Una composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 27 a 29, en donde el compuesto como se ha definido en cualquiera de las reivindicaciones 1-24 se selecciona del grupo que consiste de *trans*-clopentixol y *trans*-flupentixol.
- 40 31. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 30, en donde el compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-24 es *trans*-flupentixol.
- 45 32. Un kit que comprende una primera unidad de dosificación que comprende a su vez un compuesto como se ha definido en las reivindicaciones 1 a 24 y una unidad de dosificación adicional que comprende un agente antimicrobiano, siendo dicho kit para el tratamiento o profilaxis de una enfermedad infecciosa; en donde la enfermedad infecciosa es causada por un agente infeccioso seleccionado del grupo que consiste de bacterias, virus y hongos, siendo dicho agente infeccioso resistente a fármacos; y en donde dicho agente infeccioso no se selecciona del grupo que consiste de las cepas de *Staphylococcus aureus* SA-1199, SA-1199B, SA-K1712, SA-K1748, SA 8325-4 y SA-K2068.



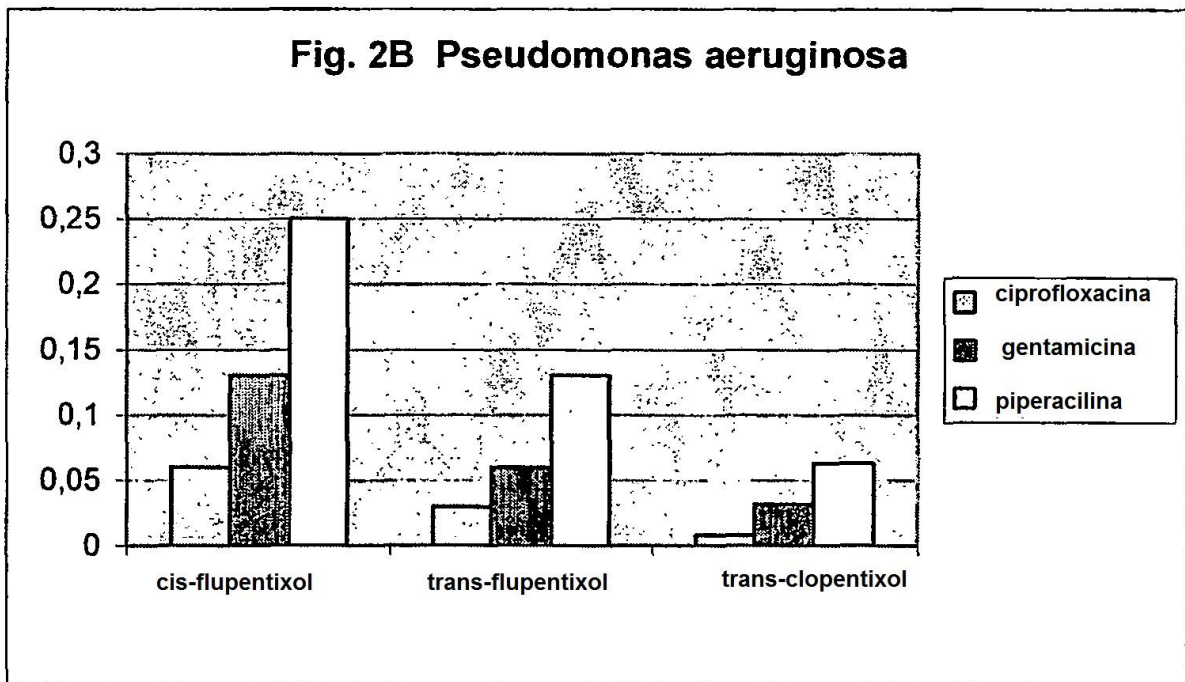
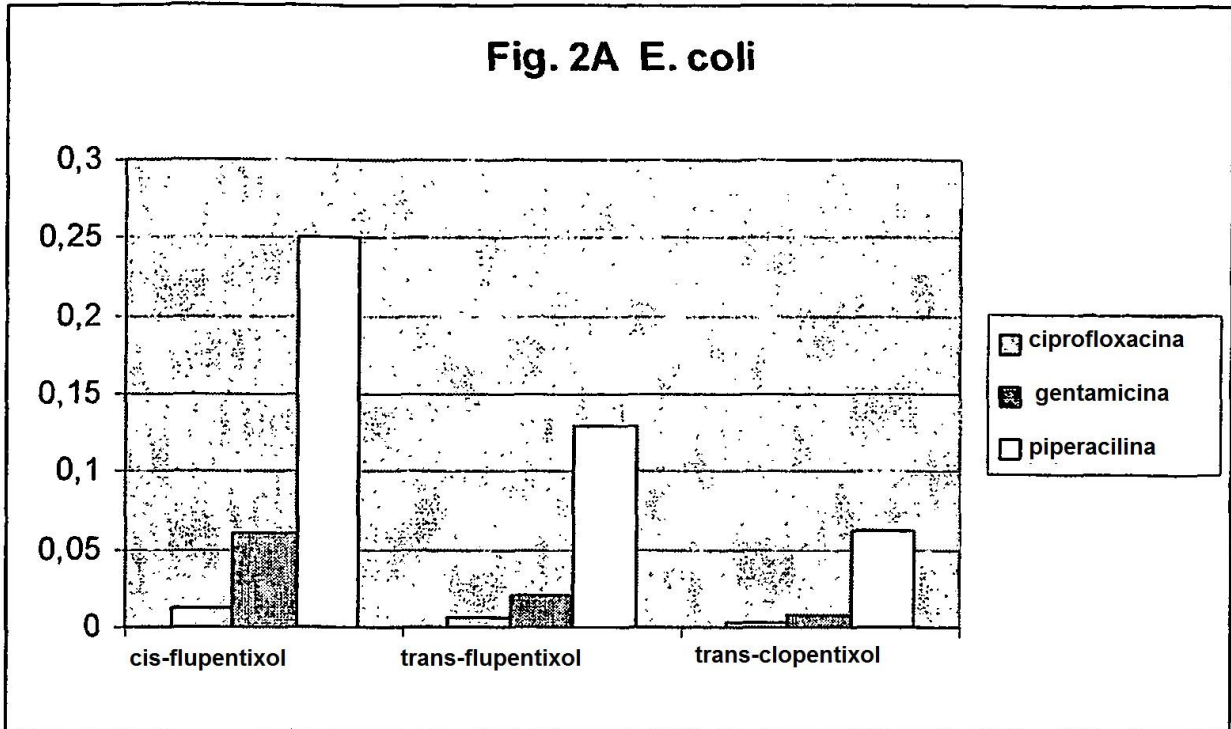
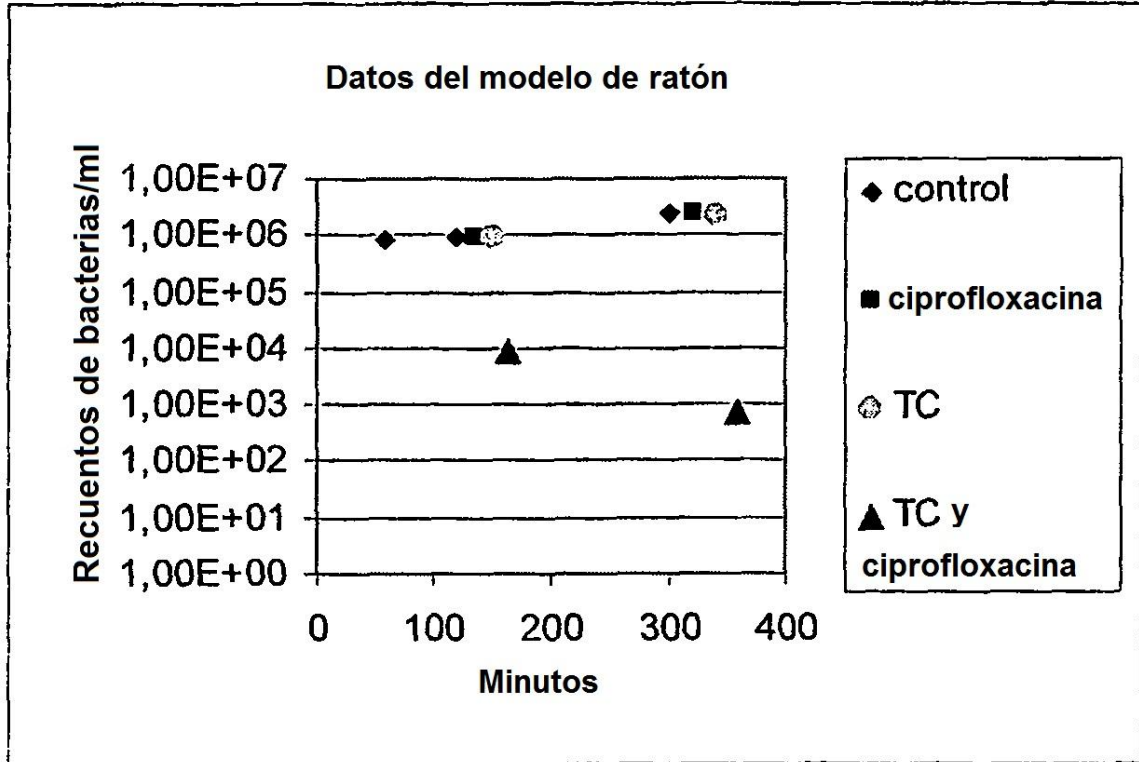


Figura 3



TC:trans-clopetixol

Figura 4

