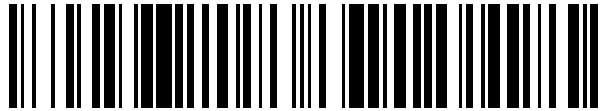


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 572 631**

51 Int. Cl.:

A61K 31/675 (2006.01)
A61P 31/18 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)
A61K 9/20 (2006.01)
A61K 9/48 (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01)
C07H 19/00 (2006.01)
A61K 31/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.01.2009 E 09704809 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.01.2016 EP 2254582**

54 Título: **Métodos de tratamiento de infecciones virales**

30 Prioridad:

25.01.2008 US 23633
01.10.2008 US 101810

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
01.06.2016

73 Titular/es:

CHIMERIX, INC. (100.0%)
2505 Meridian Parkway, Suite 340
Durham, NC 27713, US

72 Inventor/es:

LANIER, ERNEST RANDALL;
ALMOND, MERRICK R. y
PAINTER, GEORGE R.

74 Agente/Representante:

SUGRAÑES MOLINÉ, Pedro

ES 2 572 631 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

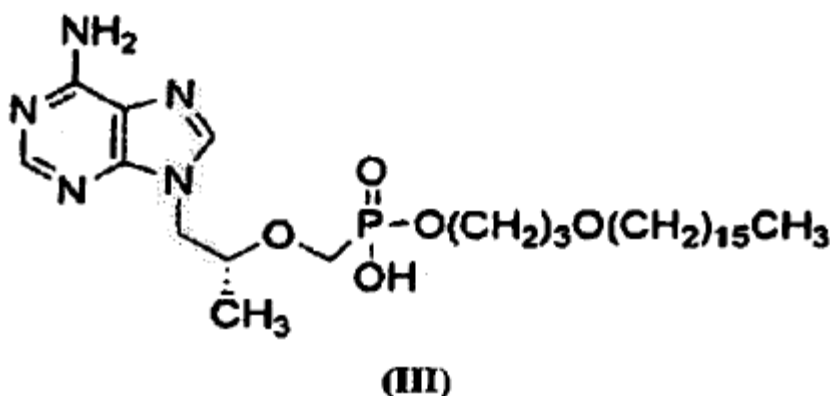
Métodos de tratamiento de infecciones virales

5 **Antecedentes de la invención**

El virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1 (VIH-1) codifica tres enzimas que son necesarias para la replicación viral: la transcriptasa inversa, la proteasa y la integrasa. La terapia de combinación con inhibidores de la proteasa e inhibidores de la transcriptasa inversa tiene un largo historial de tratamiento eficaz del VIH, y los inhibidores de la integrasa están empezando a hacer importantes contribuciones (véase Palella, *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 338, 853-860 (1998); Richman, *Nature*, 410, 995-1001(2001)). Sin embargo, la terapia falla con frecuencia debido al desarrollo de resistencia a los fármacos, al incumplimiento de las pautas de dosificación complicadas, a interacciones farmacocinéticas, a la toxicidad y/o a la falta de potencia. Por lo tanto, existe una necesidad continua de nuevas terapias que sean activas frente a cepas del VIH mutantes, que tengan menos efectos secundarios y que permitan esquemas de dosificación más simples.

15 **Sumario de la invención**

De acuerdo con la invención, se proporciona un compuesto antiviral de Fórmula III:



20 en combinación con al menos un agente activo antiviral adicional seleccionado del grupo que consiste en lamivudina, zalcitabina, emtricitabina, delavirdina, efavirinez, etravirina, amprenavir, atazanavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir, ritonavir, tipranavir y maraviroc, para su uso en un método de tratamiento de un sujeto con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), en el que el sujeto no ha recibido previamente un agente activo antiviral para dicho VIH, método que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad del compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, un diastereómero, un enantiómero o un racemato del mismo, eficaz para tratar la infección por VIH e inhibir el desarrollo de resistencia hacia dicho compuesto en el sujeto.

30 El sujeto puede estar infectado además por el VHB, y dicho compuesto antiviral y al menos un agente activo antiviral adicional se administran en una cantidad eficaz para tratar tanto dicho VHB como dicho VIH.

35 Preferentemente, se proporciona un compuesto antiviral de Fórmula III en combinación con al menos un agente activo antiviral adicional seleccionado del grupo que consiste en lamivudina, zalcitabina, emtricitabina, delavirdina, efavirinez, etravirina, amprenavir, atazanavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir, ritonavir, tipranavir y maraviroc, para su uso en un método de tratamiento de un sujeto con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), en el que dicho sujeto ha desarrollado resistencia o una respuesta tóxica hacia al menos otro compuesto antiviral como respuesta a la administración previa de dicho al menos otro compuesto antiviral a dicho sujeto contra dicha infección por VIH, método que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad del compuesto de Fórmula III, o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, un diastereómero, un enantiómero o un racemato del mismo, eficaz para tratar la infección por VIH e inhibir el desarrollo de resistencia hacia dicho compuesto en dicho sujeto.

40 El sujeto puede estar infectado además por el VHB, y dicho compuesto antiviral se administra en una cantidad eficaz para tratar tanto dicho VHB como dicho VIH.

45 De acuerdo con la invención, también se proporciona una composición farmacéutica que consiste en:

- (a) un primer compuesto antiviral de Fórmula III como se define en la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable, o un estereoisómero, un diastereómero, un enantiómero o un racemato del mismo;
- 50 (b) uno o más agentes activos antivirales adicionales seleccionados del grupo que consiste en lamivudina,

zalcitabina, emtricitabina, delavirdina, efavirinez, etravirina, amprenavir, atazanavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir, ritonavir, tipranavir y maraviroc; y
(c) un vehículo farmacéuticamente aceptable.

5 Preferentemente,

- (i) la composición está en forma de dosificación unitaria; y/o
- (ii) la composición está en forma de administración oral.

10 En el presente documento, se proporciona un compuesto antiviral de Fórmula III y uno o más agentes activos
antivirales seleccionados del grupo que consiste en lamivudina, zalcitabina, emtricitabina, delavirdina, efavirinez,
etravirina, amprenavir, atazanavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir, ritonavir, tipranavir y maraviroc, para su uso en un
método de inhibición de la transmisión sexual del VIH, método que comprende aplicar tópicamente en la piel o en el
tejido epitelial de un ser humano una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende el
15 compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, un diastereómero, un enantiómero o un
racemato del mismo.

Convenientemente,

- 20 (i) la composición se aplica por vía intravaginal, intrarrectal o en los genitales masculinos externos; y/o
- (ii) la composición está en forma de crema, loción, gel o espuma, o en forma de una píldora intravaginal, una
píldora intrarrectal o un supositorio; y/o
- (iii) la composición se puede aplicar por vía tópica mediante su liberación desde un dispositivo intravaginal
seleccionado entre un anillo vaginal, una esponja vaginal, un diafragma o un capuchón cervical; o la composición
25 se aplica por vía tópica desde la superficie exterior de un preservativo o un aplicador vaginal; y/o
- (iv) la composición comprende además un viracida eficaz contra infecciones virales distintas del VIH; un
espermicida; y/o una combinación de ambos; y/o
- (v) la composición comprende además un lubricante.

30 También se proporciona de acuerdo con la invención una composición tópica en forma de una crema, una loción, un
gel o una espuma que comprende un compuesto antiviral de Fórmula III, o una sal farmacéuticamente aceptable, un
estereoisómero, un diastereómero, un enantiómero o un racemato del mismo, en la que:

- 35 (i) la composición comprende además uno o más agentes anti-HIV adicionales; o
- (ii) la composición comprende además un viracida eficaz contra infecciones virales distintas del VIH; o
- (iii) la composición comprende además un espermicida; o
- (iv) la composición comprende además un lubricante; o
- (v) la composición comprende además uno o más agentes activos antivirales adicionales seleccionados del
grupo que consiste en lamivudina, zalcitabina, emtricitabina, delavirdina, efavirinez, etravirina, amprenavir,
40 atazanavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir, ritonavir, tipranavir y maraviroc.

También se proporciona de acuerdo con la invención un dispositivo para inhibir la transmisión sexual del VIH que
comprende: a) una estructura de barrera para insertarla en la cavidad vaginal y b) una composición que comprende
un compuesto antiviral de Fórmula III como se define en la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable,
45 un estereoisómero, un diastereómero, un enantiómero o un racemato del mismo, y uno o más agentes activos
antivirales adicionales seleccionados del grupo que consiste en lamivudina, zalcitabina, emtricitabina, delavirdina,
efavirinez, etravirina, amprenavir, atazanavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir, ritonavir, tipranavir y maraviroc.

Preferentemente,

- 50 (i) la estructura de barrera es una esponja vaginal, un diafragma, un capuchón cervical o un preservativo; y/o
- (ii) el dispositivo comprende además agentes anti-VIH adicionales, un viracida eficaz contra infecciones virales
distintas del VIH y/o un espermicida.

55 También se describe en el presente documento el descubrimiento de que los compuestos activos descritos en el
presente documento se asocian o se unen directamente a virus tales como el VIH, haciendo posible la liberación de
los compuestos activos en compartimentos celulares o tisulares (a veces denominados "compartimentos
privilegiados") a los que, de otro modo, los compuestos activos no tienen acceso, y volviendo los compuestos activos
útiles como microbicidas para inhibir la transmisión (por ejemplo, profilácticamente) de virus tales como el VIH.

60 **Breve descripción de las figuras**

La **Figura 1** muestra con fines comparativos la respuesta virológica hacia el tenofovir en pacientes previamente
tratados con antirretrovirales a las 24 semanas.

65 La **Figura 2** muestra la eficacia *in vitro* del tenofovir (TFV), en comparación con el HDP-TFV (CMX157).

La **Figura 3** muestra la eficacia *in vitro* del TFV en comparación con el HDP-TFV (CMX157), esta vez, con las

Cl₅₀ para HDP-TFV multiplicadas por 100 para el escalado.

Descripción detallada

5 Los anteriores y otros aspectos de la presente invención se describirán ahora en más detalle con respecto a la descripción y a las metodologías proporcionadas en el presente documento. Se debe apreciar que la invención puede ser realizada de diferentes formas, y que no debe interpretarse como limitada a las realizaciones expuestas en el presente documento. Más bien, estas realizaciones se proporcionan para que la presente divulgación sea minuciosa y completa, y transmita de manera completa el alcance de la invención a los expertos en la materia.

10 Como se usa en la descripción y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un", "una", "uno", "el" y "la" pretenden incluir las formas en plural, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Además, como se usa en el presente documento, "y/o" se refiere a y abarca todas y cada una de las combinaciones posibles de uno o más de los elementos enumerados asociados. Además, el término "aproximadamente", como se usa en el presente documento, cuando hace referencia a un valor medible tal como una cantidad de un compuesto, una dosis, tiempo, temperatura, y similares, pretende abarcar variaciones del 20 %, 10 %, 5 %, 1 %, 0,5 % o incluso 0,1 % de la cantidad especificada. Se entenderá además que los términos "comprende" y/o "que comprende", cuando se usan en la presente memoria descriptiva, especifican la presencia de características, números enteros, etapas, operaciones, elementos y/o componentes expuestos, pero no excluye la presencia ni la adición de una o más características, números enteros, etapas, operaciones, elementos, componentes y/o grupos de los mismos. A menos que se defina lo contrario, todos los términos, incluyendo los términos técnicos y científicos usados en la descripción, tienen el mismo significado comúnmente entendido por un experto habitual en la materia a la que pertenece la presente invención.

25 En caso de conflicto en la terminología, prevalece la presente memoria descriptiva.

Como se usa en el presente documento, "alquilo" se refiere a un hidrocarburo de cadena lineal o ramificada que contiene de 1 a 30 átomos de carbono. En algunas realizaciones, el grupo alquilo contiene de 2 a 25, de 2 a 24, de 1 a 10 o de 1 a 8 átomos de carbono. En algunas realizaciones, el grupo alquilo contiene de 1 a 6 átomos de carbono. 30 En algunas realizaciones, el grupo alquilo contiene de 1 a 4 átomos de carbono. En otras realizaciones más, el grupo alquilo contiene de 1 a 5 átomos de carbono y, en otras realizaciones más, el grupo alquilo contiene de 1 a 4 o de 1 a 3 átomos de carbono. Los ejemplos representativos de alquilo incluyen, pero sin limitación, metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, iso-butilo, terc-butilo, n-pentilo, isopentilo, neopentilo, n-hexilo, 3-metilhexilo, 2,2-dimetilpentilo, 2,3-dimetilpentilo, n-heptilo, n-octilo, n-nonilo, n-decilo, y similares. Ejemplos adicionales o 35 sustituyentes aplicables en general se ilustran mediante las realizaciones específicas mostradas en los ejemplos que se describen en el presente documento.

Como se usa en el presente documento, "alquenilo" se refiere a un hidrocarburo de cadena lineal o ramificada que contiene de 2 a 30 átomos de carbono y que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono formado por la eliminación de dos átomos de hidrógeno. En algunas realizaciones, el grupo alquenilo contiene de 2 a 25, de 2 a 24, de 2 a 10, de 2 a 8 átomos de carbono. En algunas realizaciones, el grupo alquenilo contiene de 2 a 6 átomos de carbono. En otras realizaciones más, los grupos alquenilo contienen de 2 a 5 átomos de carbono, y en otras realizaciones más, los grupos alquenilo contienen de 2 a 4 o de 2 a 3 átomos de carbono. Los ejemplos representativos de "alquenilo" incluyen, pero sin limitación, etenilo, 2-propenilo, 2-metil-2-propenilo, 3-butenilo, 4-pentenilo, 5-hexenilo, 2-heptenilo, 2-metil-1-heptenilo, 3-decenilo y similares. Ejemplos adicionales o sustituyentes aplicables en general se ilustran mediante las realizaciones específicas mostradas en los ejemplos que se describen en el presente documento.

Como se usa en el presente documento, "alquinilo", se refiere a un grupo hidrocarburo de cadena lineal o ramificada que contiene de 2 a 30 átomos de carbono y que contiene al menos un triple enlace carbono-carbono. En algunas realizaciones, el grupo alquinilo contiene de 2 a 25, de 2 a 24, de 2 a 10 o de 2 a 8 átomos de carbono. En algunas realizaciones, el grupo alquinilo contiene de 2 a 6 átomos de carbono. En otras realizaciones más, los grupos alquinilo contienen de 2 a 5 átomos de carbono y, en otras realizaciones más, los grupos alquinilo contienen de 2 a 4 o de 2 a 3 átomos de carbono. Los ejemplos representativos de alquinilo incluyen, pero sin limitación, etinilo, 1-propinilo, 2-propinilo, 3-butinilo, 2-pentinilo, 1-butinilo y similares. Ejemplos adicionales o sustituyentes aplicables en general se ilustran mediante las realizaciones específicas mostradas en los ejemplos que se describen en el presente documento.

Como se usa en el presente documento, el término "alcoxi" se refiere a un grupo alquilo, como se ha definido previamente, unido al resto molecular precursor a través de un átomo de oxígeno. En algunas realizaciones, el grupo alquilo contiene de 1 a 30 átomos de carbono. En otra realización, el grupo alquilo contiene de 1 a 20, de 1 a 10 o de 1 a 5 átomos de carbono. En algunas realizaciones, el grupo alcoxilo contiene de 1 a 8 átomos de carbono. En algunas realizaciones, el grupo alcoxilo contiene de 1 a 6 átomos de carbono. En algunas realizaciones, el grupo alcoxilo contiene de 1 a 4 átomos de carbono. En otras realizaciones más, el grupo alcoxilo contiene de 1 a 5 átomos de carbono y, en otras realizaciones más, el grupo alcoxilo contiene de 1 a 4 o de 1 a 3 átomos de carbono. Los ejemplos representativos de alcoxilo incluyen, pero sin limitación, metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, n-butoxi,

terc-butoxi y n-pentoxi. Ejemplos adicionales o sustituyentes aplicables en general se ilustran mediante las realizaciones específicas mostradas en los ejemplos que se describen en el presente documento.

5 Como se usa en el presente documento, "resto de aminoácido" se refiere a un compuesto que consiste en un átomo de carbono que está unido a un grupo amino primario (-NH₂), un grupo ácido carboxílico (-COOH), una cadena lateral y un átomo de hidrógeno. Por ejemplo, el término "aminoácido" incluye, pero sin limitación, glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, serina, treonina, ácido aspártico y ácido glutámico. En la Fórmula I o la, cuando R₂ es -NR'H, y R' es un resto de aminoácido, N está unido al átomo de carbono como una cadena lateral. Además, como se usa en el presente documento, "aminoácido" también incluye derivados de aminoácidos tales como ésteres y amidas, y sales, así como otros derivados, incluyendo derivados que tienen propiedades farmacológicas sobre el metabolismo hacia una forma activa. Ejemplos adicionales o sustituyentes aplicables en general se ilustran mediante las realizaciones específicas mostradas en los ejemplos que se describen en el presente documento.

15 Como se usa en el presente documento, "cicloalquilo" se refiere a un grupo hidrocarburo cíclico o bicíclico saturado monovalente de 3 a 12 átomos de carbono derivados de un cicloalcano mediante la eliminación de un solo átomo de hidrógeno. En algunas realizaciones, cicloalquilo contiene de 3 a 8 átomos de carbono. En algunas realizaciones, cicloalquilo contiene de 3 a 6 átomos de carbono. Los grupos cicloalquilo pueden estar opcionalmente sustituidos con sustituyentes alquilo, alcoxi, halo o hidroxilo. Los ejemplos representativos de cicloalquilo incluyen, pero sin limitación, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y ciclooctilo. Los ejemplos adicionales de sustituyentes generalmente aplicables se ilustran mediante las realizaciones específicas mostradas en los ejemplos que se describen en el presente documento.

25 Como se usa en el presente documento, "heteroalquilo", "heteroalquenilo" o "heteroalquinilo" se refieren a grupos alquilo, alquenilo o alquinilo que contienen uno o más átomos de oxígeno, azufre, nitrógeno, fósforo o silicio, por ejemplo, en lugar de átomos de carbono. En algunas realizaciones, el grupo heteroalquilo contiene de 1 a 8 átomos de carbono. En ciertas realizaciones, los grupos heteroalquenilo y heteroalquinilo contienen, de manera independiente, de 2 a 8 átomos de carbono. En otras realizaciones más, heteroalquilo, heteroalquenilo y heteroalquinilo contienen, de manera independiente, de 2 a 5 átomos de carbono y, en otras realizaciones más, heteroalquilo, heteroalquenilo y heteroalquinilo contienen, de manera independiente, de 2 a 4 o de 2 a 3 átomos de carbono.

35 Los términos "heterociclo" o "heterociclilo" representan un anillo saturado o insaturado de 3, 4, 5, 6, 7 u 8 miembros, que contiene uno, dos o tres heteroátomos seleccionados, de manera independiente, del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre. En algunas realizaciones, el heterociclo contiene 3, 4, 5 o 6 átomos de carbono. Los heterociclilos representativos incluyen, pero sin limitación, furanilo, tiofenilo, pirrolilo, piperidinilo, 1,4-dioxanilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, pirrolidinilo, oxazolilo, tiazolilo, imidazolilo, pirazolilo, pirazolinilo, isoxazolilo, isotiazolilo y piperazinilo.

40 Como se usa en el presente documento, el término "halógeno" se refiere a flúor (F), cloro (Cl), bromo (Br) o yodo (I), y el término "halo" se refiere a los radicales halógeno: fluoro (-F), cloro (-Cl), bromo (- Br) y yodo (-I).

45 Como se usa en el presente documento, el término "haloalquilo" se refiere a un grupo alquilo de cadena lineal o ramificada como se define en el presente documento, que contiene al menos un átomo de carbono sustituido con al menos un grupo halo, siendo halo como se ha definido en el presente documento. En algunas realizaciones, el haloalquilo contiene de 1 a 30 átomos de carbono. En algunas realizaciones, el haloalquilo contiene de 1 a 8 o de 1 a 6 átomos de carbono. En otras realizaciones, el haloalquilo contiene de 1 a 4 átomos de carbono. Los ejemplos adicionales o los sustituyentes aplicables en general se ilustran mediante las realizaciones específicas mostradas en los ejemplos que se describen en el presente documento.

50 Como se usa en el presente documento, el término "arilo" se refiere a un sistema anular carbocíclico monocíclico o un sistema anular condensado carbocíclico bicíclico que tiene uno o más anillos aromáticos. Los ejemplos representativos de arilo incluyen azuleno, indano, indeno, naftilo, fenilo, tetrahidronaftilo, y similares. El término "arilo" pretende incluir arilo tanto sustituido como no sustituido a menos que se indique lo contrario. Por ejemplo, un grupo arilo puede estar sustituido con uno o más heteroátomos (por ejemplo, oxígeno, azufre y/o nitrógeno). Los ejemplos adicionales o los sustituyentes aplicables en general se ilustran mediante las realizaciones específicas mostradas en los ejemplos que se describen en el presente documento.

60 Los sujetos que se tratarán mediante los métodos de la divulgación son, en general, mamíferos y primates (por ejemplo, ser humano, mono, simio, chimpancé). Los sujetos pueden ser varones o mujeres, y pueden ser de cualquier edad, incluso sujetos prenatales (es decir, en el útero), neonatales, bebés, niños, adolescentes, adultos y geriátricos. Así pues, en algunos casos, los sujetos pueden ser mujeres embarazadas. El tratamiento puede ser para cualquier propósito, incluyendo el tratamiento terapéutico de sujetos previamente infectados, así como el tratamiento profiláctico de sujetos no infectados (por ejemplo, sujetos identificados como de alto riesgo de infección).

65 Como se usa en el presente documento, "virus de la inmunodeficiencia humana" (o "VIH") como se usa en el presente documento pretende incluir todos los subtipos del mismo, incluyendo los subtipos del VIH A, B, C, D, E, F,

G y O, y el VIH-2.

Como se usa en el presente documento, "virus de la hepatitis B" (o "VHB") como se usa en el presente documento pretende incluir todos los subtipos (adw, adr, ayw y ayr) y/o genotipos (A, B, C, D, E, F, G y H) de los mismos.

Como se usa en el presente documento, "resistente a múltiples nucleósidos" o "resistencia multi-nucleosídica", como se usa en el presente documento, se refiere a patrones genotípicos o fenotípicos que predicen o indican una reducción de la eficacia para la mayoría o todos los inhibidores nucleósidos o nucleótidos de la transcriptasa inversa. Los ejemplos genotípicos incluyen el complejo Q151M, el complejo T69SXX y múltiples mutaciones asociadas con análogos de timidina. Los ejemplos fenotípicos incluyen patrones en los que unos pocos o ningún NRTI se ensayan como "sensibles".

Como se usa en el presente documento, "respuesta tóxica" como se usa en el presente documento puede ser cualquier respuesta tóxica perjudicial y/o no deseada a un tratamiento con un agente antiviral, incluyendo, pero sin limitación, náuseas, vómitos, sarpullido, diarrea, nefrotoxicidad, toxicidad mitocondrial, etc., y combinaciones de las mismas.

Como se usa en el presente documento, una "cantidad terapéuticamente eficaz" o "una cantidad eficaz" se refiere a una cantidad que proporcionará cierto alivio, mitigación y/o reducción en al menos un síntoma clínico en el sujeto. Los expertos en la materia apreciarán que no es necesario que los efectos terapéuticos sean completos o curativos, siempre y cuando se proporcione algún beneficio en el sujeto.

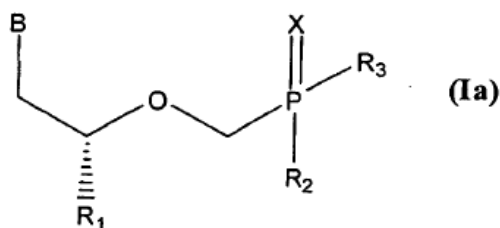
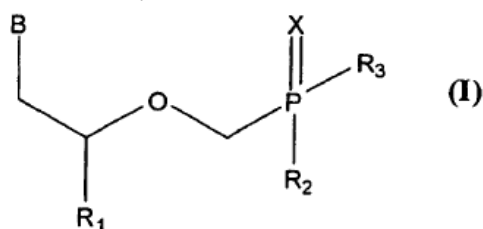
A menos que se establezca lo contrario, las estructuras representadas en el presente documento también pretenden incluir todas las formas isoméricas (por ejemplo, enantioméricas, diastereoméricas y geométricas (o configuracionales)) de la estructura, por ejemplo, las configuraciones *R* y *S* para cada centro asimétrico, isómeros de doble enlace (*Z*) y (*E*), e isómeros configuracionales (*Z*) y (*E*). Por lo tanto, en el presente documento, se desvelan los isómeros estereoquímicos simples, así como las mezclas enantioméricas, diastereoméricas y geométricas (o configuracionales) de los presentes compuestos y todas las formas tautoméricas.

Como se usan en el presente documento, los términos "tratamiento", "tratar" y "tratando" se refieren a invertir, aliviar, retrasar la aparición de, o inhibir el progreso de una enfermedad o de un trastorno según lo descrito en el presente documento. En algunas realizaciones, el tratamiento se puede administrar una vez que se hayan desarrollado uno o más síntomas. En otras realizaciones, el tratamiento se puede administrar en ausencia de síntomas. Por ejemplo, el tratamiento se puede administrar a un individuo susceptible antes de que aparezcan los síntomas (por ejemplo, a la luz del historial de los síntomas y/o a la luz de los factores genéticos o de otra susceptibilidad). El tratamiento también se puede continuar una vez resueltos los síntomas, por ejemplo, para prevenir o retrasar su recurrencia.

Los compuestos activos se pueden administrar opcionalmente en combinación con otros compuestos activos y/o agentes útiles en el tratamiento de las infecciones virales según lo descrito en el presente documento. El resto de compuestos se puede administrar opcionalmente simultáneamente. Como se usa en el presente documento, el término "simultáneamente" significa lo suficientemente cercano en el tiempo para producir un efecto combinado (es decir, simultáneamente puede ser a la vez, o puede tratarse de dos o más hechos que se producen en un breve período de tiempo antes o después entre sí).

A. Compuestos activos

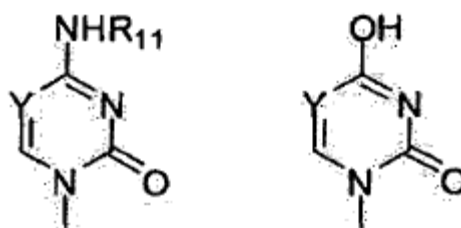
En el presente documento, se describen compuestos antivirales de **Fórmula I** (y **Formula Ia**), o una sal farmacéuticamente aceptable, o un estereoisómero, un diastereómero, un enantiómero o racemato de los mismos:



en las que:

- 5 B es una base de purina o de pirimidina, incluyendo, pero sin limitación: adenina, 6-cloropurina, xantina, hipoxantina, guanina, 8-bromoguanina, 8-cloroguanina, 8-aminoguanina, 8-hidrazinoguanina, 8-hidroxiguanina, 8-metil-guanina, 8-tioguanina, 2-aminopurina, 2,6-diaminopurina, timina, citosina, 5-fluorocitosina, uracilo; 5-bromouracilo, 5-yodouracilo, 5-etiluracilo, 5-etiniluracilo, 5-propiniluracilo, 5-propiluracilo, 5-viniluracilo, 5-bromoviniluracilo;
- 10 R₁ es H, metilo, etilo, -CH₂OH, -CH₂CH₂OH, -CH(OH)CH₃ o haloalquilo C₁₋₆;
- R₂ es fluoro, hidroxilo, -OR_{2a}, -BH₃, alquilo C_{1-C8}, alquenilo C₂₋₈, alquinilo C₂₋₈, heteroalquilo C₁₋₈, heteroalquenilo C₂₋₈, heteroalquinilo C₂₋₈ o -NR'H;
- R_{2a} es alquilo C₁₋₈, alquenilo C₂₋₈, alquinilo C₂₋₈, heteroalquilo C₁₋₈, heteroalquenilo C₂₋₈, heteroalquinilo C₂₋₈, -P(=O)(OH)₂ o -P(=O)(OH)OP(=O)(OH)₂,
- 15 R' es alquilo C₁₋₈, alquenilo C₂₋₈, alquinilo C₂₋₈, heteroalquilo C₁₋₈, heteroalquinilo C₂₋₈, heteroalquenilo C₂₋₈, arilo C₆₋₁₀ o un resto de aminoácido,
- R₃ es -O(CH₂)_mO(CH₂)_nCH₃, donde m es de 2 a 5 (en algunas realizaciones, 2 o 3) y n es de 11 a 21 (en algunas realizaciones, 15 o 17); y
- 20 X es selenio, azufre u oxígeno (en algunas realizaciones, oxígeno).

Los ejemplos adicionales de la base B incluyen, pero sin limitación, los compuestos de la fórmula general:

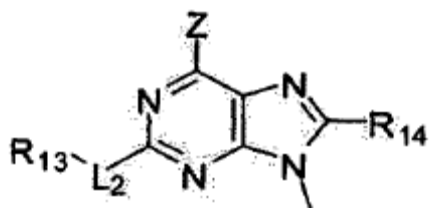


y

donde:

- 25 Y es N o CX;
- X se selecciona del grupo que consiste en H, halo, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, CN, CF₃, N₃, NO₂, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo C₆₋₁₀ y COR_b;
- 30 R_b se selecciona del grupo que consiste en H, OH, SH, alquilo C₁₋₆, aminoalquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ y tioalquilo C₁₋₆; y R₁₁ se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₆, alquinilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, arilo C₆₋₁₀ y carbonilo sustituido con un alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆ o arilo C₆₋₁₀. El ejemplo de B se describe además en la patente de EE.UU. n.º 6.583.149.

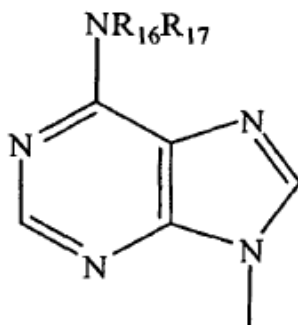
Los ejemplos adicionales de la base B incluyen, pero sin limitación, los compuestos de fórmula general:



donde:

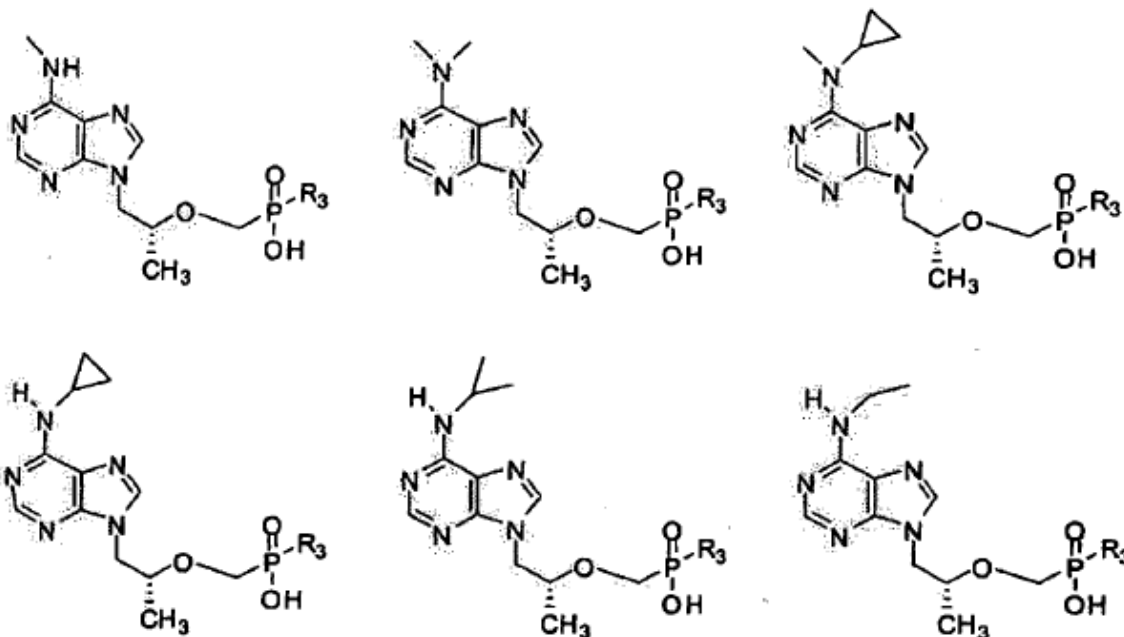
- Z es NH₂ o hidroxilo;
 5 L₂ es un enlace covalente (es decir, está ausente), -N(-R₁₅)-, N(-R₁₅)C(=O)-, -O-, -S-, -S(=O)- o es -S(=O)₂-,
 R₁₃ es H, alquilo C₁₋₆, heteroalquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, arilo C₆₋₁₀, arilalquilo C₇₋₁₆, carbociclilo C₃₋₁₀, heterociclilo
 C₆₋₁₀ o heterocicilalquilo C₇₋₁₆;
 R₁₄ es H, halo, hidroxilo, alcoxi, -O(CH₂)_xOC(=O)OR₁₅ o OC(=O)OR₁₅, en el que X es 2 o 3 a 10, 15 o 20; y R₁₅ es
 10 H, alquilo C₁₋₆, heteroalquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, arilo C₆₋₁₀, arilalquilo C₇₋₁₆, ciclilo C₃₋₁₀, heterociclilo C₆₋₁₀ o
 heterocicilalquilo C₇₋₁₆.

Los ejemplos adicionales de la base B incluyen, pero sin limitación, los compuestos de la fórmula general:

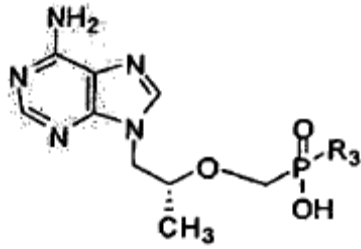


- R₁₆ y R₁₇ se seleccionan, de manera independiente, del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁₋₆ o cicloalquilo
 15 C₃₋₆, o N, R₁₆ y R₁₇ tomados conjuntamente para formar N₃, heterociclilo C₃₋₈, pudiendo estar cicloalquilo C₃₋₆ y
 heterociclilo C₃₋₈ opcionalmente sustituidos con uno o más alquilos C₁₋₅.

Los compuestos activos ilustrativos (análogos de tenofovir) útiles para llevar a cabo la presente invención incluyen, pero sin limitación:

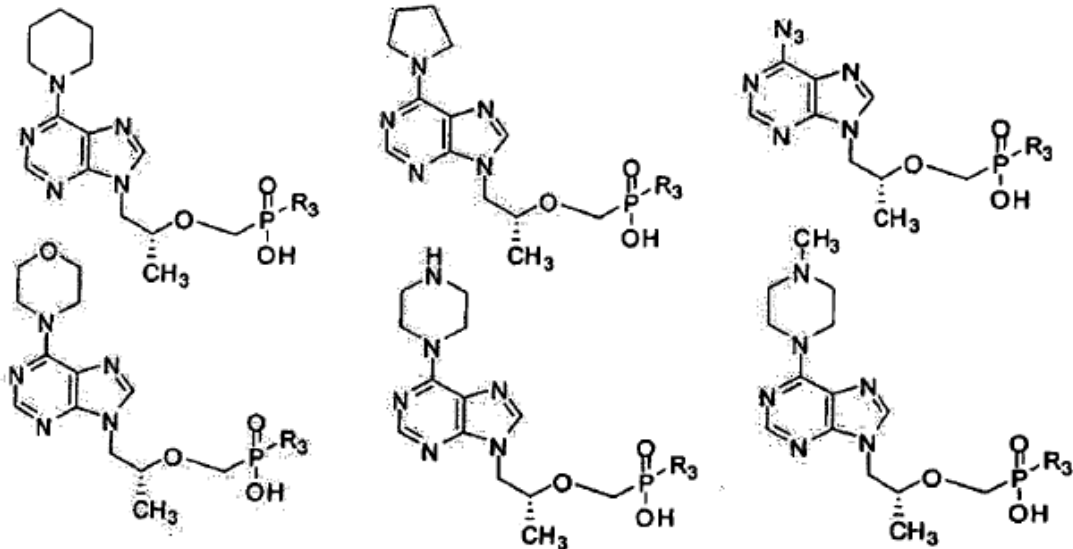


20

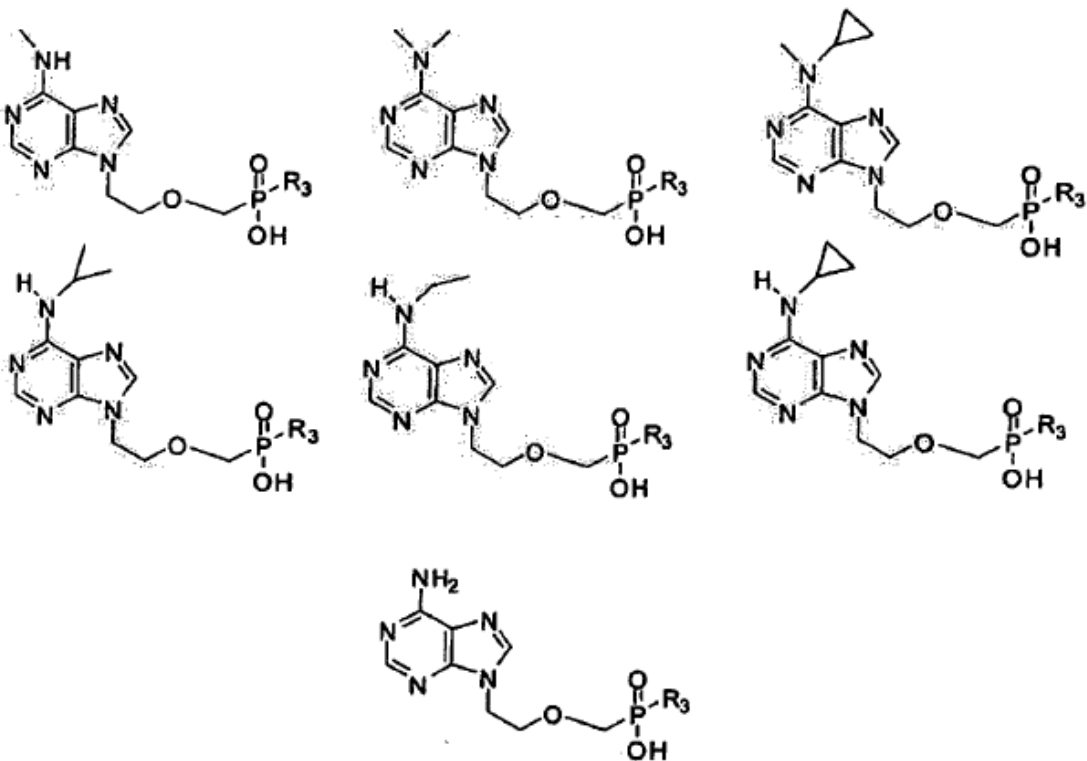


donde R_3 es: $O(CH_2)_2O(CH_2)_{17}CH_3$ o $O(CH_2)_3O(CH_2)_{15}CH_3$.

Otros ejemplos adicionales de compuestos activos (análogos de tenofovir) incluyen:

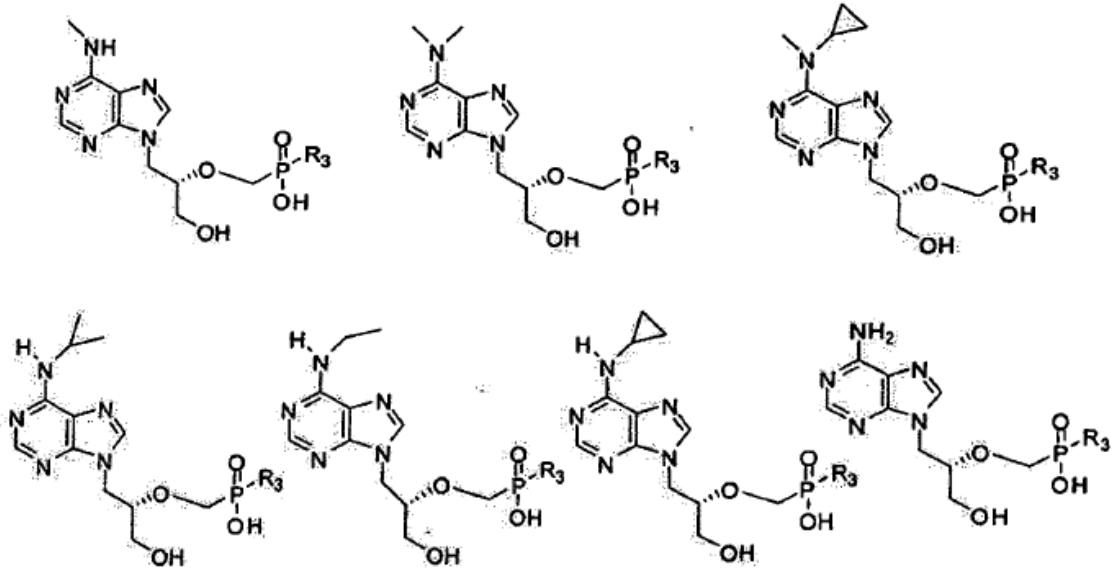


5 en las que R_3 es $O(CH_2)_2O(CH_2)_{17}CH_3$ o $O(CH_2)_3O(CH_2)_{15}CH_3$. Otros ejemplos adicionales de compuestos activos (análogos de adefovir) incluyen:



donde R_3 es: $O(CH_2)_2O(CH_2)_{17}CH_3$ o $O(CH_2)_3O(CH_2)_{15}CH_3$.

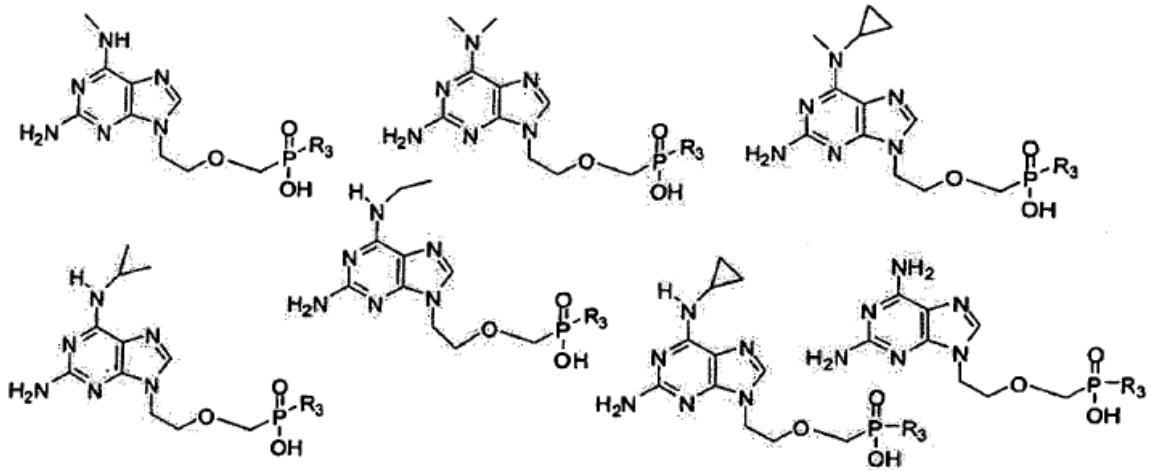
Otros ejemplos adicionales de compuestos activos (análogos de HPMPA) incluyen:



5

donde R_3 es: $O(CH_2)_2O(CH_2)_{17}CH_3$ o $O(CH_2)_3O(CH_2)_{15}CH_3$.

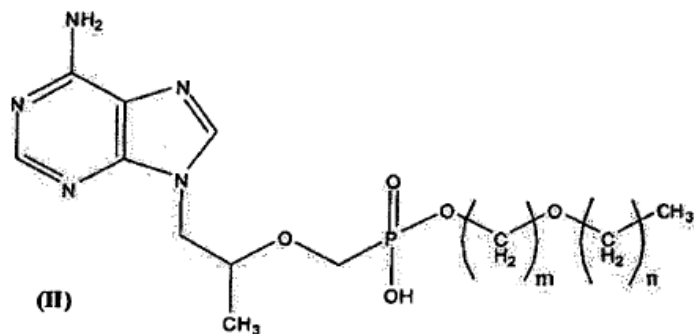
Otros ejemplos adicionales de compuestos activos (análogos de PMEG) incluyen



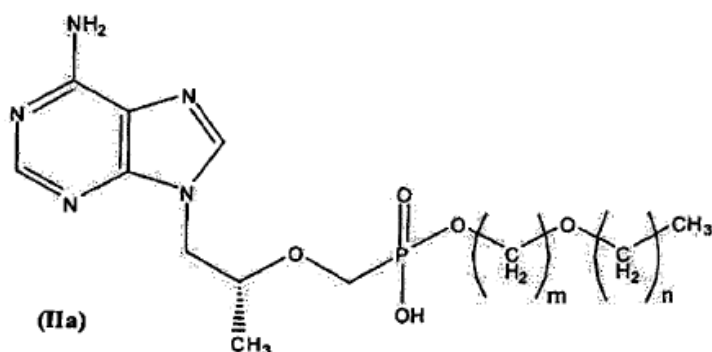
10

donde R_3 es: $O(CH_2)_2O(CH_2)_{17}CH_3$ o $O(CH_2)_3O(CH_2)_{15}CH_3$

En el presente documento, se describen conjugados de tenofovir lipídicos tales como los compuestos de Fórmula II (y de Fórmula IIa):

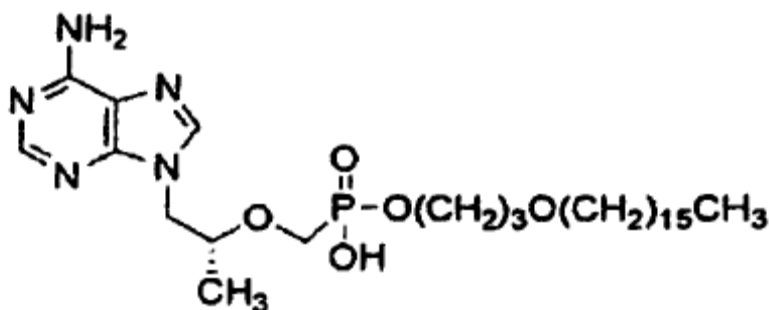


15



donde m es de 2 a 5 (en algunas realizaciones, 3) y n es de 11 a 21 (en algunas realizaciones, 15 o 17), o una sal farmacéuticamente aceptable, o un estereoisómero, un diastereómero, un enantiómero o racemato de los mismos.

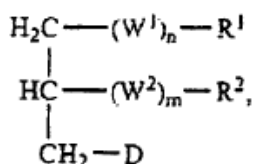
5 El compuesto para su uso en la invención es un compuesto de Fórmula III (también denominado CMX157 en el presente documento):



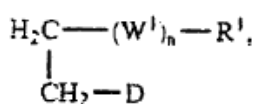
10 o una sal farmacéuticamente aceptable, o un estereoisómero, un diastereómero, un enantiómero o racemato de los mismos.

15 Dichos compuestos se conocen y se describen, por ejemplo, en G. Painter *et al.*, "Evaluation of Hexadecyloxypropyl-9-R-[2-(Phosphonomethoxy)Propyl]-Adenine, CMX157, as a Potential Treatment for Human Immunodeficiency Virus Type 1 and Hepatitis B Virus Infections, Antimicrobial Agents and Chemotherapy" 51, 3505-3509 (2007); patente de EE.UU. n.º 7.034.014 concedida a Hostetler y patente de EE.UU. n.º 6.716.825 concedida a Hostetler, y/o se pueden preparar mediante la modificación de técnicas conocidas incluyendo, pero sin limitación, las descritas en las solicitudes de patente PCT WO2005/79812 A1 (Anadys Pharmaceuticals) y WO2008/10921 A2 (Gilead).

20 Además de los compuestos descritos en relación con las **Fórmula I-III** anteriores, se puede usar una variedad de derivados lipídicos de fosfonatos de nucleótidos acíclicos tales como tenofovir como agentes activos en los métodos y en las composiciones proporcionados en el presente documento. En una realización, los agentes activos tienen las siguientes estructuras:

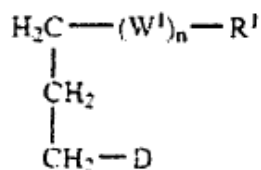


V

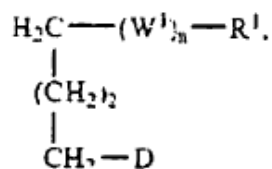


VI

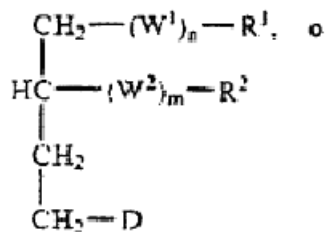
VII



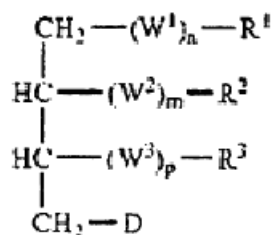
VIII



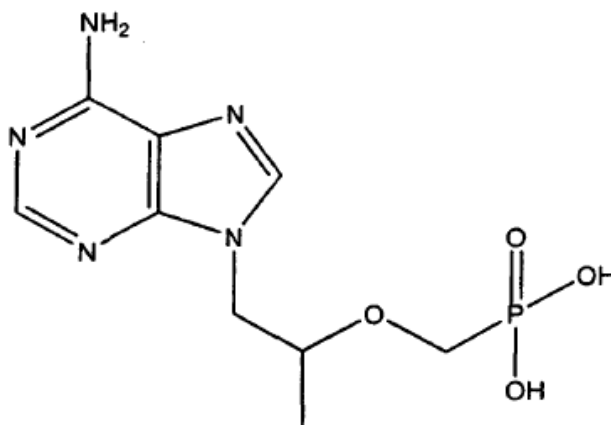
IX



X



- 5 en las que W^1 , W^2 y W^3 son cada uno, de manera independiente, -O-, -S-, -SO-, -SO₂-, -O(C=O)-, -(C=O)O-, -NH(C=O)-, -(C=O)NH- o -NH-; y, en una realización, son cada uno, de manera independiente, O, S, o -O(C=O)-; n es 0 o 1; m es 0 o 1; p es 0 o 1;
- 10 R^1 es alquilo, alquenilo o alquinilo sustituido opcionalmente, por ejemplo, alquilo C₁₋₃₀, alquenilo C₂₋₃₀ o alquinilo C₂₋₃₀; o en una realización, R^1 es alquilo C₈₋₃₀, alquenilo C₈₋₃₀ o alquinilo C₈₋₃₀ opcionalmente sustituidos, o R^1 es un alquilo C₈₋₂₄, alquenilo C₈₋₂₄ o alquinilo C₈₋₂₄ (por ejemplo, alquilo, alquenilo o alquinilo C₁₇, C₁₈, C₁₉, C₂₀, C₂₁, C₂₂, C₂₃ o C₂₄);
- R^2 y R^3 son cada uno, de manera independiente, un alquilo C₁₋₂₅, alquenilo C₂₋₂₅ o alquinilo C₂₋₂₅ opcionalmente sustituidos;
- D puede ser tenofovir enlazado directamente a un grupo metileno como se representa en las Fórmulas V-X, por ejemplo, D es un resto de fórmula:



(por ejemplo, Tenofovir está enlazado directamente al grupo metileno de Fórmula V-X mediante el grupo fosfonatohidroxilo).

5

En algunas realizaciones de las Fórmulas V-X:

W^1 , W^2 y W^3 son cada uno, de manera independiente, -O-, -S-, o -O(CO)-;

n es 0 o 1; m es 0 o 1; p es 0 o 1;

R^1 es alquilo o alquenilo C_{12-24} opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquilo o alquenilo C_{12} , C_{13} , C_{14} , C_{15} , C_{16} , C_{17} , C_{18} , C_{19} , C_{20} , C_{21} , C_{22} , C_{23} o C_{24});

R^2 y R^3 son cada uno, de manera independiente, alquilo C_{1-24} o alquenilo C_{2-24} o alquinilo C_{2-24} opcionalmente sustituidos.

D es tenofovir enlazado directamente a un grupo metileno como se representa en las Fórmulas V-X.

15

En otra realización, el compuesto activo tiene una de las siguientes estructuras: en las que R^1 es un alquilo C_{8-24} opcionalmente sustituido, por ejemplo, alquilo C_{12-24} , D es tenofovir enlazado directamente a un grupo metileno como se representa en las Fórmulas V-X.

20

Los compuestos activos desvelados en el presente documento, como se ha indicado anteriormente, se pueden proporcionar en forma de sus sales farmacéuticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptables son sales que conservan la actividad biológica deseada del compuesto precursor y no confieren efectos toxicológicos no deseados. Los ejemplos de dichas sales son (a) sales de adición de ácido formadas con ácidos inorgánicos, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido nítrico y similares; y sales formadas con ácidos orgánicos tales como, por ejemplo, ácido acético, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido succínico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido glucónico, ácido cítrico, ácido málico, ácido ascórbico, ácido benzoico, ácido tánico, ácido palmítico, ácido algínico, ácido poliglutámico, ácido naftalenosulfónico, ácido metanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido naftalenodisulfónico, ácido poligalacturónico, y similares; (b) sales formadas a partir de aniones elementales tales como cloro, bromo y yodo; y (c) sales derivadas de bases tales como sales de amonio, sales de metales alcalinos tales como las de litio, sodio y potasio, sales de metales alcalinotérreos tales como las de calcio y magnesio, y sales con bases orgánicas tales como dicitohexilamina y N-metil-D-glucamina.

25

30

Los compuestos activos descritos en el presente documento se pueden preparar de acuerdo con procedimientos conocidos o variaciones de los mismos que serán evidentes para los expertos en la materia. Véase, por ejemplo, Painter *et al.*, "Evaluation of Hexadecyloxypropyl-9-R-[2-(Phosphonmethoxy)Propyl]-Adenine, CMX157, as a Potential Treatment for Human Immunodeficiency Virus Type 1 and Hepatitis B Virus Infections, Amimicrobial Agents and Chemotherapy" 51, 3505 3509 (2007) y la publicación de solicitud de patente de EE.UU. n.º 2007/0003516, concedida a Almond *et al.*

40

B. Agentes/compuestos antivirales adicionales

Los agentes activos antivirales incluyen inhibidores de la proteasa del VIH, inhibidores nucleósidos de la transcriptasa inversa (incluyendo dicho término en el presente documento los inhibidores nucleótidos de la transcriptasa inversa), inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa inversa, inhibidores de la integrasa, inhibidores de la entrada, inhibidores de la fusión, inhibidores de la maduración y combinaciones de los mismos. Se conocen numerosos ejemplos y se describen en, por ejemplo, la publicación de solicitud de patente de Estados Unidos n.º 2006/0234982 concedida a Dahl *et al.* en la **Tabla A** de la misma, y en la **Tabla A** como se indica a continuación.

50

Ejemplos adicionales incluyen, pero sin limitación, el inhibidor de la integrasa Isentress o raltegravir (MK-0518: Merck), el inhibidor de CCR5 Maraviroc o Selzentry (y K-427857, Pfizer) y otros de estas clases.

5 En la patente de EE.UU. n.º 7.094.413, concedida a Buelow *et al.*; la patente de Estados Unidos n.º 7.250.421, concedida a Nair *et al.*, la publicación de solicitud de patente de EE.UU. n.º 2007/0265227, concedida a Heneine *et al* y la publicación de solicitud de patente de EE.UU. n.º 2007/0072831, concedida a Cai *et al*, se proporcionan ejemplos adicionales.

10 El inhibidor no nucleósido de la transcriptasa inversa ("NNRTI") 6-cloro-4-ciclopropiletinil-4-trifluorometil-1,4-dihidro-2H3,1-benzoxazin-2-ona, y las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, se describen en, por ejemplo, la patente de EE.UU. n.º 5.519.021. Por ejemplo, efavirenz.

15 El inhibidor nucleósido de la transcriptasa inversa ("NRTI") 2-hidroximetil-5-(5-fluorocitosin-1-il)-1,3-oxatiolano ("FTC") y las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, se describen en, por ejemplo, la patente de EE.UU. n.º 6.642.245, concedida a Liotta *et al.* Por ejemplo, emtricitabina.

20 Los inhibidores de la integrasa incluyen, pero sin limitación, los descritos en la publicación de la solicitud de patente de EE.UU. n.º 2007/0072831, documento WO 02/30426, documento WO 02/30930, documento WO 02/30931, documento WO 02/055079, documento WO 02/36734, patente de EE.UU. n.º 6.395.743; patente de EE.UU. n.º 6.245.806; patente de EE.UU. n.º 6.271.402; documento WO 00/039086; documento WO 00/075122; documento WO 99/62513; documento WO 99/62520; documento WO 01/00578; Jing, *et al.*, *Biochemistry*, 41, 5397-5403, (2002); Pais, *et al.*, *J. Med. Chem.*, 45, 3184-94 (2002); Goldgur, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.*, 96, 13040-13043 (1999); Espeseth, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.*, 97,11244-11249, (2000); documento WO 2005/016927, documento WO 2004/096807, documento WO 2004/035577, documento WO 2004/035576 y
25 documento US 2003/0055071.

TABLA A

5,6-dihidro-5-azacitidina
5-aza-2'desoxicitidina
5-azacitidina
2'-desoxiguanosina 5-il-carbocíclica (BMS200,475)
9-(arabinofuranosil)guanina; 9-(2'-desoxiribofuranosil)guanina
9-(2'-desoxi-2'fluororibofuranosil)-2,6-diaminopurina
9-(2'-desoxi-2'fluororibofuranosil)guanina
9-(2'-desoxirribofuranosil)-2,6-diaminopurina
9-(arabinofuranosil)-2,6-diaminopurina
Abacavir, Ziagen [®]
Aciclovir, ACV; 9-(2-hidroxietoximetil)guanina
Adefovir dipivoxilo, Hepsera [®]
amdoxivir, DAPD
Amprenavir, Agenerase [®]
araA: 9-β-D-arabinofuranosiladenina (Vidarabina)
Sulfato de atazanivir (Reyataz [®])
AZT; 3'-azido-2',3'-didesoxitimidina, Zidovudina, (Retrovir [®])
BHCG; (.+-.)-(1a,2b,3a)-9-[2,3-bis(hidroximetil)ciclobutil]guanina
BMS200,475; 2'-desoxiguanosina 5-il-carbocíclica
Buciclovir; (R)-9-(3,4-dihidroxibutil)guanina
BvaraU; 1-β-D-arabinofuranosil-E-5-(2-bromovinil)uracilo (Sorividina)
Calanolida A
Capravirina
CDG; 2'-desoxiguanosina carbocíclica
Cidofovir, HPMP; (S)-9-(3-hidroxi-2-fosfonilmetoxipropil)citosina
Clevudina, L-FMAU; 2'-Fluoro-5-metil-β-L-arabino-furanosiluracilo
Combivir [®] (lamivudina/zidovudina)
Citaleno; [1-(4'-hidroxi-1',2'-butadienil)citosina]
d4C; 3'-desoxi-2',3'-dideshidrocitidina
DAPD; dioxolano de (-)-β-D-2,6-diaminopurina
ddA; 2',3'-didesoxiadenosina
ddAPR; 2,6-diaminopurin-2',3'-didesoxirribósido
ddC; 2',3'-didesoxicitidina (Zalcitabina)
ddl; 2',3'-didesoxiinosina, didanosina, (Videx [®] , Videx [®] EC)
Delavirdina, Rescriptor [®]
Didanosina, ddl, Videx [®] ; 2',3'-didesoxiinosina
DXG; dioxolano guanosina
E-5-(2-bromovinil)-2'-desoxiuridina

Efavirenz, Sustiva®
 Enfuvirtida, Fuzeon®
 F-ara-A; fluoroarabinosiladenosina (Fludarabina)
 FDOC; (-)-β-D-5-fluoro-1-[2-(hidroximetil)-1,3-dioxolan]citosina
 FEAU; 2'-desoxi-2'-fluoro-1-β-D-arabinofuranosil-5-etiluracilo
 FIAC; 1-(2-desoxi-2-fluoro-β-D-arabinofuraosil)-5-yodocitosina
 FIAU; 1-(2-desoxi-2-fluoro-β-D-arabinofuranosil)-5-yodouridina
 FLG; 2',3'-didesoxi-3'-fluoroguanosina
 FLT; 3'-desoxi-3'-fluorotimidina
 Fludarabina; F-ara-A; fluoroarabinosiladenosina
 FMAU; 2'-Fluoro-5-metil-β-L-arabino-furanosiluracilo
 FMdC
 Foscarnet; ácido fosdonofórmico, PFA
 FPMPA; 9-(3-fluoro-2-fosfonilinetoxipropil)adenina
 Ganciclovir, GCV; 9-(1,3-dihidroxi-2-propoximetil)guanina
 GS-7340; 9-[R-2-[[[S]-[[[S]-1-(isopropoxycarbonil)etil]amino]-fenoxyfosfinil-metoxi]propil]adenina
 HPMPA; (S)-9-(3-hidroxi-2-fosfonilmetoxipropil)adenina
 HPMPC; (S)-9-(3-hidroxi-2-fosfonilinetoxipropil)citosina
 (Cidofovir)
 Hidroxiurea, Droxia®
 Indinavir, Crixivan®
 Kaletra® (lopinavir/ritonavir)
 Lamivudina, 3TC, EpiVir™; (2R, 5S, cis)-4-amino-1-(2-hidroximetil-1,3-oxatolano-5-il)-(1H)-
 pirimidin-2-ona
 L-d4C; L-3'-desoxi-2',3'-dideshidrocitidina
 L-ddC; L-2',3'-didesoxicitidina
 L-Fd4C; L-3'-desoxi-2',3'-dideshidro-5-fluorocitidina
 L-FddC; L-2',3'-didesoxi-5-fluorocitidina
 Lopinavir
 Nelfinavir, Viracept®
 Nevirapina, Viramune®
 Oxetanocina A; 9-(2-desoxi-2-hidroximetil-β-D-eritro-oxetanosil)adenina
 Oxetanocina G; 9-(2-desoxi-2-hidroximetil-β-D-eritro-oxetanosil)guanina
 Penciclovir
 PMEDAP; 9-(2-fosfonilmetoxietil)-2,6-diaminopurina
 PMPA, tenofovir; (R)-9-(2-fosfonilmetoxipropil)adenina
 PPA; ácido fosfonoacético
 Ribavirin; 1-β-D-ribofuranosil-1,2,4-triazol-3-carboxamida
 Ritonavir, Norvir®
 Saquinavir, Invirase®, Fortovase®
 Sorivudina, BvaraU; 1-β-D-arabinofuranosil-E-5-(2-bromovinil)uracilo
 Estavidina, d4T, Zerit®; 2',3'-dideshidro-3'-desoxitimidina
 Trifluorotimidina, TFT; Trifluorotimidina
 Trizivir® (sulfato de abacavir/lamivudina/zidovudina)
 Vidarabina, araA; 9-β-D-arabinofuranosiladenina
 Viread®, disoproxil-fumarato de tenofovir (DF), Bis POC PMPA, TDF;
 Ácido 2,4,6,8-tetraoxa-5-fosfanonadioico, 5-[[[(1R)-2-(6-amino-9H-purin-9-il)-1-metiletoxi]metil]-, bis(1-metiletil)éster, 5-óxido, (2E)-2-butenodioato
 (1:1)
 Zalcitabina, Hivid®, ddC; 2',3'-didesoxicitidina
 Zidovudina, AZT, Retrovir®; 3'-azido-2',3'-didesoxitimidina
 Zonavir; 5-propinil-1-ambinosiluracilo

C. Formulaciones farmacéuticas y administración

5 Los ejemplos de vehículos farmacéuticamente aceptables y métodos de fabricación de diversas composiciones incluyen, pero sin limitación, los descritos en "Remington's Pharmaceutical Sciences", 18ª Ed., Mack Publishing Co. (1990) (véase la solicitud de patente de EE.UU. n.º 2007/0072831).

10 Los compuestos de la invención y los que se describen en el presente documento pueden formularse con vehículos, diluyentes y excipientes convencionales, que se seleccionarán de acuerdo con la práctica habitual. Los comprimidos contendrán excipientes, deslizantes, cargas, aglutinantes, diluyentes y similares. Las formulaciones acuosas se preparan en forma estéril, y cuando se pretenden administrar por otra vía distinta a la oral, en general, serán isotónicas. Las formulaciones contienen opcionalmente excipientes tales como los expuestos en el "Handbook of Pharmaceutical Excipients" (1986), e incluyen ácido ascórbico y otros antioxidantes, agentes quelantes tales como

EDTA, hidratos de carbono tales como dextrina, hidroxialquilcelulosa, hidroxialquilmtilcelulosa, ácido esteárico y similares.

5 Los compuestos y sus sales fisiológicamente aceptables (denominados, de aquí en adelante, colectivamente los principios activos) se pueden administrar por cualquier vía apropiada para la afección que se vaya a tratar, incluyendo las vías adecuadas la oral, rectal, nasal, tópica (incluyendo ocular, bucal y sublingual), vaginal y parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa, intradérmica, intratecal y epidural). La vía de administración preferida puede variar con, por ejemplo, el estado del receptor.

10 Si bien los principios activos se pueden administrar solos, es preferible presentarlos como formulaciones farmacéuticas. Las formulaciones, tanto para un uso veterinario como para un uso en seres humanos, comprenden al menos un principio activo, como se ha definido anteriormente, junto con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables (excipientes, diluyentes, etc.) del mismo y, opcionalmente, otros ingredientes terapéuticos. El/los vehículo/s debe/n ser "aceptable/s" en el sentido de ser compatible/s con el resto de ingredientes de la formulación y no perjudiciales para el receptor de los mismos.

15 Las formulaciones incluyen las adecuadas para la administración oral, rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal y sublingual), vaginal o parenteral (incluyendo, subcutánea, intramuscular, intravenosa, intradérmica, intratecal y epidural). Las formulaciones pueden presentarse convenientemente en forma de dosificación unitaria y pueden prepararse mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica farmacéutica. Dichos métodos incluyen la etapa de asociar el principio activo con el vehículo que constituye uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan asociando uniforme e íntimamente el principio activo con vehículos líquidos o vehículos sólidos finamente divididos o ambos, y después, si es necesario, conformando producto.

20 Las formulaciones adecuadas para la administración oral pueden presentarse como unidades diferenciadas tales como cápsulas, sellos o comprimidos conteniendo cada uno una cantidad predeterminada del principio activo; en forma de un polvo o gránulos; en forma de solución o suspensión en un líquido acuoso o un líquido no acuoso; o en forma de emulsión líquida de aceite en agua o emulsión líquida de agua en aceite. El principio activo también puede presentarse en forma de bolo, electuario o pasta.

25 Se puede fabricar un comprimido por compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos por compresión se pueden preparar comprimiendo en una máquina adecuada el principio activo en forma suelta tal como un polvo o gránulos, opcionalmente mezclada con un aglutinante, lubricante, diluyente inerte, conservante, tensioactivo o agente dispersante. Los comprimidos moldeados se pueden fabricar moldeando en una máquina adecuada una mezcla del compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte. Los comprimidos opcionalmente se pueden recubrir o ranurar, y se pueden formular de manera que proporcionen una liberación lenta o controlada del principio activo en los mismos.

30 Para las infecciones oculares o de otros tejidos externos, por ejemplo, la boca y la piel, en algunas realizaciones, las formulaciones se aplican en forma de una pomada o crema tópica que contiene el/los principio/s activo/s en una cantidad del, por ejemplo, 0,075 al 20 % p/p (incluyendo principio/s activo/s en un intervalo de entre el 0,1 % y el 20 % en incrementos del 0,1 % p/p tal como del 0,6 % p/, 0,7 % p/p, etc.), en algunas realizaciones, del 0,2 al 15 % p/p y, en otras realizaciones, del 0,5 al 10 % p/p. Cuando se formulan en una pomada, los principios activos pueden emplearse con una base de pomada bien parafínica o miscible en agua. Como alternativa, los principios activos pueden formularse en una crema con una base de crema de aceite en agua.

35 Si se desea, la fase acuosa de la base de crema puede incluir, por ejemplo, al menos el 30 % p/p de un alcohol polihídrico, es decir, un alcohol que tiene dos o más grupos hidroxilo tales como propilenglicol, butano-1,3-diol, manitol, sorbitol, glicerol y polietilenglicol (incluyendo PEG400) y mezclas de los mismos. Las formulaciones tópicas pueden incluir deseablemente un compuesto que mejore la absorción o la penetración del principio activo a través de la piel u otras zonas afectadas. Los ejemplos de dichos potenciadores de la penetración dérmica incluyen dimetilsulfóxido y análogos relacionados.

40 La fase oleosa de las emulsiones puede estar constituida por ingredientes conocidos de una manera conocida. Aunque la fase puede comprender meramente un emulsionante (conocido de otra manera como emulgente), lo deseable es que comprenda una mezcla de al menos un emulsionante con una grasa o un aceite o tanto con una grasa como con un aceite. En algunas realizaciones, incluye un emulsionante hidrófilo junto con un emulsionante lipófilo que actúa como estabilizante. En algunas realizaciones, incluye tanto un aceite como una grasa. En conjunto, el/los emulsionante/s con o sin estabilizante/s constituyen la denominada cera emulsionante, y la cera junto con el aceite y la grasa constituyen la denominada base de pomada emulsionante que forma la fase dispersa oleosa de las formulaciones en crema.

45 Los emulgentes y estabilizantes de la emulsión que son adecuados para su uso en la formulación descrita en el presente documento incluyen Tween. TM.60, Span. TM. 80, alcohol cetoestearílico, alcohol bencílico, alcohol miristílico, monoestearato de glicerilo y laurilsulfato de sodio.

5 La elección de aceites o grasas adecuados para la formulación se basa en lograr las propiedades cosméticas
deseadas, ya que la solubilidad del compuesto activo en la mayoría de los aceites susceptibles de ser usados en las
formulaciones de emulsión farmacéuticas es muy baja. En algunas realizaciones, la crema ha de ser
preferentemente un producto no graso, que no manche y sea lavable con consistencia adecuada para evitar fugas
de los tubos u otros recipientes. Se pueden usar ésteres de alquilo mono- o dibásicos, de cadena lineal o ramificada,
tales como di-isoadipato, estearato de isocetilo, diéster de propilenglicol de ácidos grasos de coco, miristato de
isopropilo, oleato de decilo, palmitato de isopropilo, estearato de butilo, palmitato de 2-etilhexilo o una mezcla de
ésteres de cadena ramificada conocidos como Crodamol CAP, siendo los tres últimos los ésteres preferidos. Estos
se pueden usar solos o en combinación dependiendo de las propiedades requeridas. Como alternativa, se pueden
10 usar lípidos de alto punto de fusión tales como parafina blanda blanca y/o parafina líquida u otros aceites minerales.

15 Las formulaciones adecuadas para la administración tópica en el ojo también incluyen gotas para los ojos en las que
el principio activo se disuelve o suspende en un vehículo adecuado, especialmente un disolvente acuoso para el
principio activo. En algunas realizaciones, el principio activo está presente en dichas formulaciones a una
concentración del 0,5 al 20 %. En algunas realizaciones, el principio activo está presente a una concentración del 0,5
al 10 %. En algunas realizaciones, el principio activo está presente a una concentración del aproximadamente 1,5 %
p/p.

20 Las formulaciones adecuadas para la administración tópica en la boca incluyen pastillas que comprenden el principio
activo en una base aromatizada, normalmente sacarosa y goma arábiga o tragacanto; pastillas que comprenden el
principio activo en una base inerte tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y acacia; y enjuagues bucales que
comprenden el principio activo en un vehículo líquido adecuado.

25 Las formulaciones para la administración rectal pueden presentarse en forma de un supositorio con una base
adecuada que comprende, por ejemplo, manteca de cacao o un salicilato.

30 Las formulaciones adecuadas para la administración nasal en las que el vehículo es un sólido incluyen un polvo de
grano grueso que tiene un tamaño de partícula, por ejemplo, en el intervalo de 20 a 500 micrómetros (incluyendo
tamaños de partícula en un intervalo de entre 20 y 500 micrómetros en incrementos de 5 micrómetros tales como 30
micrómetros, 35 micrómetros, etc.), que se administra en forma de aspiración, es decir, por inhalación rápida a
través del conducto nasal desde un recipiente del polvo mantenido cerca de la nariz. Las formulaciones adecuadas
en las que el vehículo es un líquido, para la administración, por ejemplo, en forma de pulverizado nasal o de gotas
nasales incluyen soluciones acuosas u oleosas del principio activo. Las formulaciones adecuadas para la
administración en aerosol se pueden preparar de acuerdo con métodos convencionales y pueden administrarse con
35 otros agentes terapéuticos tales como la pentamidina para el tratamiento de la neumonía por *Pneumocystis*.

40 Las formulaciones adecuadas para la administración vaginal pueden presentarse como pesarios, anillos, tampones,
cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones de pulverización que contienen además del principio activo,
vehículos tales como los conocidos en la técnica por ser apropiados.

45 Las formulaciones adecuadas para la administración parenteral incluyen soluciones de inyección estériles acuosas y
no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que vuelven la formulación
isotónica con la sangre del receptor final; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes
de suspensión y agentes espesantes. Las formulaciones pueden presentarse en recipientes monodosis o multidosis,
por ejemplo, en ampollas selladas y viales, y pueden almacenarse en un estado criodesecado (liofilizado) que solo
requiere la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo, de agua para inyecciones, inmediatamente antes de su
uso. Las soluciones y suspensiones para inyección extemporáneas se pueden preparar a partir de polvos estériles,
gránulos y comprimidos del tipo descrito previamente. Las formulaciones de dosificación unitaria preferidas son las
que contienen una dosis diaria o subdosis diaria unitaria, como se ha indicado anteriormente, o una fracción
50 apropiada de la misma, de un principio activo.

55 Se ha de entender que, además de los ingredientes particularmente mencionados anteriormente, las formulaciones
pueden incluir otros agentes convencionales en la técnica que tienen en cuenta el tipo de formulación en cuestión,
por ejemplo, aquellos adecuados para la administración oral pueden incluir agentes aromatizantes.

60 La presente divulgación proporciona además composiciones veterinarias que comprenden al menos un principio
activo como se ha definido anteriormente junto con un vehículo veterinario. Los vehículos veterinarios son materiales
útiles para el propósito de administrar la composición y pueden ser materiales sólidos, líquidos o gaseosos que, en
cambio, sean inertes o aceptables en la técnica veterinaria y sean compatibles con el principio activo. Estas
composiciones veterinarias se pueden administrar oralmente, parenteralmente o por cualquier otra vía deseada.

65 Los compuestos de la invención se pueden usar para proporcionar formulaciones farmacéuticas de liberación
controlada que contienen como principio activo uno o más compuestos de la invención ("formulaciones de liberación
controlada") en las que se pueda controlar y regular la liberación del principio activo para permitir una dosificación
menos frecuente o para mejorar el perfil farmacocinético o de toxicidad de un compuesto de la invención dado. Las
formulaciones de liberación controlada adaptadas para la administración oral en la que se pueden preparar unidades

diferenciadas que comprenden uno o más compuestos de la invención se pueden preparar de acuerdo con métodos convencionales. Las formulaciones de liberación controlada se pueden emplear para el tratamiento o la profilaxis de diversas infecciones microbianas bacterianas, particularmente infecciones bacterianas en seres humanos, infecciones por protozoos parásitos en seres humanos o infecciones virales en seres humanos causadas por especies microbianas que incluyen *Plasmodium*, *Pneumocystis*, virus del herpes (CMV, HSV 1, HSV 2, VZV y similares), retrovirus, adenovirus y similares. Las formulaciones de liberación controlada se pueden usar para el tratamiento de infecciones por VIH y afecciones relacionadas tales como la tuberculosis, malaria, neumonía por *Pneumocystis*, retinitis por CMV, SIDA, complejo relacionado con el SIDA (ARC) y linfadenopatía generalizada progresiva (PGL), y afecciones neurológicas relacionadas con el SIDA tales como esclerosis múltiple y paraparesia espástica tropical. Otras infecciones retrovirales humanas que se pueden tratar con las formulaciones de liberación controlada incluyen infecciones por el virus linfotrópico humano de linfocitos T e infecciones por VIH-2.

Potenciadores farmacocinéticos. Los compuestos de la invención se pueden emplear en combinación con potenciadores farmacocinéticos (a veces también denominados "agentes de refuerzo").

Una cantidad eficaz de un potenciador mejora o "refuerza" la farmacocinética de un compuesto. Una cantidad eficaz de un potenciador, por ejemplo, la cantidad requerida para aumentar un compuesto activo o compuesto activo adicional es la cantidad necesaria para mejorar el perfil farmacocinético o la actividad del compuesto en comparación con su perfil cuando se usa solo. El compuesto posee un perfil farmacocinético más eficaz de lo que sería sin la adición del potenciador. La cantidad de potenciador farmacocinético usada para mejorar la potencia del compuesto es, preferentemente, subterapéutica (por ejemplo, dosis inferiores a la cantidad de agente de refuerzo usado convencionalmente para el tratamiento terapéutico de la infección en un paciente). Una dosis de potenciación para los compuestos es subterapéutica para tratar la infección, pero lo suficientemente alta como para efectuar la modulación del metabolismo de los compuestos, de manera que su exposición en un paciente es potenciada por el aumento de la biodisponibilidad, el aumento de los niveles en sangre, el aumento de la semivida, el aumento del tiempo hasta alcanzar la concentración máxima en plasma, la inhibición mayor/más rápida de la integrasa del VIH, RT o proteasa y/o la reducción del aclaramiento sistemático. Un ejemplo de potenciador farmacocinético es RITONAVIR™ (Abbott Laboratories).

Combinaciones. Las composiciones desveladas en el presente documento pueden incluir los compuestos activos descritos en el apartado A en combinación con uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3) agentes activos adicionales tales como los descritos en el apartado B anterior, de manera análoga como se conoce en la técnica. Por ejemplo, las combinaciones de efavirenz (un NRTI), emtricitabina (un NNRTI) y tenofovir DF (un NRTI) se describen en, por ejemplo, Dahl *et al.*, publicación de solicitud de patente de EE.UU. n.º 2007/0099902, concedida a Dahl *et al.* Los ejemplos específicos de dichas combinaciones incluyen, pero sin limitación: CMX157 o una sal farmacéuticamente aceptable, en combinación con:

- (a) FTC/Efavirenz;
- (b) 3TC/Efavirenz;
- (c) AZT/3TC;
- (d) FTC;
- (e) 3TC;
- (f) FTC/Isentress;
- (g) 3TC/Isentress;
- (h) PPL-100;
- (i) FTC/TMC278;
- (k) 3TC/TMC278;
- (l) FTC/TMC125 o
- (m) 3TC/TMC125.

D. Tratamiento de infecciones de compartimento privilegiado

Como se ha señalado anteriormente, también se ha encontrado que los agentes activos desvelados en el presente documento, sorprendentemente, se asocian o se unen a partículas virales. Dado que las partículas virales migran o se filtran en compartimentos celulares o tisulares que, normalmente, no son de acceso general para los agentes terapéuticos activos (creando así un "depósito" esencialmente sin tratamiento de la infección cuando se administran sistémicamente dichos agentes a los sujetos), este hallazgo posibilita (a) el tratamiento de la infección en dichos compartimentos privilegiados; y (b) el uso de agentes activos en tratamientos profilácticos o microbicidas (donde la asociación o unión del agente activo con el virus antes de que ocurra la infección tiene beneficio terapéutico).

En general, un compartimento privilegiado es un compartimento celular o tisular por el que dicho virus penetra *in vivo*, por el que dicho agente activo no penetra de manera eficaz *in vivo* en ausencia de dicho virus, y al que dicho agente activo es portado *in vivo* por dicho virus cuando dicho agente activo se une a dicho virus. Por ejemplo, cuando el compartimento privilegiado es un compartimento tisular, puede ser cerebro (sistema nervioso central), linfoide o testículos. Los ejemplos de compartimentos celulares privilegiados incluyen, pero sin limitación, células dendríticas, microglis, monocitos/macrófagos y combinaciones de los mismos. Las composiciones y los métodos de

tratamiento de infecciones de compartimientos privilegiados pueden prepararse y llevarse a cabo como se ha descrito anteriormente. Las composiciones profilácticas, los dispositivos y los métodos se describen en más detalle a continuación.

5 **E. Composiciones tópicas y métodos microbicidas**

En el presente documento, se describen composiciones tópicas que contienen los agentes activos descritos en el presente documento para inhibir o combatir las infecciones virales, por ejemplo, para un uso profiláctico. Dichas composiciones (con agentes activos distintos de los desvelados en el presente documento) son conocidas y se describen en, por ejemplo, la patente de EE.UU. n.º 6.545.007.

Dichas composiciones pueden adoptar varias formas. Por lo tanto, en una realización, la composición está en forma de crema, loción, gel o espuma que se aplica sobre la piel afectada o cavidad epitelial, y preferentemente, se extiende sobre toda la piel o superficie epitelial que se encuentra en riesgo de entrar en contacto con fluidos corporales. Dichas formulaciones, que son adecuadas para la administración vaginal o rectal, pueden estar presentes como suspensiones acuosas u oleosas, soluciones o emulsiones (formulaciones líquidas) que contienen, además del principio activo, vehículos tales como los conocidos en la técnica como apropiados. Para los lubricantes "independientes" (es decir, los lubricantes que no están envasados previamente con preservativos), se prefieren, en general, por diversas razones (tanto científicas como económicas) conocidas por los expertos en la materia, los geles y las formulaciones acuosas similares. Estas formulaciones son útiles para proteger no solo contra la transmisión sexual del VIH, sino también para prevenir la infección de un bebé durante el paso por el canal del parto. Así pues, la administración vaginal puede tener lugar antes de las relaciones sexuales, durante las relaciones sexuales e inmediatamente antes de dar a luz.

Un método de aplicación de un lubricante antiviral en los genitales, para los fines desvelados en el presente documento, consiste en extraer una pequeña cantidad (tal como una cucharada o varios mililitros) de un gel, crema, pomada, emulsión o formulación similar de un tubo de plástico o metálico, tarro o recipiente similar, o de un envase de plástico, metálico u otro envase cerrado herméticamente que contenga una sola dosis de dicha composición, y extender la composición por la superficie del pene inmediatamente antes de la relación sexual. Los métodos alternativos de aplicación incluyen: (1) difundir la composición por las superficies accesibles dentro de la vagina o del recto poco antes de la relación sexual; y (2) colocar un preservativo, diafragma o dispositivo similar, que haya sido recubierto de o puesto en contacto de otro modo con un lubricante antiviral, en el pene o dentro de la vagina. En una realización preferida, cualquiera de estos métodos de difusión de un lubricante antiviral por las superficies de los genitales hace que el lubricante recubra y permanezca en contacto con las superficies genitales y epiteliales durante la relación sexual.

En una realización, las composiciones se usan en combinación con preservativos para mejorar la eficacia de reducción del riesgo de los preservativos y proporcionar la máxima protección a los usuarios. La composición bien se puede usar para recubrir los preservativos durante su fabricación e introducirse en envases de plástico o de papel de aluminio herméticos convencionales que contengan un preservativo por envase, o puede ser aplicada manualmente por un usuario bien en el interior o en el exterior de un preservativo, inmediatamente antes de su uso.

Como se usa en el presente documento, "preservativo" se refiere a un dispositivo de barrera que se usa para proporcionar una barrera física impermeable entre los genitales del varón y de la mujer durante la relación sexual, y que se retira tras la relación sexual. Dicho término incluye los preservativos convencionales que cubren el pene; también incluye los denominados "preservativos femeninos" que se insertan en la cavidad vaginal antes de la relación sexual. El término "preservativo" no incluye diafragmas, capuchones cervicales ni otros dispositivos de barrera que solo cubren una parte de las membranas epiteliales dentro de la cavidad vaginal. Preferentemente, los preservativos deben ser de látex o de un material de plástico sintético tal como poliuretano, ya que éstos proporcionan un alto grado de protección contra los virus.

En otra realización, la composición está en forma de una píldora intravaginal, una píldora intrarrectal o un supositorio. El supositorio o la píldora se deben insertar en la cavidad vaginal o rectal de manera que permita que el supositorio o la píldora, a medida que se disuelve o se erosiona, recubra las paredes vaginales o rectales con una capa profiláctica del agente anti-VIH.

En otra realización más, la composición se aplica tópicamente mediante la liberación desde un dispositivo intravaginal. Los dispositivos tales como anillos vaginales, esponjas vaginales, diafragmas, capuchones cervicales, preservativos femeninos y similares se pueden adaptar fácilmente para liberar la composición en la cavidad vaginal tras su inserción.

Las composiciones usadas en los métodos de la presente divulgación también pueden comprender agentes adicionales activos tales como otro/s agente/s para prevenir la infección por VIH, y agentes que protegen a los individuos de la concepción y de otras enfermedades de transmisión sexual. Por lo tanto, en otra realización, las composiciones usadas comprenden además uno o más agentes adicionales contra el VIH, virucidas eficaces contra infecciones virales distintas del VIH y/o espermicidas.

- 5 En una realización particular, la composición contiene nonoxinol, un tensioactivo espermicida ampliamente usado. La composición resultante se podría considerar una composición "bifuncional", ya que tendría dos agentes activos que proporcionarían dos funciones distintas deseadas en un vehículo líquido relativamente inerte; el nonoxinol proporcionaría un agente anticonceptivo espermicida y el DABO proporcionaría propiedades antivirales. El nonoxinol tiende a causar algún nivel de irritación, en al menos algunos usuarios. Esto es lamentable, pero es un efecto secundario bien conocido de los tensioactivos espermicidas tales como el nonoxinol y el octoxinol, que atacan y destruyen las membranas de doble capa de los lípidos que rodean las células de esperma y otras células de mamíferos.
- 10 Las composiciones también pueden contener un lubricante que facilite la aplicación de la composición en las zonas deseadas de la piel y del tejido epitelial, y reduzca la fricción durante las relaciones sexuales. En el caso de una píldora o de un supositorio, el lubricante se puede aplicar en el exterior de la forma de dosificación para facilitar la inserción.
- 15 En otra realización más, se proporciona un dispositivo de inhibición de la transmisión sexual del VIH que comprende (a) una estructura de barrera para su inserción en la cavidad vaginal; y (b) una composición que comprende un agente activo según lo descrito en el presente documento. Como se ha mencionado anteriormente, los dispositivos preferidos que actúan como estructuras de barrera y que se pueden adaptar a la aplicación de agentes anti-VIH incluyen la esponja vaginal, el diafragma, el capuchón cervical o el preservativo (masculino o femenino).
- 20 Los métodos, las composiciones y los dispositivos descritos en el presente documento pueden adaptarse, en general, a la liberación del agente activo de una manera sensible al tiempo que se ajuste mejor al momento de la actividad sexual. Cuando se aplican tópicamente en forma de loción o de gel, las composiciones se aplican preferentemente inmediatamente antes de la actividad sexual. Otros modos de aplicación, tales como dispositivos y supositorios, se pueden diseñar para liberar el agente activo durante un período prolongado de tiempo, a una velocidad predeterminada, dependiendo de las necesidades del consumidor.
- 25 A continuación, se describirán la presente invención y la presente divulgación en más detalle con referencia a los siguientes ejemplos. Sin embargo, dichos ejemplos se dan a efectos ilustrativos, y no deben interpretarse como limitantes del alcance de la invención.
- 30

EJEMPLO 1

- 35 La **Figura 1** muestra, con fines comparativos, la respuesta virológica hacia el tenofovir en pacientes previamente tratados con antirretrovirales a las 24 semanas. Los datos son de M. Miller *et al.* *J Infect Dis.* 189: 837 (2004). La respuesta de la carga viral en la monoterapia con TDF en pacientes sin tratamiento previo es de $-1,5\log$ (Louie *et al.*, "Determining the antiviral activity of tenofovir disoproxil fumarate in treatment-naive chronically HIV-1-infected individuals", *AIDS*, 17, 1151 (2003)).
- 40 Las **Figuras 2-3** muestran la eficacia *in vitro* del tenofovir (TFV) en comparación con HDP-TFV (CMX157) en un ensayo con el VIH PHENOSENSE™ (servicio de Monogram Biosciences, Inc., 345 Oyster Point Blvd., South San Francisco, CA 94080-1913, EE.UU.). En la **Figura 3**, las CI_{50} para CMX157 se multiplican por 100 para realizar el escalado. Los resultados también se muestran en la siguiente **Tabla 1** (donde ABC es abacavir, FTC es emtricitabina, ddl es didanosina, 3TC es lamivudina, d4T es estavudina, TFV es tenofovir y ZDV es zidovudina).

45

TABLA 1: RESULTADOS DEL ENSAYO (Cl₅₀ mostrada en µM)

ID DEL PACIENTE	NOTAS	Resultados	ABC	CMX157	ddl	FTC	3TC	d4T	TFV	ZDV
PANEL 1	WT	Cl ₅₀ Veces de cambio	0,86	0,93	1,01	0,78	0,86	0,86	0,79	0,72
		Cl ₅₀	1,520000	0,001720	5,540000	0,890000	3,240000	0,510000	0,613000	0,020000
PANEL 2	WT	Cl ₅₀ Veces de cambio	0,94	0,87	1,01	1,38	1,18	0,81	0,85	0,61
		Cl ₅₀	1,670000	0,001610	5,570000	1,570000	4,440000	0,480000	0,652000	0,017000
PANEL 3	6 TAM, no 184	Cl ₅₀ Veces de cambio	4,43	4,58	1,59	5,02	3,70	3,66	3,47	350,00
		Cl ₅₀	7,870000	0,008500	8,760000	5,730000	13,930000	2,170000	2,674000	9,562000
PANEL 6	6 TAM + 184	Cl ₅₀ Veces de cambio	7,91	2,81	2,06	>87,6048	>79,7162	2,28	2,16	59,00
		Cl ₅₀	14,040000	0,005210	11,350000	>100	>300	1,350000	1,666000	1,610000
PANEL 7	184V	Cl ₅₀ Veces de cambio	2,69	0,73	1,38	>87,6048	>79,7162	0,77	0,69	0,63
		Cl ₅₀	4,780000	0,001360	7,570000	>100	>300	0,460000	0,534000	0,017000
PANEL 9	69ins, no 184	Cl ₅₀ Veces de cambio	18,00	31,00	4,04	26,0C	12,00	11,00	22,0C	>915,7073
		Cl ₅₀	32,650000	0,057430	22,210000	29,600000	45,880000	6,390000	16,959000	>25
PANEL 12	69ins + 184	Cl ₅₀ Veces de cambio	26,00	6,06	4,43	>87,6048	>79,7162	11,00	4,72	319,00
		Cl ₅₀	46,540000	0,011230	24,330000	>100	>300	6,790000	3,641000	8,711000

ID DEL PACIENTE	NOTAS	Resultado									
		ABC	CMX157	ddl	FTC	3TC	d4T	TFV	ZDV		
PANEL 14	65R, no 184	Cl ₅₀ Veces de cambio	3,20	1,94	1,67	17,00	19,00	1,30	1,71	0,44	
		Cl ₅₀	5,690000	0,003600	9,170000	19,330000	70,840000	0,770000	1,319000	0,012000	
PANEL 15	65R + 184V	Cl ₅₀ Veces de cambio	6,64	1,46	2,61	>87,6048	>79,7162	0,99	1,22	0,41	
		Cl ₅₀	11,780000	0,002710	14,330000	>10C	>300	0,590000	0,940000	0,01100C	
PANEL 17	L74V	Cl ₅₀ Veces de cambio	1,89	0,66	1,63	1,87	1,85	1,01	0,62	0,41	
		Cl ₅₀	3,360000	0,001230	8,940000	2,140000	6,980000	0,600000	0,476000	0,011000	
PANEL 19	L74V + M184V	Cl ₅₀ Veces de cambio	5,21	0,36	2,01	>87,6048	>79,7162	0,71	0,29	0,22	
		Cl ₅₀	9,240000	0,000660	11,060000	>100	>300	0,420000	0,227000	0,006000	
PANEL 26	151M, no 184	Cl ₅₀ Veces de cambio	19,00	1,99	12,00	30,00	24,00	9,33	2,26	93,00	
		Cl ₅₀	34,310000	0,003680	63,250000	34,730000	89,620000	5,540000	1,739000	2,545000	
PANEL 28	151M + 184	Cl ₅₀ Veces de cambio	>29,2959	1,64	11,00	>87,6048	>79,7162	7,10	1,43	153,00	
		Cl ₅₀	>52	0,003050	58,040000	>100	>300	4,220000	1,102000	4,17900C	
PANEL 29	L74V -SDM	Cl ₅₀ Veces de cambio	1,85	0,80	1,48	1,47	1,62	1,07	0,69	0,50	
		Cl ₅₀	3,290000	0,001480	8,14000C	1,680000	6,100000	0,630000	0,535000	0,014000	

ID DEL PACIENTE	NOTAS	Resultados	ABC	CMX157	ddl	FTC	3TC	d4T	TFV	ZDV
PANEL 30	M184V-SDM	Cl ₅₀ Veces de cambio	2,64	0,62	1,23	>87,6048	>79,7162	0,68	0,54	0,34
		Cl ₅₀	4,680000	0,001150	6,76000C	>10C	>300	0,400000	0,413000	0,009000
PANEL	K65R - SDM	Cl ₅₀ Veces de cambio	2,57	2,55	2,00	11,00	12,00	1,40	2,01	0,51
		Cl ₅₀	4,560000	0,004730	11,02000C	12,90000C	43,330000	0,830000	1,551000	0,014000
PANEL 33	T215Y	Cl ₅₀ Veces de cambio	2,06	2,7C	1,14	2,31	1,63	1,40	2,39	38,00
		Cl ₅₀	3,670000	0,005000	6,290000	2,64000C,	6,120000	0,830000	1,843000	1,049000
PANEL 34	T215Y+ M184V	Cl ₅₀ Veces de cambio	4,29	0,90	1,43	>87,6048	>79,7162	1,10	0,81	2,61
		Cl ₅₀	7,610000	0,001670	7,880000	>100	>300	0,650000	0,624000	0,071000
PANEL 35	M41 L + T215Y	Cl ₅₀ Veces de cambio	1,89	2,11	1,14	2,74	2,01	1,41	1,84	20,00
		Cl ₅₀	3,360000	0,003910	6,290000	3,130000	7,550000	0,840000	1,421000	0,557000
PANEL 37	M41L + T215Y + M184V	Cl ₅₀ Veces de cambio	5,41	1,55	1,84	>87,6048	>79,7162	1,46	1,34	6,48
		Cl ₅₀	9,600000	0,002880	10,120000	>100	>300	0,860000	1,034000	0,177000
PANEL 38	M41 L + L210W+ T215Y	Cl ₅₀ Veces de cambio	2,80	3,21	1,36	3,70	2,74	2,06	2,80	100,00
		Cl ₅₀	4,970000	0,005960	7,500000	4,220000	10,320000	1,220000	2,155000	2,722000

ID DEL PACIENTE	NOTAS	Resultados	ABC	CMX157	ddl	FTC	3TC	d4T	TFV	ZDV
PANEL 39	M41L+ L210W + T215Y	Cl ₅₀ Veces de cambio	2,36	3,54	1,07	1,89	1,57	1,84	3,01	98,00
		Cl ₅₀	4,190000	0,006560	5,900000	2,160000	5,890000	1,090000	2,322000	2,677000
PANEL 40	M41 L + L210W + T215Y + M184V	Cl ₅₀ Veces de cambio	4,60	1,02	1,49	>87,6048	>79,7162	1,48	0,97	3,18
		Cl ₅₀	8,170000	0,001890	8,180000	>100	>300	0,880000	0,751000	0,087000C,
PANEL 41	M41L+ L210W + T215Y + M184V	Cl ₅₀ Veces de cambio	5,02	1,35	1,57	>87,6048	>79,7162	1,77	1,02	3,91
		Cl ₅₀	8,920000	0,002500	8,640000	>100	>300	1,050000	0,789000	0,107000
PANEL 42	D67N + K70R	Cl ₅₀ Veces de cambio	1,40	3,03	1,19	2,87	2,14	1,31	2,56	28,00
		Cl ₅₀	2,480000	0,005610	6,570000	3,280000	8,070000	0,780000	1,971000	0,770000C
PANEL 44	D67N + K70R + T215F + K219E + M184V	Cl ₅₀ Veces de cambio	4,36	1,03	1,57	>87,6048	>79,7162	1,32	0,91	7,04
		Cl ₅₀	7,730000	0,00192C	8,650000	>100	>300	0,790000	0,703000	0,192000
PANEL	L210W + T215Y	Cl ₅₀ Veces de cambio	2,05	1,50	1,00	2,29	1,93	1,58	1,34	7,58
		Cl ₅₀	3,640000	0,00279C	5,510000	2,620000	7,260000	0,940000	1,033000	0,207000
PANEL 46	D67N + K70E	Cl ₅₀ Veces de cambio	1,36	1,15	1,41	2,97	2,87	0,94	0,96	0,21
		Cl ₅₀	2,420000	0,002120	7,730000	3,390000	10,800000	0,560000	0,738000	0,006000

ID DEL PACIENTE	NOTAS	Resultados	ABC	CMX157	ddl	FTC	3TC	d4T	TFV	ZDV
PANEL 47	D67N + K70E + M184V	Cl ₅₀ Veces de cambio	2,85	0,78	1,32	>87,6048	>79,7162	0,70	0,64	0,15
		Cl ₅₀	5,050000	0,001450	7,250000	>100	>300	0,420000	0,495000	0,004000
PANEL 48	K70E + M184V	Cl ₅₀ Veces de cambio	5,88	0,71	1,80	>87,6048	>79,7162	0,65	0,61	0,13
		Cl ₅₀	10,440000	0,00132C	9,910000	>100	>300	0,390000	0,472000	0,004000

Los datos mostrados en las **siguientes Tablas 2 y 3** demuestran que CMX157 es activo contra todos los subtipos del VIH principales (A-G, O y VIH-2), variando CI_{50} de 0,2 a 7,2 nanomolar.

Tabla 2. Actividad del Compuesto de Chimerix CMX157 contra aislados del subtipo VIH-1 en PBMC

Aislado del HIV-1	Subtipo	Punto final de RT		
		CI_{50} (nM)	CT_{50} (nM)	TI (CT_{50}/CI_{50})
RW/92/009	A	1,75	>1.000	>571
UG/92/029	A	5,84	>1.000	>171
UG/92/037	A	2,30	>1.000	>435
ADA	B	1,08	>1.000	>925
BR/92/014	B	1,58	>1.000	>633
96USHIPS 7	B	4,80	>1.000	>208
JR-CSF	B	0,68	>1.000	>1.480
TH/92/026	B	0,44	>1.000	>2.278
BR/92/025	C	3,43	>1.000	>291
IN/93/101	C	0,53	>1.000	>1.892
MW/93/95 9	C	4,50	>1.000	>222
UG/92/001	D	5,16	>1.000	>194
UG/92/024	D	0,30	>1.000	>3.346
UG/92/046	D	0,96	>1.000	>1.039
TH/93/073	E	2,95	>1.000	>339
CMU08	E	2,81	>1.000	>356
CMU06	E	1,03	>1.000	>970
BR/93/019	F	6,40	>1.000	>156
BR/93/020	F	0,73	>1.000	>1.362
BR/93/029	F	1,03	>1.000	>972
JV1083	G	2,32	>1.000	>431
RU 132	G	1,63	>1.000	>615
G3	G	2,68	>1.000	>373
BCF01	O	7,18	>1.000	>139
BCF02	O	2,47	>1.000	>405
BCF03	O	5,29	>1.000	>189

5

Tabla 3. Actividad del Compuesto de Chimerix CMX157 contra el aislado de VIH-2 en PBMC

HIV-2 + Aislado	Punto final de RT		
	CI_{50} (nM)	CT_{50} (nM)	TI (CT_{50}/CI_{50})
CDC310319	1,77	>1.000	>564
CDC310342	4,31	>1.000	>232
CBL-20	4,48	>1.000	>223

Además, estos datos indican que las CI_{50} para CMX157 contra el VIH resistente al NRTI variaron de 1,2 a 57 nM, una mediana de 359 veces más potente que el tenofovir (intervalo de 295-472x).

5 Por último, los datos que se muestran en la siguiente Tabla 4 indican que el nivel sin efecto adverso observado en ratas para CMX157 durante 7 días es de hasta 100 mg/kg/día, la dosis más alta ensayada.

Tabla 4. Parámetros toxicocinéticos en los días 1 y 7 después de la administración oral de CMX157 a ratas

Día	Dosis (mg/kg)	CMX 157 (profármaco)					Tenofovir (metabolito)				
		C _{máx} (ng/ml)	T _{máx} (h)	AUC ₀₋₂₄ (ng·h/ml)	AUC _{0-∞} (ng·h/ml)	t _{1/2elim} (h)	C _{máx} (ng/ml)	T _{máx} (h)	AUC ₀₋₂₄ (ng·h/ml)	AUC _{0-∞} (ng·h/ml)	T _{1/2elim} (h)
1	10	84,85	0,5	441,7	ND	ND	55,35	2,0	510,8	775,2	10,9
7	10	110,90	0,5	435,2	ND	ND	49,55	2,4	964,7	1.226,9	9,2
1	30	379,00	2,0	1.832,8	ND	ND	109,10	4,0	1.456,1	1.808,1	10,1
7	30	202,50	1,0	1.543,9	ND	ND	149,25	4,0	2.363,4	2.790,5	7,6
1	100	905,00	2,0	5.408	5.429,8	2,5	181,40	12,0	3.039,3	3.639,5	7,2
7	100	685,50	2,0	8.046,3	8.050,6	1,6	322,00	12,0	5.715,4	7.373,4	9,0

^aEl plasma se obtuvo a las 0,5, 1, 2, 4, 12 y 24 h de la dosificación, y se ensayó para determinar el profármaco y el metabolito como se describe en el apartado de Materiales y métodos. Los parámetros farmacocinéticos se calcularon usando los datos medios de un varón y de una mujer de cada grupo en cada punto temporal. AUC₀₋₂₄ = AUC de 0 a 24 h; t_{1/2elim} = la semivida de eliminación; ND, no determinado. (Véase G. Painter et al., "Evaluation of Hexadecyloxypropyl-9-R-β2-(Phosphonomethoxy)Propyl-Adenine, CMX157, as a Potential Treatment for Human Immunodeficiency Virus Type 1 and Hepatitis B Virus Infections, Antimicrobial Agents and Chemotherapy" 51, 3505-3509 (2007)).

EJEMPLO 2

Para examinar el potencial de CMX157 para asociarse directamente con los virus, se trata VIH-1_{III B} concentrado (aproximadamente $9,7 \times 10^{10}$ partículas de virus) con CMX157 500 nM o TFV durante 2 horas. Tras la incubación, se sedimenta el virus para eliminar el compuesto no unido, se somete a lisis con metanol al 70 % enfriado en hielo y se centrifuga. Los sobrenadantes se analizan por triplicado usando LC/MS/MS (cromatografía líquida/espectrometría de masas). Se separan el TFV, TFV monofosfato y TFV difosfato, mediante cromatografía iónica, en fase inversa, en gradiente, y se detectan mediante electronebulización de iones positivos. Los niveles de CMX157 asociados con los sedimentos virales (~37.000 moléculas/virión) son mucho mayores que los niveles de TFV asociados con los sedimentos virales (~100 moléculas/virión).

Para evaluar el efecto de la exposición del virus purificado al fármaco sobre la TCID₅₀, se trata VIH-1_{III B} concentrado (aproximadamente $9,7 \times 10^{10}$ partículas de virus) con CMX157 1.000, 500, 250 o 125 nM o TFV durante 2 horas. Como se muestra en la **Tabla 5**, CMX157 reduce sistemáticamente la replicación viral de 2 a 4 veces en este intervalo de dosis, mientras que el TFV no tiene ningún efecto perceptible incluso a la dosis más alta.

Tabla 5: Determinación de la TCID₅₀ de VIH-1_{III B} tratado (2 horas)

Fármaco (nM)	CMX157 (Veces de reducción con respecto al VC*)			TFV (Veces de reducción con respecto al VC)		
	Punto final de XTT	Punto final de RT	Punto final de P24	Punto final de XTT	Punto final de RT	Punto final de P24
1.000	1.132 (4,0)	36.227 (2,2)	7.604 (4,8)	4.529 (0)	64.570 (1,3)	36.227 (0)
500	1.132 (4,0)	36.227 (2,2)	7.604 (4,8)	4.529 (0)	81.289 (0)	37.328 (0)
250	1.132 (4,0)	25.588 (3,2)	10.765 (3,4)	4.529 (0)	72.449 (1,1)	36.227 (0)
125	1.132 (4,0)	51.172 (1,6)	9.058 (4,0)	4.027 (1,1)	72.449 (1,1)	43.056 (0)
0	4.529	81289	36.227	4.529	81.289	36.227

*VC = Vehículo de control

Para determinar la dependencia del tiempo de incubación del compuesto en la pérdida de infectividad, se trata VIH-1_{III B} concentrado con CMX157 durante 1, 15, 30, 60 y 120 minutos. Los resultados de TCID₅₀ de estos ensayos se resumen en la **Tabla 6**. CMX157 reduce la infectividad después de 1 minuto de incubación antes de la centrifugación.

Tabla 6: Determinación de TCID₅₀ del VIH-1_{III B} tratado

Tiempo de retirada del compuesto	Virus sin tratar			CMX157 500 nM (veces de reducción con respecto al VC*)		
	Punto final de XTT	Punto final de RT	Punto final de P24	Punto final de XTT	Punto final de RT	Punto final de P24
1 minuto	4.529	132.749	36.227	2.014 (2,2)	25.588 (5,2)	4.529 (8,0)
15 minutos	4.529	64.570	36.227	1.132 (4,0)	18.115 (3,6)	6.398 (5,7)
30 minutos	4.027	64.570	36.227	2.014 (2,0)	22.805 (2,8)	18.115 (2,0)
60 minutos	4.027	87.303	36.227	1.600 (2,5)	25.588 (3,4)	9.058 (4,0)
120 minuto	4.529	81.289	36.227	1.132 (4,0)	25.588 (3,2)	6.398 (5,7)

*VC = Control de vehículo

En el segundo experimento para determinar el efecto de la dosis de VIH-1_{III B} tratado con CMX157 sobre la infectividad, se incubó virus concentrado durante 15 minutos con ocho concentraciones que varían de 0,039 a 125 nM de material de ensayo, y se miden los valores de TCID₅₀ mediante XTT, RT y p24. En paralelo, se evalúa HDP-ACV para determinar si un nucleótido lipídico de estructura similar, pero sin actividad VIH, tendría algún efecto en este ensayo. Los resultados de TCID₅₀ de estos ensayos se resumen en la **Tabla 7**.

La evaluación de CMX157 asociado con VIH-1_{III B} usando bajas concentraciones de material de ensayo produjo una respuesta a la dosis indicativa de que las concentraciones de 3,9 nM y superiores produjeron una reducción de la infectividad. Los puntos finales de XTT y p24 para medir la TCID₅₀ produjeron más veces de reducción de la infectividad que el punto final de RT, como era de esperar para un NRTI en este sistema. HDP-ACV no tuvo ningún efecto sobre los virus infecciosos cuando se incubaron con VIH-1_{III B} a las concentraciones evaluadas.

Tabla 7: Determinación de TCID₅₀ del VIH-1_{III B} tratado (15 minutos)

Fármaco (nM)	CMX157 (veces de reducción con respecto al VC*)			HDP-ACV (veces de reducción con respecto al VC)		
	Punto final de XTT	Punto final de RT	Punto final de P24	Punto final de XTT	Punto final de RT	Punto final de P24
125	4.027 (4,5)	64.570 (2,5)	7.604 (4,0)	18.115 (0)	162.566 (0)	21.529 (1,4)
39,1	5.082 (3,6)	64.570 (2,5)	7.604 (4,0)	16.145 (1,1)	204.659 (0)	30.411 (0)
12,5	4.529 (4,0)	102.336 (1,6)	5.383 (5,6)	18.115 (0)	144.887 (1,1)	36.227 (0)
3,9	4.529 (4,0)	102.336 (1,6)	15.207 (2,0)	20.325 (0)	102.336 (1,6)	30.411 (0)
1,25	9.058 (2,0)	102.336 (1,6)	30.411 (0)	16.145 (1,1)	102.336 (1,6)	21.529 (1,4)
0,39	12.795 (1,4)	102.336 (1,6)	21.529 (1,4)	20.325 (0)	144.887 (1,1)	30.411 (0)
0,125	16.145 (1,1)	144.887 (1,1)	30.411 (0)	16.145 (1,1)	102.336 (1,6)	36.277 (0)
0,039	16.145 (1,1)	157.772 (1,0)	36.337 (0)	18.115 (0)	132.749 (1,2)	30.411 (0)
0	18.115	162.566	30.411	18.155	162.566	30.411

*VC = Control de vehículo

En general, estos resultados indican que CMX157 se asocia directamente con el VIH, y que esta asociación reduce la replicación viral. La incubación del VIH con concentraciones nanomolares bajas de CMX157 durante cortos períodos de tiempo (1-15 minutos) dio lugar a la reducción de la producción viral *in vitro*. No se observa ningún efecto sobre la replicación viral para TFV o el control de lípido, HDP-ACV. CMX157 puede tener ventajas frente a TFV a través de este mecanismo de dirección celular, pues cualquier VIH expuesto a CMX157 portará luego su propio antiviral a cualquier compartimento o tipo de célula en el que entre posteriormente.

El mecanismo sugerido por los experimentos presentados en el presente documento invoca la asociación directa del fármaco de lípido-TFV CMX157 con el VIH seguida de la administración de CMX157 por el virus a la célula que se está infectando. Los datos presentados en el presente documento demuestran una diferencia significativa (de aproximadamente 300 veces) en el nivel de CMX157 directamente asociado con el VIH purificado frente a TFV. Además, la preincubación del VIH con CMX157 inhibió la replicación del VIH en las células que no están expuestas al fármaco, excepto a través del propio virus; la preincubación del VIH con TFV no tiene efecto inhibitorio sobre la replicación del VIH posterior, en consonancia con los bajos niveles de TFV asociados con los viriones aislados.

Este mecanismo es diferente de la inhibición de la transcripción inversa endógena natural (NERT) dentro de viriones del VIH. La inhibición de la NERT se ha demostrado *in vitro* con altos niveles de AZT-trifosfato (10 uM) o Nevirapina (NVP) e *in vivo* con NVP (Zhang 1996, Zhang 2006). Si bien podría haber un elemento de inhibición NERT cuando las células se tratan con CMX157, este mecanismo presumiblemente requiere la formación de TFV-PP que no debe ocurrir dentro de viriones aislados.

EJEMPLO 3

Se evalúa la actividad anti-VIH-1 de CMX157 en estudios de combinación de dos fármacos con veinticuatro inhibidores anti-VIH diferentes aprobados por la FDA. Cada combinación de dos fármacos se ensaya tres veces en linfocitos T CEM o células MAGI-CCR5 infectadas de forma aguda con la cepa adaptada al laboratorio VIH-1_{III B} o VIH-1_{Ba-L}, respectivamente. El crecimiento/inhibición viral se evalúa mediante la medición de los efectos citopáticos inducidos por el virus (CPE) en células CEM o mediante la inducción del gen indicador de β-galactosidasa en células MAGI-CCR5 en el punto final del experimento. La citotoxicidad de cada combinación de dos fármacos también se evalúa en paralelo con las evaluaciones antivirales. Las concentraciones de CMX157 usadas en estas evaluaciones se seleccionan para ensayar una amplia gama de concentraciones y para proporcionar una curva de respuesta a la dosis lo más completa posible bajo las limitaciones de ocho concentraciones totales. Del mismo modo, se seleccionan las concentraciones de lamivudina, abacavir, zidovudina, estavudina, zalcitabina, didanosina, emtricitabina, tenofovir, delavirdina, efavirenz, etravirina, nevirapina, amprenavir, atazanavir, darunavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir, ritonavir, saquinavir, tipranavir, maraviroc, enfuvirtida y raltegravir para proporcionar una curva de respuesta a la dosis lo más completa posible bajo las limitaciones de cinco concentraciones totales. Se ensayó el "control de antagonismo positivo" de d4T (estavudina) en combinación con RBV en paralelo con cada uno de los ensayos que se realizaron. El análisis de las interacciones entre fármacos para cada una de las combinaciones de dos fármacos se realiza usando el modelo tridimensional de Prichard y Shipman MacSynergy II para la evaluación estadística de los ensayos de combinación. Los resultados de estos experimentos se resumen en la Tabla 8 y la interpretación de los resultados se proporciona en la Tabla 9.

Para estos estudios, la sinergia se define como combinaciones de fármacos que producen volúmenes de sinergia superiores a 50. La actividad ligeramente sinérgica y la actividad altamente sinérgica se han definido operativamente como las que producen volúmenes de sinergia de 50-100 y > 100, respectivamente. Las interacciones con otros fármacos aditivos tienen volúmenes de sinergia en el intervalo de -50 a 50, mientras que los volúmenes de sinergia entre -50 y -100 se consideran poco antagónicos y aquellos < -100 son altamente antagónicos. Al evaluar las interacciones a las concentraciones inhibitoras del 50 % (CI₅₀) para los dos fármacos, se determina la respuesta de dosis media de tres experimentos para cada combinación de dos fármacos, y el intervalo de CI₅₀ para los dos fármacos se evalúa como las dos concentraciones de fármaco que catalogan el valor de CI₅₀ (datos no mostrados). Si una de las concentraciones de un fármaco en particular produce un porcentaje de inhibición media del 50 % ± 5 %, entonces esta concentración, más las dos a cada lado se incluyen en el intervalo de CI₅₀. Posteriormente, las interacciones dentro del intervalo de CI₅₀ de los dos fármacos se definieron operacionalmente como: 1) las interacciones con volúmenes de sinergia > 20 se consideran sinérgicas; 2) las interacciones con volúmenes de sinergia en el intervalo de -20 a 20 se consideran aditivas; y 3) las interacciones con volúmenes de sinergia < 20 se consideran antagonistas.

En general, se determina que CMX-157 tiene interacciones aditivas o sinérgicas para todas las combinaciones de dos fármacos realizadas con fármacos antirretrovirales aprobados por la FDA. Ninguna de las interacciones resulta ser antagónica. Esta conclusión de interacciones aditivas a sinérgicas para todas las combinaciones también se alcanza cuando se evalúan las interacciones en el intervalo de CI₅₀ de los dos fármacos de cada combinación. Por el contrario, como era de esperar, el control de antagonismo positivo de la estavudina en combinación con la ribavirina generó interacciones antagonistas.

Tabla 8. Eficacia antiviral de CMX157 en combinación con antirretrovirales aprobados en células CEM y MAGI-CCR5 (valores de confianza del 95 %)

Compuesto	Volumen de sinergia/antagonismo (nM ² %, μM ² % o nMμM%) ¹			Volumen de sinergia/antagonismo medio (nM ² %, μM ² % o nMμM%; n = 3) ²
	Resultado 1	Resultado 2	Resultado 3	
Inhibidores nucleósidos de la transcriptasa inversa (NRTI)				
Lamivudina (3TC)	87,5/-42,6	51,8/0	79,0/0	69,8/-11,3
Abacavir (ABC)	25,1/-35,8	0/-2,32	19,7/-12,1	14,9/-16,7
Zidovudina (AZT)	5,01/-67,8	32,7/0	0/-0,77	11,5/-21,7
Estavudina (d4T)	4,47/0	40,6/0	0,39/-1,83	15,2/-0,61
Zalcitabina (ddC)	154/0	80,0/0	131/-15,9	122/-5,29
Didanosina (ddl)	3,38/-1,01	3,04/0	29,6/0	12,0/-0,34
Emtricitabina (FTC)	61,5/0	72,0/0	84,1/0	72,5/0
Tenofovir (TFV)	17,6/-0,53	37,2/0	30,3/0	28,4/-0,18
Inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa inversa (NNRTI)				
Delavirdina (DLV)	152/0	68,4/0	1,01/-2,58	72,9/0
Efavirenz (EFV)	85,7/0	80,6/0	43,2/0	69,8/0
Etravirina (ETV)	34,9/-0,75	106/0	67,4/-0,87	69,0/-0,29
Nevirapina (NVP)	74,1/0	41,5/0	0/0	38,5/0
Inhibidores de la proteasa (PI)				
Amprenavir (APV)	104/0	43,1/0	7,31/0	51,4/0
Atazanavir (ATV)	104/0	67,4/0	12,7/-0,72	61,5/-0,24
Darunavir (DRV)	109/0	11,5/-2,31	9,48/0	43,2/-0,54
Indinavir (IDV)	78,7/-0,56	62,7/0	17,6/0	53,0/-0,19
Lopinavir (LPV)	78,8/-0,31	28,3/0	59,8/-0,12	55,6/-0,14
Nelfinavir (NFV)	32,1/0	85,1/0	125/0	80,9/0
Ritonavir (RTV)	47,5/0	38,0/0	116/-2,61	66,4/0

Compuesto	Volumen de sinergia/antagonismo (nM ² %, μM ² % o nMμM%) ¹			Volumen de sinergia/antagonismo medio (nM ² %, μM ² % o nMμM%; n = 3) ²
	Resultado 1	Resultado 2	Resultado 3	
Saquinavir (SQV)	123/-2,54	8,35/-0,81	3,93/0	45,2/-1,12
Tipranavir (TPV)	110/0	29,4/-8,60	16,8/0	52,2/-2,87
Inhibidores de la entrada				
Maraviroc (MVC) ³	145/-3,82	14,1/-3,12	96,6/0	85,3/-2,31
Enfuvirtida (T-20)	0/0	3,05/0	0/0	1,02/0
Raltegravir (RAL)	18,4/0	1,92/0	82,6/0	34,3/0

¹El programa MacSynergy II toma los datos en bruto de los experimentos individuales y calcula un valor positivo (sinergia) o negativo (antagonismo) para cada combinación de fármaco-fármaco. Los valores positivos se suman para dar un Volumen de sinergia y los valores negativos se suman para dar un Volumen de antagonismo (ambos valores se presentan para cada experimento).

²Se combinan conjuntos de datos de la representación de la sinergia antiviral (95 %) de múltiples experimentos (n = 3), y se calculan las medias aritméticas para cada concentración de fármaco-fármaco. Los valores positivos y negativos se suman de forma individual para dar respectivamente volúmenes medios de interacciones sinérgicas y antagonicas.

³Los resultados de eficacia antiviral de CMX157 en combinación con Maraviroc se realizaron en células MAGI-CCR5. El resto de evaluaciones se realizó en células CEM-SS.

Tabla 9 Interpretación del análisis MacSynergy antiviral para la eficacia de CMX157 en combinación con fármacos antirretrovirales aprobados

Fármaco antirretroviral	Interpretación de resultados antivirales
Inhibidores nucleósidos de la transcriptasa inversa (NRTI)	
Lamivudina (3TC)	Ligeramente sinérgico
Abacavir (ABC)	Aditivo
Zidovudina (AZT)	Aditivo
Estavidina (d4T)	Aditivo
Zalcitabina (ddC)	Altamente sinérgico
Didanosina (ddI)	Aditivo
Emtricitabina (FTC)	Ligeramente sinérgico
Tenofovir (TFV)	Aditivo
Inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa inversa (NRTI)	
Delavirdina (DLV)	Ligeramente sinérgico
Efavirenz (EFV)	Ligeramente sinérgico
Etravirina (ETV)	Ligeramente sinérgico
Nevirapina (NVP)	Aditivo
Inhibidores de la proteasa (PI)	
Amprenavir (APV)	Ligeramente sinérgico
Atazanavir (ATV)	Ligeramente sinérgico
Darunavir (DRV)	Aditivo
Indinavir (IDV)	Ligeramente sinérgico
Lopinavir (LPV)	Ligeramente sinérgico
Nelfinavir (NFV)	Ligeramente sinérgico

Fármaco antirretroviral	Interpretación de resultados antivirales
Ritonavir (RTV)	Ligeramente sinérgico
Saquinavir (SQV)	Aditivo
Tipranavir (TPV)	Ligeramente sinérgico
Inhibidores de la entrada	
Maraviroc (MVC)	Ligeramente sinérgico
Enfuvirtida (T-20)	Aditivo
Inhibidor de la integrasa	
Raltegravir (RAL)	Aditivo
Control de antagonismo positivo (células CEM-SS)	
Estavudina/Ribavirina (d4T/RBV)	Altamente antagonista a las concentraciones esperadas
Control de antagonismo positivo (células MAGI-CCR5)	
Estavudina/Ribavirina (d4T/RBV)	Altamente antagonista a las concentraciones esperadas

No se observaron interacciones antagónicas dentro de los intervalos de concentraciones examinados para determinar la eficacia antiviral entre CMX157 y los veinticuatro fármacos antirretrovirales aprobados por la FDA. Se observó una interacción altamente sinérgica entre CMX157 y la zalcitabina, y se observaron interacciones ligeramente sinérgicas con lamivudina, emtricitabina, delavirdina, efavirenz, etravirina, amprenavir, atazanavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir, ritonavir, tipranavir y maraviroc, lo que sugiere posibles interacciones beneficiosas con estos fármacos. Las interacciones de CMX157 con el resto de fármacos generaron resultados estrictamente aditivos. Por el contrario, el control de antagonismo positivo de la estavudina en combinación con la ribavirina mostró una interacción muy antagónica en todos los experimentos (volumen de antagonismo medio = -330 $\mu\text{M}^2\%$ en las células CEM y -111 $\mu\text{M}^2\%$ en las células MAGI-R5). Por lo tanto, la interpretación general de estos datos sugiere que el antagonismo de los efectos antivirales de los veinticuatro fármacos antirretrovirales aprobados por la FDA evaluados en este estudio no debería ser una cuestión problemática asociada con el uso de CMX157 en un entorno clínico.

Es importante señalar que no hubo pruebas de citotoxicidad sinérgica en las concentraciones de fármaco examinadas para CMX157 (10 μM = concentración más alta de ensayo). Esto era de esperar, porque ninguno de los fármacos es citotóxico en los intervalos de concentraciones evaluados. Se requerirían concentraciones mucho más altas de todos los fármacos (en torno a la concentración CT_{50}) para examinar correctamente las posibles interacciones de citotoxicidad sinérgicas. Sin embargo, es importante documentar que no hay citotoxicidades sinérgicas notables observadas a concentraciones en las que los fármacos aprobados por la FDA muestran potentes propiedades antivirales.

EJEMPLO 4

La mutación distintiva para tenofovir (TFV) es K65R que, en general, se asocia con un aumento de 2 a 4 veces en la CI_{50} para el tenofovir y la falta de respuesta clínica al Viread. Los estudios *in vitro* diseñados para seleccionar mutantes resistentes a CMX157 usan VIH-1 de tipo silvestre como el inóculo primario y TFV como control positivo. Estos estudios se realizan mediante el paso en serie del VIH-1_{IIIIB} y VIH-1RF en las células CEM-SS usando concentraciones crecientes de TFV o CMX157. Se aumentan los niveles de fármaco tras la detección del crecimiento viral en cada paso usando procedimientos conocidos para un experto en la materia. Al término de cada paso, se secuencian la región de codificación de la transcriptasa inversa del genoma viral para identificar cualquier posible mutación asociada a la resistencia que pueda haber surgido en la combinación de virus.

Como se muestra en las Tablas 10 y 11, no hay resistencia a CMX157 a lo largo de los 9 pasos. Por el contrario, K65R fue seleccionado por TFV en el paso 8. Estos datos indican que puede ser más difícil para el VIH desarrollar resistencia hacia CMX157 que hacia TFV.

Tabla 10: Pasos de VIH-1_{IB} en CMX157

Paso	Concentración de pasada de CMX157 (veces por encima de la CI ₅₀)	Día de producción máxima de virus ^a (actividad de RT)	Mutaciones observadas en RT del virus pasado	Comentarios
1	300 nM (2 x CI ₅₀)	Día 6 (23.615 cpm)	Ninguna	Potente replicación del virus observada
2	600 nM (4 x CI ₅₀)	Día 6 (6.706 cpm)	Ninguna	Replicación reducida del virus observada
3	900 nM (6 x CI ₅₀)	Día 14 (11.364 cpm)	Ninguna	Replicación moderada del virus observada
4	1.200 nM (8 x CI ₅₀)	Día 6 (34.440 cpm)	Ninguna	Potente replicación del virus observada
5	1.800 nM (12 x CI ₅₀)	Día 6 (14.061 cpm)	Ninguna	Replicación moderada del virus observada
6	2,400 nM (16X IC ₅₀)	Día 7 (9.933 cpm)	Mezcla de T2151 (población menor)	Replicación del virus de nivel bajo a moderado observada; mezcla menor de T2151 poco probablemente asociada con la resistencia hacia CMX157 (no observada en el paso 7)
7	2,800 nM (19X IC ₅₀)	Día 5 (1.900 cpm)	Ninguna	Replicación del virus de nivel bajo observada a lo largo de 16 días en cultivo; prosigue con el paso 8 usando la misma concentración para dejar que el virus crezca.
8	2,800 nM (19X IC ₅₀)	Día 9 (18.638 cpm)	Poblaciones mixtas, menores, observadas: E122K, T2001, Q207E, P272A, R277K, I293V, P294Q, E297K y T400A	Replicación del virus relativamente potente observada; mezclas menores de aminoácidos observadas poco probablemente asociadas con la resistencia hacia CMX157, estos cambios se informan basándose en las bajas alturas de los picos observadas en los cromatogramas. Sin embargo, la mayoría de estos picos bajos son probablemente aberraciones de la secuenciación.
9	5,600 nM (36X IC ₅₀)	Día 11 (1.585 cpm)	Poblaciones mixtas, menores, observadas: E122K, D123E, T200I, Q207E, R211K, P272A, R277K, I293V, P294Q, E297K, I375V, T400A, N519S, A554T	Replicación del virus de nivel bajo observada a lo largo de 13 días en cultivo; la actividad de RT alcanza un máximo el día 11 y cae los días 12 y 13. Por lo tanto, se usó el sobrenadante del día 11, aunque la actividad de RT es relativamente baja a 1.585 cpm. Mezclas menores de los aminoácidos presentes; poco probablemente asociadas con la resistencia hacia CMX157.

^aDía tras la infección cuando se observó el nivel más alto de virus basándose en la actividad de RT.
^bmenor = la mutación es la menor población en la mezcla; principal = la mutación es la población principal; igual = alturas iguales de los picos. N/A = no aplicable (replicación del virus no observada o RT no secuenciada).

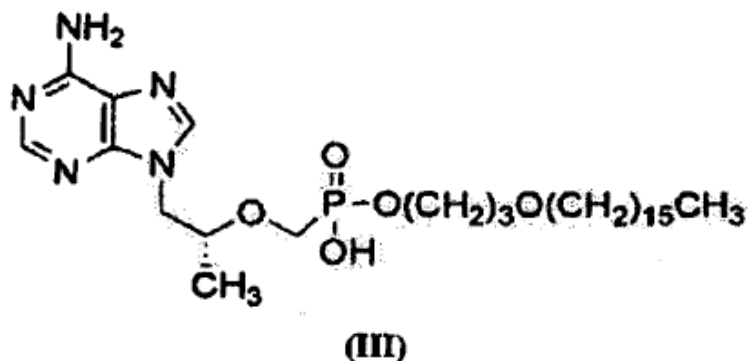
Tabla 11: Pasos de VIH-1_{III}B en Tenofovir

Paso	Concentración de pasada de Tenofovir (veces por encima de la CI ₅₀)	Día de producción máxima de virus ^a (actividad de RT)	Mutaciones observadas en RT del virus pasado	Comentarios
1	10 µM (2 x CI ₅₀)	Día 6 (3.525 cpm)	Ninguna	Replicación del virus de nivel bajo observada
2	20 µM (4 x CI ₅₀)	Día 7 (2.016 cpm)	Ninguna	Replicación del virus de nivel bajo observada
3	30 µM (6 x CI ₅₀)	Día 14 (2.062 cpm)	Ninguna	Replicación del virus de nivel bajo observada
4	40 µM (8 x CI ₅₀)	Día 6 (3.109 cpm)	Ninguna	Replicación del virus de nivel bajo observada
5	40 µM (8 x CI ₅₀)	Día 14 (1.788 cpm)	Ninguna	Replicación del virus de nivel bajo observada; prosigue con el paso 6 usando la misma concentración para dejar que el virus crezca.
6	40 µM (8 x CI ₅₀)	Día 19 (23.508)	Ninguna	Potente replicación del virus observada; importante aumento aparente en la replicación en comparación con los pasos 1-5
7	45 µM (9 x CI ₅₀)	Día 7 (24.408 cpm)	Mezcla E300D (población menor)	Potente replicación del virus observada; mezcla menor de E300D poco probablemente asociadas con la resistencia hacia el tenofovir (no observada en el paso 8)
8	50 µM (10 x CI ₅₀)	Día 9 (57.455 cpm)	Mezcla E404D (menor) Mezcla G436E(menor)	Potente replicación del virus observada; cambios de E404D y G436E posiblemente asociados con la selección de resistencia por el tenofovir
9	55 µM (11 x CI ₅₀)	Día 11 (25.458 cpm)	Mezcla K65R (igual) Mezcla E404D (principal) Mezcla G436E (menor)	Potente replicación del virus observada; mutación prototipo de resistencia hacia el tenofovir K65R comenzando a aparecer; las mutaciones E404D y G436E parecen estar asociadas con la resistencia hacia el tenofovir
10	60 µM (12 x CI ₅₀)	Día 7 (31.549 cpm)	Mezcla K65R (principal) Mezcla E404D (menor) Mezcla G436E (menor)	Potente replicación del virus observada; mutación prototipo de resistencia hacia el tenofovir K65R = población principal; las mutaciones E404D y G436E parecen estar asociadas con la resistencia hacia el tenofovir

^aDía tras la infección cuando se observó el nivel más alto de virus basándose en la actividad de RT.
^bmenor = la mutación es la menor población en la mezcla; principal = la mutación es la población principal; igual = alturas iguales de los picos. N/A = no aplicable (replicación del virus no observada o RT no secuenciada).

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto antiviral de Fórmula:



5 en combinación con al menos un agente activo antiviral adicional seleccionado del grupo que consiste en lamivudina, zalcitabina, emtricitabina, delavirdina, efavirnez, etravirina, amprenavir, atazanavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir, ritonavir, tipranavir y maraviroc, para su uso en un método de tratamiento de un sujeto con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), en el que el sujeto no ha recibido previamente un agente activo antiviral para dicho VIH, método que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad del compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, un diastereómero, un enantiómero o un racemato del mismo, eficaz para tratar la infección por VIH e inhibir el desarrollo de resistencia hacia dicho compuesto en el sujeto.

10 2. El compuesto para su uso en el método de la reivindicación 1, en el que dicho sujeto está además infectado por el VHB, y dicho compuesto antiviral y al menos un agente activo antiviral adicional se administran en una cantidad eficaz para tratar tanto dicho VHB como dicho VIH.

15 3. Un compuesto antiviral de Fórmula III, como se ha definido en la reivindicación 1, en combinación con al menos un agente activo antiviral adicional seleccionado del grupo que consiste en lamivudina, zalcitabina, emtricitabina, delavirdina, efavirnez, etravirina, amprenavir, atazanavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir, ritonavir, tipranavir y maraviroc, para su uso en un método de tratamiento de un sujeto con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), en el que dicho sujeto ha desarrollado resistencia o una respuesta tóxica hacia al menos otro compuesto antiviral como respuesta a la administración previa de dicho al menos otro compuesto antiviral a dicho sujeto contra dicha infección por VIH, método que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad del compuesto de Fórmula III, o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, un diastereómero, un enantiómero o un racemato del mismo, eficaz para tratar la infección por VIH e inhibir el desarrollo de resistencia hacia dicho compuesto en dicho sujeto.

20 4. El compuesto para su uso en el método de la reivindicación 3, en el que dicho sujeto puede estar infectado además por el VHB, y dicho compuesto antiviral se administra en una cantidad eficaz para tratar tanto dicho VHB como dicho VIH.

25 5. Una composición farmacéutica que consiste en:

- 35 (a) un primer compuesto antiviral de Fórmula III como se define en la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable, o un estereoisómero, un diastereómero, un enantiómero o un racemato del mismo;
- 40 (b) uno o más agentes activos antivirales adicionales seleccionados del grupo que consiste en lamivudina, zalcitabina, emtricitabina, delavirdina, efavirnez, etravirina, amprenavir, atazanavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir, ritonavir, tipranavir y maraviroc; y
- (c) un vehículo farmacéuticamente aceptable.

6. La composición de la reivindicación 5, en la que

- 45 (i) la composición está en forma de dosificación unitaria; y/o
- (ii) la composición está en forma de administración oral.

50 7. Un compuesto antiviral de Fórmula III, como se ha definido en la reivindicación 1, y uno o más agentes activos antivirales seleccionados del grupo que consiste en lamivudina, zalcitabina, emtricitabina, delavirdina, efavirnez, etravirina, amprenavir, atazanavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir, ritonavir, tipranavir y maraviroc, para su uso en un método de inhibición de la transmisión sexual del VIH, método que comprende aplicar tópicamente en la piel o en el tejido epitelial de un ser humano una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende el

compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, un diastereómero, un enantiómero o un racemato del mismo.

8. El compuesto para su uso en el método de la reivindicación 7, en el que:

- 5
- (i) la composición se aplica por vía intravaginal, intrarrectal o en los genitales masculinos externos; y/o
 - (ii) la composición está en forma de crema, loción, gel o espuma, o en forma de una píldora intravaginal, una píldora intrarrectal o un supositorio; y/o
 - (iii) la composición se puede aplicar por vía tópica mediante su liberación desde un dispositivo intravaginal seleccionado entre un anillo vaginal, una esponja vaginal, un diafragma o un capuchón cervical; o en el que la composición se aplica por vía tópica desde la superficie exterior de un preservativo o un aplicador vaginal; y/o
 - (iv) la composición comprende además un viracida eficaz contra infecciones virales distintas del VIH; un espermicida; y/o una combinación de ambos; y/o
 - (v) la composición comprende además un lubricante.
- 10
- 15

9. Una composición tópica en forma de una crema, una loción, un gel o una espuma que comprende un compuesto antiviral de Fórmula III, como se ha definido en la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, un diastereómero, un enantiómero o un racemato del mismo, en la que:

- 20
- (i) la composición comprende además uno o más agentes anti-HIV adicionales; o
 - (ii) la composición comprende además un viracida eficaz contra infecciones virales distintas del VIH; o
 - (iii) la composición comprende además un espermicida; o
 - (iv) la composición comprende además un lubricante; o
 - (v) la composición comprende además uno o más agentes activos antivirales adicionales seleccionados del grupo que consiste en lamivudina, zalcitabina, emtricitabina, delavirdina, efavirmez, etravirina, amprenavir, atazanavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir, ritonavir, tipranavir y maraviroc.
- 25

10. Un dispositivo para inhibir la transmisión sexual del VIH que comprende: a) una estructura de barrera para insertarla en la cavidad vaginal y b) una composición que comprende un compuesto antiviral de Fórmula III, como se ha definido en la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, un diastereómero, un enantiómero o un racemato del mismo, y uno o más agentes activos antivirales adicionales seleccionados del grupo que consiste en lamivudina, zalcitabina, emtricitabina, delavirdina, efavirmez, etravirina, amprenavir, atazanavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir, ritonavir, tipranavir y maraviroc.

11. El dispositivo de la reivindicación 10, en el que:

- 35
- (i) la estructura de barrera es una esponja vaginal, un diafragma, un capuchón cervical o un preservativo; y/o
 - (ii) el dispositivo comprende además agentes anti-VIH adicionales, un viracida eficaz contra infecciones virales distintas del VIH y/o un espermicida.
- 40

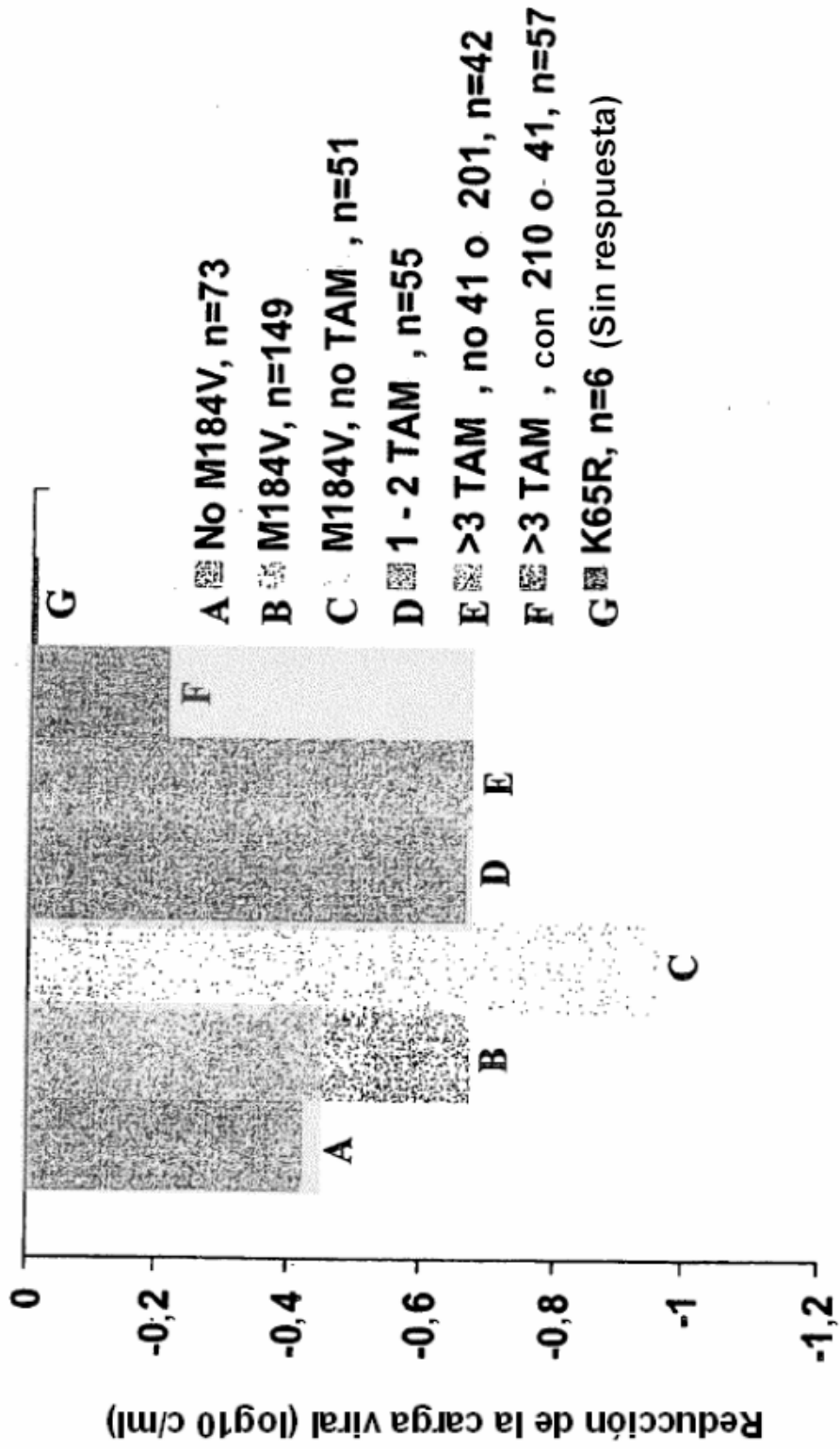


Figura 1

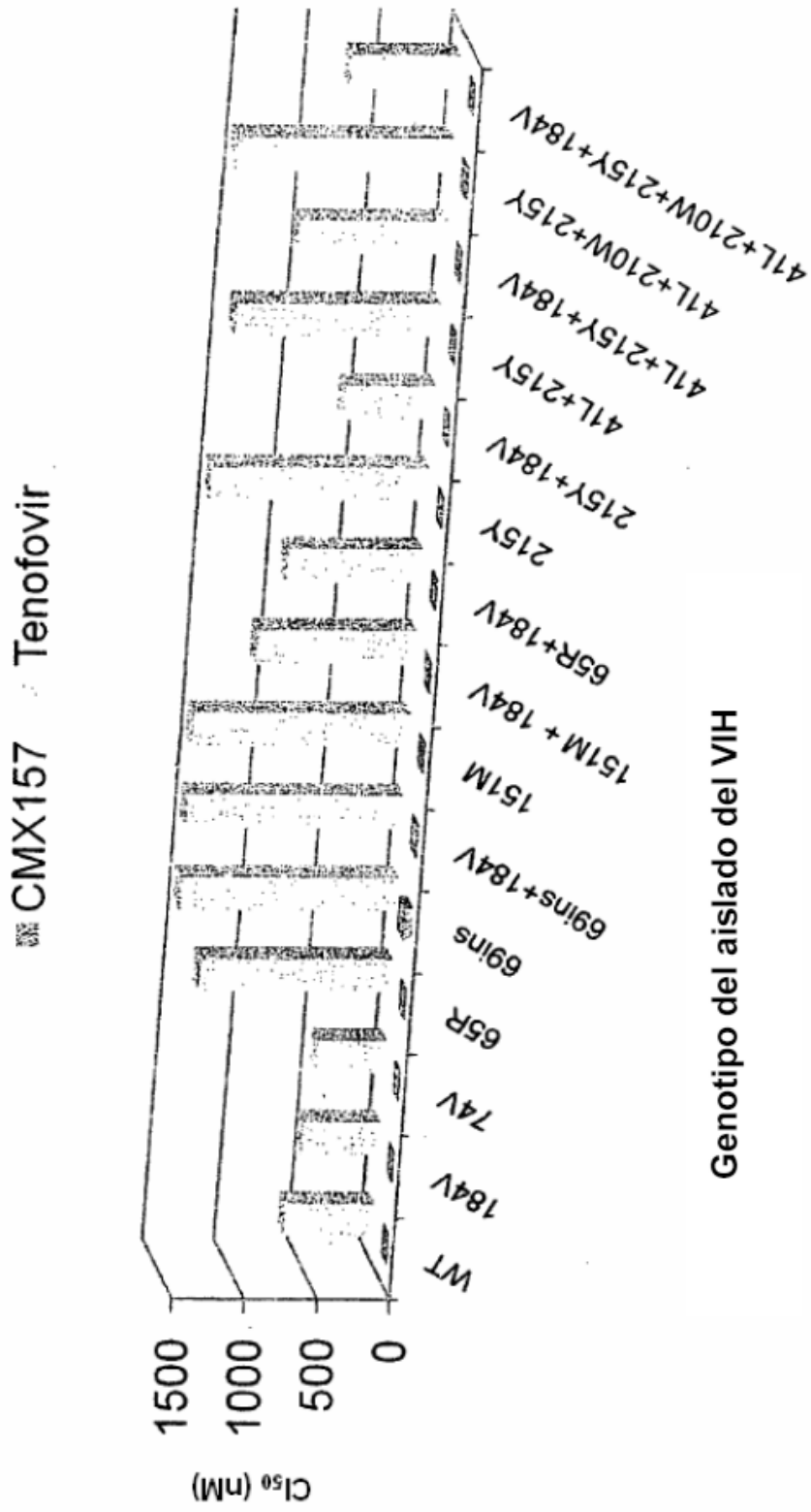


Figura 2

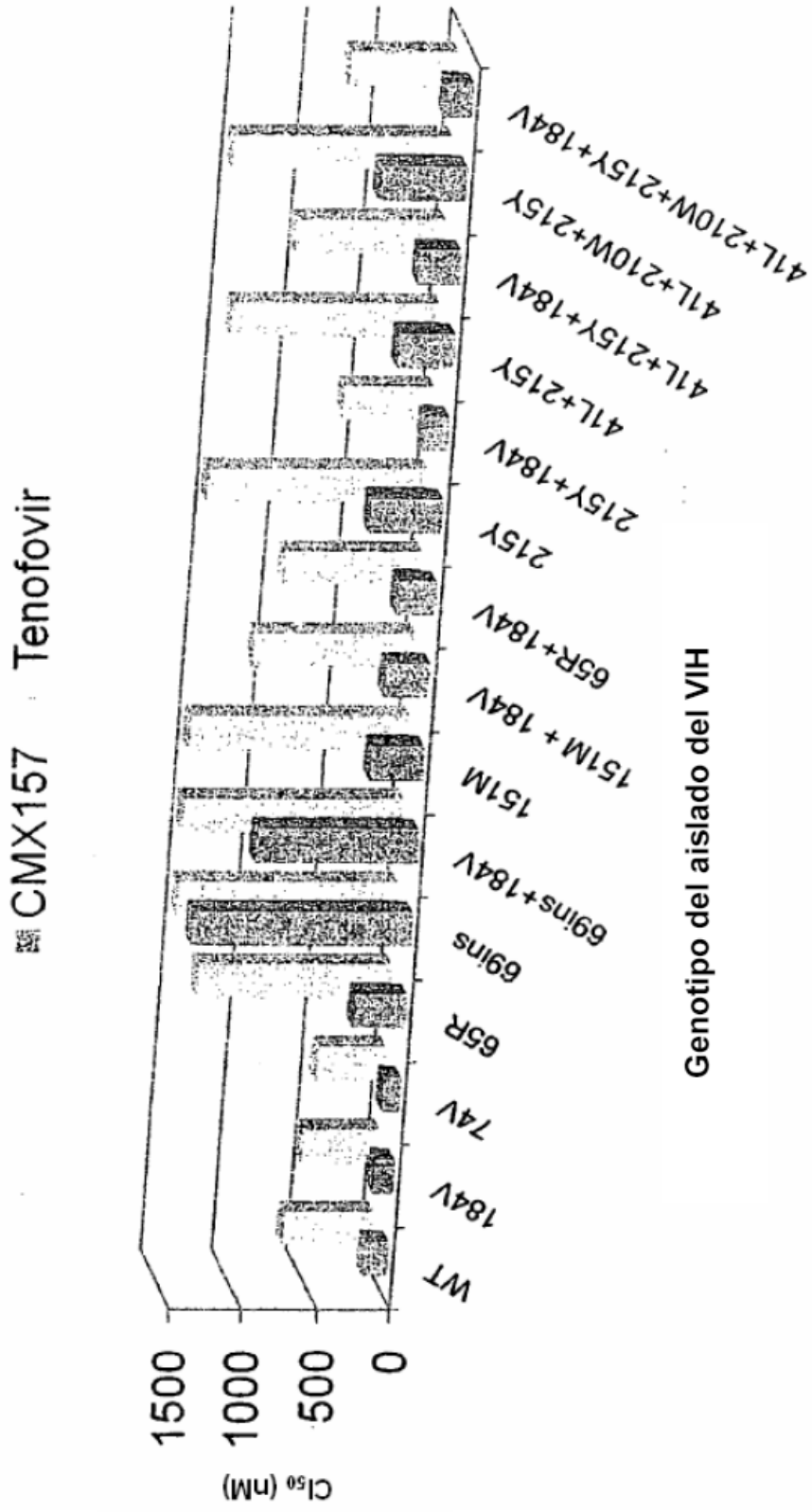


Figura 3