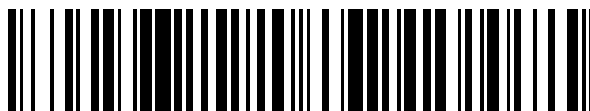


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 718 333**

51 Int. Cl.:

**C07C 63/331** (2006.01)

**C07F 1/04** (2006.01)

**C08G 63/127** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.11.2012 PCT/US2012/067452**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.06.2013 WO13082533**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.11.2012 E 12854430 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.01.2019 EP 2785679**

54 Título: **Polímeros de condensación de ácido mandélico**

30 Prioridad:

**02.12.2011 US 201161566441 P**

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

**01.07.2019**

73 Titular/es:

**RUSH UNIVERSITY MEDICAL CENTER (50.0%)  
1653 W. Congress Parkway  
Chicago, IL 60612, US y  
THE BOARD OF TRUSTEES OF THE UNIVERSITY  
OF ILLINOIS (50.0%)**

72 Inventor/es:

**ANDERSON, JR., ROBERT, A.;  
DIAO, XIAO-HUI;  
ZANEVELD, LOURENS, J., D.;  
CHANY, II, CALVIN, J.;  
KRUNIC, ALEKSEJ;  
WALLER, DONALD, P.;  
VENTON, DUANE, L. y  
JAIN, SANJAY**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

**ES 2 718 333 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

Polímeros de condensación de ácido mandélico

**Campo técnico**

5 La presente descripción se refiere en general a polímeros de condensación de ácidos, y más particularmente, a polímeros de condensación de ácido mandélico, y a composiciones que comprenden dichos compuestos.

**Antecedentes**

10 La epidemia de VIH/SIDA ha resaltado significativa y drásticamente la amenaza de las enfermedades de transmisión sexual (ETS) para la población humana. Hasta que no haya cura, o al menos un tratamiento eficaz, el mejor enfoque, y quizás solo realista, para este problema creciente de las ETS (especialmente el VIH/SIDA) parece estar reduciendo el riesgo de transmisión de las ETS por los patógenos causantes y por tanto reduciendo el número de nuevas infecciones. Incluso cuando los tratamientos o curas de las ETS estén disponibles, la prevención permanecerá probablemente como la primera línea de defensa por razones económicas y médicas.

15 En la actualidad, la educación respecto a las ETS, sus modos de transmisión y las llamadas técnicas de "sexo seguro" se han mostrado prometedoras, al menos en cierta medida en los países más desarrollados, en cuanto a reducir los riesgos de transmisión de las ETS a través de la actividad sexual. La selección del suministro de sangre ha ayudado a reducir el riesgo de transmisión de dichos organismos causantes de las ETS por medio de transfusiones de sangre y prácticas médicas relacionadas. No obstante, la propagación de dichas ETS no se ha detenido hasta un grado satisfactorio, incluso en los países desarrollados, con programas de educación activa y progresiva. Incluso con su eficacia conocida en la prevención las ETS, las técnicas actuales de sexo seguro no se usan siempre, o no se usan siempre adecuadamente, por muchas razones (por ejemplo, descuido, falta de conocimiento, técnicas inadecuadas, barreras culturales y actividad sexual no planificada o espontánea). Además, incluso cuando se usan correctamente, las técnicas de sexo seguro no siempre son eficaces. Actualmente están disponibles varios dispositivos de control de la natalidad, incluyendo los métodos de barrera y los anticonceptivos vaginales. Algunos de ellos también pueden tener además al menos cierto grado de actividad anti-ETS.

25 Las enfermedades de transmisión sexual, especialmente el VIH/SIDA, también presentan riesgos para los profesionales de la salud y el personal de laboratorio que trabaja con pacientes con ETS y/o muestras de sangre y tejidos de dichos pacientes. El contacto físico con los fluidos corporales de pacientes infectados puede, especialmente si hay grietas o cortes en la piel, aumentar el riesgo de transmisión de los organismos causantes de las ETS. En los últimos años, dichos profesionales de la salud y personal de laboratorio han usado cada vez más ropa y equipo protectores cuando trabajan con pacientes o muestras biológicas donde es posible la exposición a fluidos corporales. Con frecuencia se usan guantes de látex (a menudo con doble o triple capa), gafas y ropa protectoras para tratar o examinar a pacientes tanto en consultorios médicos como dentales, o al trabajar con muestras biológicas de pacientes (por ejemplo, sangre y tejidos). A pesar de estas precauciones, todavía puede ocurrir la exposición a fluidos corporales. Por ejemplo, un movimiento repentino de un paciente mientras se le está extrayendo una muestra de sangre puede hacer que la sangre salpique y, quizás, entre en contacto con una parte desprotegida del cuerpo de otras personas en la zona; las punciones con aguja o los cortes con bisturí pueden exponer a los profesionales de la salud a fluidos corporales a pesar de los guantes y otras capas protectoras; o se pueden generar aerosoles que contienen sangre y/o saliva durante los procesos dentales que pueden entrar en contacto con el cuerpo de otras personas. Aunque es poco probable que el contacto con una piel sin grietas y sana provoque la transmisión de una ETS, grietas, cortes o daños en la capa de piel protectora pueden aumentar el riesgo de transmisión.

45 Están disponibles tratamientos para muchas ETS posteriores a la infección, pero dichas infecciones muestran cada vez más resistencia a los tratamientos disponibles. Por ejemplo, el VIH puede volverse resistente a los fármacos en las terapias antirretrovirales convencionales. Este fenómeno está bien establecido y supervisado por la OMS en los países en desarrollo. En los Estados Unidos, se sabe que el 50% de los pacientes con VIH que reciben tratamiento están infectados con una cepa del VIH que expresa resistencia a al menos un fármaco de tratamiento conocido. En un estudio, casi el 30% de las nuevas infecciones por VIH en una región de África eran de una cepa resistente a los fármacos. El fármaco particular había sido introducido sólo 18 meses antes. Los pacientes con VIH deben ser controlados para detectar dicha resistencia a los fármacos, y generalmente a un cóctel de fármacos, para mantener la supresión de la infección. Una persona sexualmente activa no solo puede infectarse con una cepa ya resistente a los fármacos, sino que una vez infectada y en tratamiento, el VIH puede mutar y, por tanto, volverse resistente a un tratamiento posterior.

55 Por consiguiente, lo que se necesita son compuestos, composiciones y métodos mejorados para reducir el riesgo de infecciones de ETS. Sería deseable que tales compuestos, composiciones y métodos no interfirieran con los mecanismos vaginales naturales y protectores con el fin de mantener la flora vaginal protectora natural y mantener la integridad de los tejidos vaginales y cervicales, e impedir que los patógenos infecten las células hospedantes, tales como macrófagos y células CD4+. También sería deseable que dichos compuestos, composiciones y métodos fueran relativamente fáciles de usar y tuvieran efectos secundarios significativamente menores que los productos

actualmente disponibles, de modo que se pudieran usar más probablemente de manera sistemática. También sería deseable que dichos compuestos, composiciones y métodos se pudieran usar en relaciones heterosexuales, homosexuales y bisexuales y en una amplia gama de actividades sexuales. También sería deseable que dichos compuestos, composiciones y métodos pudieran ser implementados por cualquiera de las personas en la actividad sexual. También sería deseable proporcionar compuestos, composiciones y métodos por los cuales pudiera reducirse el riesgo de infección por enfermedades de transmisión sexual, especialmente el VIH/SIDA, para las personas que trabajan con pacientes y/o muestras biológicas.

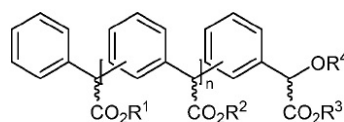
Ward et al., *Biomacromolecules* 2007, 8:3308-3316 describen los poli(ácidos mandélicos) (PMDA) homo- y heteroquirales, sintetizados en condiciones fuertemente ácidas, moderadamente ácidas y no ácidas. Las fracciones solubles en agua de estos polímeros se evaluaron respecto a su actividad inhibitoria frente al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH-1). Solo el SAMMA (los PMDA preparados por catálisis con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado) tenía actividad biológica.

El documento WO2007022082 describe agentes antimicrobianos y su uso en métodos para prevenir o reducir el riesgo de infecciones y/o enfermedades de transmisión sexual. Los agentes antimicrobianos para uso en estos métodos incluyen ácidos mandélicos modificados con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (SAMMA) junto con un donador de NO (es decir, NO-SAMMA).

El documento US6028115 describe un método para la reducción del riesgo de transmisión de una enfermedad de transmisión sexual, especialmente VIH, y/o la actividad sexual durante el virus herpes simple (VHS); generalmente comprende la aplicación de una cantidad eficaz de un agente inhibidor. Agentes inhibidores que se dice que son útiles incluyen ácidos mandélicos modificados con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

## 20 Sumario

En un aspecto de la invención, se describen compuestos que tienen la fórmula (I),



(I),

o una de sus sales, ésteres o amidas farmacéuticamente aceptables,

en donde

25 R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> se seleccionan, cada uno independientemente, del grupo que consiste en hidrógeno, metilo o catión de sodio;

R<sup>4</sup> es hidrógeno; y

n es un número entero mayor que cero.

30 En otro aspecto de la invención, se describe el compuesto que tiene la fórmula (I) para usar en la protección de un individuo para que no contraiga una enfermedad de transmisión sexual.

En otro aspecto de la invención, se describen composiciones que comprenden un compuesto de la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

35 En otro aspecto de la invención, se describe una composición que comprende un agente protector para su uso en la protección de un individuo para que no contraiga una enfermedad de transmisión sexual a través del contacto con un fluido corporal, comprendiendo dicho uso la aplicación al cuerpo o parte del cuerpo de un individuo de una cantidad eficaz de un agente protector, en donde el agente protector comprende un compuesto de la invención. En otra realización, se describe un compuesto de la invención, para uso en la reducción del riesgo de transmisión de un patógeno que se transmite sexualmente a un sujeto humano, comprendiendo el uso poner en contacto un patógeno o células susceptibles de infección por el patógeno con una cantidad eficaz de un compuesto de la invención, reduciendo así el riesgo de transmisión del patógeno.

40

## Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra un espectro de ESI-MS de una realización de la presente invención.

La Figura 2 muestra un cromatograma de HPLC de una realización de la presente invención.

La Figura 3 muestra un espectro de LCQ-APCI de una realización de la presente invención.

La Figura 4 muestra un espectro de APCI-MS de una realización de la presente invención.

La Figura 5 muestra una superposición de cromatogramas de HPLC de realizaciones de la presente invención.

La Figura 6 muestra un análisis de RMN de campo ultra-alto de una realización de la presente invención.

La Figura 7 muestra un espectro de masas MALDI-TOF de una realización de la presente invención.

## 5 Descripción detallada

### Definición de términos

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente memoria tienen el mismo significado que entiende comúnmente un experto en la técnica. En caso de conflicto, prevalecerá el presente documento, incluidas las definiciones.

10 Los términos “comprende(n)”, “incluye(n)”, “que tiene”, “tiene”, “puede”, “contiene(n)” y sus variantes, como se usan en la presente memoria, pretenden ser frases, términos o palabras de transición abiertas que no excluyen la posibilidad de actos o estructuras adicionales. La presente descripción también contempla otras realizaciones “que comprenden”, “que consisten en” y “que consisten esencialmente en” las realizaciones o elementos presentados en esta memoria, ya sea explícitamente establecidos o no.

15 Como se usa en la presente memoria, el término “sustituyente adecuado” pretende significar un grupo funcional química y farmacéuticamente aceptable, es decir, un resto que no invalida la actividad biológica de los compuestos de la invención. Dichos sustituyentes adecuados pueden ser seleccionados habitualmente por los expertos en la técnica. Los ejemplos ilustrativos de sustituyentes adecuados incluyen, aunque sin limitación, grupos halo, grupos perfluoroalquilo, grupos perfluoroalcoxi, grupos alquilo, grupos alquenoilo, grupos alquinoilo, grupos hidroxilo, grupos oxo, grupos mercapto, grupos alquiltio, grupos alcoxi, grupos arilo o heteroarilo, grupos ariloxi o heteroariloxi, grupos aralquilo o heteroaralquilo, grupos aralcoxi o heteroaralcoxi, grupos HO-(C=O)-, grupos heterocíclicos, grupos cicloalquilo, grupos amino, grupos alquil- y dialquil-amino, grupos carbamoilo, grupos alquilcarbonilo, grupos alcoxycarbonilo, grupos alquilaminocarbonilo, grupos dialquilaminocarbonilo, grupos arilcarbonilo, grupos ariloxycarbonilo, grupos alquilsulfonilo y grupos arilsulfonilo. Los expertos en la técnica apreciarán que muchos sustituyentes pueden ser sustituidos por sustituyentes adicionales.

20 Como se usa en la presente memoria, el término “alquilo” se refiere a un radical hidrocarbonado lineal o ramificado que tiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 carbonos. Los grupos alquilo descritos en la presente memoria incluyen, aunque sin limitación, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, iso-butilo, butilo secundario y butilo terciario. Los grupos alquilo descritos en la presente memoria pueden estar no sustituidos o sustituidos con uno o más sustituyentes adecuados, preferiblemente 1 a 3 sustituyentes adecuados, como se ha definido anteriormente. Los alquilo preferidos incluyen alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), más preferidos son alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) y los más preferidos son metilo y etilo.

25 Como se usa en la presente memoria, el término “cicloalquilo” se refiere a un radical carbocíclico mono, bicíclico o tricíclico (por ejemplo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, ciclonoilo, ciclopentenoilo, ciclohexenoilo, biciclo[2.2.1]heptanoilo, biciclo[3.2.1]octanoilo y biciclo[5.2.0]nonanoilo); opcionalmente que contienen 1 o 2 dobles enlaces. Los grupos cicloalquilo de la presente invención pueden estar no sustituidos o sustituidos con uno o más sustituyentes adecuados, preferiblemente 1 a 5 sustituyentes adecuados, como se ha definido anteriormente.

Como se usa en la presente memoria, el término “halógeno” se refiere a un radical flúor, cloro, bromo o yodo.

30 Como se usa en la presente memoria, el término “alquenoilo” se refiere a un radical hidrocarbonado lineal o ramificado que tiene 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 carbonos, y que tiene uno o más dobles enlaces carbono-carbono. Los grupos alquenoilo de la presente invención incluyen, aunque sin limitación, etenilo, 1-propenoilo, 2-propenoilo (alilo), iso-propenoilo, 2-metil-1-propenoilo, 1-butenilo y 2-butenilo. Los grupos alquenoilo descritos en la presente memoria pueden estar no sustituidos o sustituidos con uno o más sustituyentes adecuados, preferiblemente 1 a 3 sustituyentes adecuados, como se ha definido anteriormente.

35 Como se usa en la presente memoria, el término “alcoxi” se refiere a un grupo alquilo, como se define en la presente memoria, unido al resto molecular precursor a través de un átomo de oxígeno.

40 Como se usa en la presente memoria, el término “alquinoilo” se refiere a un radical hidrocarbonado lineal o ramificado que tiene 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 carbonos, y que tiene uno o más triples enlaces carbono-carbono. Los grupos alquinoilo descritos en la presente memoria incluyen, aunque sin limitación, etinilo, propinilo y butinilo. Los grupos alquinoilo descritos en la presente memoria pueden estar no sustituidos o sustituidos con uno o más sustituyentes adecuados, preferiblemente 1 a 3 sustituyentes adecuados, como se ha definido anteriormente.

45 Como se usa en la presente memoria, el término “carbonilo” o “(C=O)” (como se usa en frases tales como alquilcarbonilo, alquil-(C=O)- o alcoxycarbonilo) se refiere a la unión del resto >C=O a un segundo resto tal como un grupo alquilo o amino (es decir, un grupo amido). Alcoxycarbonilamino (es decir, alcoxi(C=O)-NH-) se refiere a un

grupo alquil-carbamato. El grupo carbonilo se define también equivalentemente en la presente memoria como (C=O). Alquilcarbonilamino se refiere a grupos tales como acetamida.

Como se usa en la presente memoria, el término "oxo" se refiere a un radical oxígeno con doble enlace (=O) en el que la pareja de enlace es un átomo de carbono. Dicho radical también puede ser considerado como un grupo carbonilo.

- 5 Como se usa en la presente memoria, el término "arilo" significa radicales aromáticos monocíclicos, bicíclicos o tricíclicos, tales como fenilo, naftilo, tetrahidronaftilo e indanilo; opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes adecuados, preferiblemente 1 a 5 sustituyentes adecuados, como se ha definido anteriormente.

Como se usa en la presente memoria, el término "heteroarilo" se refiere a un grupo heterocíclico aromático monocíclico, bicíclico o tricíclico que contiene uno o más heteroátomos seleccionados de O, S y N en el(los) anillo(s).

- 10 Los grupos heteroarilo descritos en la presente memoria incluyen, aunque sin limitación, piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, tienilo, furilo, imidazolilo, pirrolilo, oxazolilo (por ejemplo, 1,3-oxazolilo, 1,2-oxazolilo), tiazolilo (por ejemplo, 1,2-tiazolilo, 1,3-tiazolilo), pirazolilo, tetrazolilo, triazolilo (por ejemplo, 1,2,3-triazolilo, 1,2,4-triazolilo), oxadiazolilo (por ejemplo, 1,2,3-oxadiazolilo), tiadiazolilo (por ejemplo, 1,3,4-tiadiazolilo), quinolilo, isoquinolilo, benzotienilo, benzofurilo e indolilo. Los grupos heteroarilo descritos en la presente memoria pueden estar no sustituidos o sustituidos con uno o más sustituyentes adecuados, preferiblemente 1 a 5 sustituyentes adecuados, como se ha definido anteriormente.

Como se usa en la presente memoria, el término "heterociclo" se refiere a un grupo monocíclico, bicíclico o tricíclico que contiene 1 a 4 heteroátomos seleccionados de N, O, S(O)<sub>n</sub>, NH o NR, en donde R es un sustituyente adecuado.

- 20 Los grupos heterocíclicos descritos en la presente memoria contienen opcionalmente 1 o 2 dobles enlaces. Los grupos heterocíclicos descritos en la presente memoria incluyen, aunque sin limitación, azetidino, tetrahydrofuranilo, imidazolidinilo, pirrolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, oxazolidinilo, tiazolidinilo, pirazolidinilo, tiomorfolinilo, tetrahydrodiazinilo, tetrahydro-tiadiazinilo, morfolinilo, oxetanilo, tetrahydrodiazinilo, oxazinilo, oxatiazinilo, indolinilo, isoindolinilo, quinuclidinilo, cromanilo, isocromanilo y benzoxazinilo. Ejemplos de sistemas de anillos monocíclicos saturados o parcialmente saturados son tetrahydrofuran-2-ilo, tetrahydrofuran-3-ilo, imidazolidin-1-ilo, imidazolidin-2-ilo, imidazolidin-4-ilo, pirrolidin-1-ilo, pirrolidin-2-ilo, pirrolidin-3-ilo, piperidin-1-ilo, piperidin-2-ilo, piperidin-3-ilo, piperazin-1-ilo, piperazin-2-ilo, piperazin-3-ilo, 1,3-oxazolidin-3-ilo, isotiazolidina, 1,3-tiazolidin-3-ilo, 1,2-pirazolidin-2-ilo, 1,3-pirazolidin-1-ilo, tiomorfolinilo, 1,2-tetrahydrodiazin-2-ilo, 1,3-tetrahydrodiazin-3-ilo, tetrahydrotiadiazinilo, morfolinilo, 1,2-tetrahydrodiazin-2-ilo, 1,3-tetrahydrodiazin-1-ilo, 1,4-oxazin-2-ilo y 1,2,5-oxatiazin-4-ilo. Los grupos heterocíclicos descritos en la presente memoria pueden estar no sustituidos o sustituidos con uno o más sustituyentes adecuados, preferiblemente 1 a 3 sustituyentes adecuados, como se ha definido anteriormente.

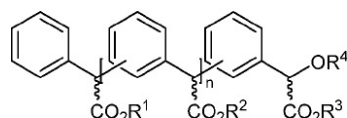
Como se usa en la presente memoria, el término "hidroxi" se refiere a un grupo -OH.

Como se usa en la presente memoria, el término "contraión" se refiere a una especie catiónica que es un contraión adecuado para un grupo carboxilato. Los contraiones adecuados descritos en la presente memoria incluyen, aunque sin limitación, catión de sodio, catión de potasio, catión de calcio, catión de magnesio y catión de amonio.

### 35 **Compuestos**

En la presente memoria se describen polímeros de condensación de ácido mandélico, denominados también en la presente memoria compuestos de polifenilencarboximetileno (PPCM). Los inventores han descubierto inesperada y sorprendentemente que estos compuestos se pueden obtener por polimerización de ácido mandélico catalizada por ácido en condiciones de reacción controladas. En particular, se ha descubierto que la temperatura de reacción, la velocidad de adición de los reaccionantes y el medio de reacción son factores importantes para obtener los polímeros de condensación de ácido mandélico de la presente invención. Realizando la polimerización catalizada por ácido de ácido mandélico o un derivado de ácido mandélico a temperatura reducida, específicamente inferior a 0°C, preferiblemente inferior a -10°C, más preferiblemente inferior a -25°C y lo más preferiblemente inferior a -30°C; controlando la velocidad de adición del reaccionante ácido mandélico a la mezcla de reacción; y por el uso de condiciones de reacción netas, los polímeros de condensación de ácido mandélico de la presente invención se pueden formar selectivamente y obtenerse con alto rendimiento.

En un aspecto, los polímeros de condensación de ácido mandélico de la presente invención tienen la fórmula (I),



(I),

o una de sus sales, ésteres o amidas farmacéuticamente aceptables,

- 50 en donde

R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> se seleccionan, cada uno independientemente, del grupo que consiste en hidrógeno, metilo o catión de sodio;

R<sup>4</sup> es hidrógeno; y

n es un número entero mayor que cero.

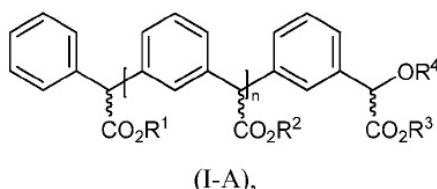
- 5 En ciertas realizaciones, n es un número entero seleccionado de 1 a 70, más preferiblemente un número entero seleccionado de 10 a 22.

En una realización preferida, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> son cada uno hidrógeno. Preferiblemente, n es un número entero seleccionado de 1 a 70, más preferiblemente un número entero seleccionado de 10 a 22.

- 10 En otra realización preferida, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> son cada uno metilo; y R<sup>4</sup> es hidrógeno. Preferiblemente, n es un número entero seleccionado de 1 a 70, más preferiblemente un número entero seleccionado de 10 a 22.

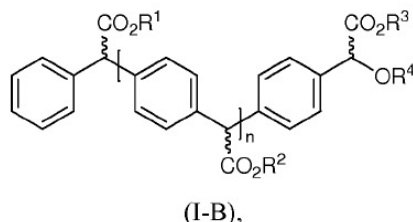
En otra realización preferida, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> son cada uno un catión de sodio; y R<sup>4</sup> es hidrógeno. Preferiblemente, n es un número entero seleccionado de 1 a 70, más preferiblemente un número entero seleccionado de 10 a 22.

En ciertas realizaciones, los compuestos de la invención pueden tener la fórmula estructural (I-A),



- 15 en donde R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> y n son como se han definido previamente.

En ciertas realizaciones, los compuestos de la invención pueden tener la fórmula estructural (I-B),



en donde R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> y n son como se han definido previamente.

- 20 Los compuestos de la invención contienen centros asimétricos y por tanto pueden presentarse como racematos y mezclas racémicas, enantiómeros individuales, mezclas diastereoisoméricas y diastereoisómeros individuales. Pueden estar presentes centros asimétricos adicionales dependiendo de la naturaleza de los diversos sustituyentes en la molécula. Cada uno de dichos centros asimétricos producirá independientemente dos isómeros ópticos.

### Composiciones de polímeros en masa

- 25 Los compuestos de la invención se pueden preparar y aislar como composiciones poliméricas que comprenden una distribución de compuestos de fórmula (I). Preferiblemente, la composición comprende una distribución de compuestos de fórmula (I) en donde n varía de 1 a 70, más preferiblemente de 10 a 22.

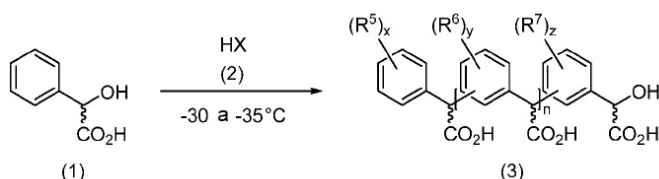
- 30 En una realización preferida, la composición comprende compuestos de fórmula (I) en donde R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> son cada uno hidrógeno; y x, y y z son cada uno cero. En otra realización preferida, la composición comprende compuestos de fórmula (I) en donde R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> son cada uno metilo; R<sup>4</sup> es hidrógeno; y x, y y z son cada uno cero. En otra realización preferida, la composición comprende compuestos de fórmula (I) en donde R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> son cada uno catión de sodio; R<sup>4</sup> es hidrógeno; y x, y y z son cada uno cero.

En general, las composiciones poliméricas de la presente invención tienen un intervalo de pesos moleculares de 600 a 6000 Da.

### Métodos de síntesis

- 35 Los compuestos y composiciones de la invención se pueden entender mejor con relación a los siguientes esquemas y métodos de síntesis que ilustran un medio por el cual se pueden preparar los polímeros.

Esquema 1

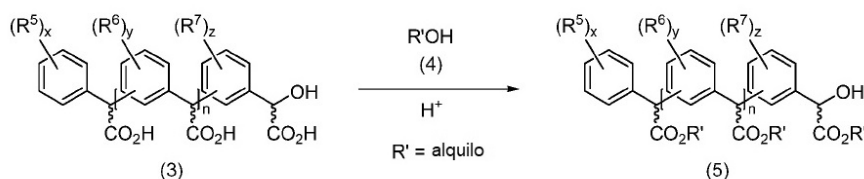


5 Los polímeros de condensación de ácido mandélico de fórmula (3) se pueden preparar como se describe en el Esquema 1. El tratamiento del ácido *d,l*-mandélico (1), un derivado del ácido mandélico o una de sus combinaciones, con un ácido fuerte (2), preferiblemente ácido sulfúrico concentrado, proporcionará polímeros de condensación de ácido mandélico de fórmula (3). Preferiblemente, la reacción de polimerización se realiza a una temperatura inferior a 0°C, preferiblemente de -45°C a -5°C, más preferiblemente de -40°C a -15°C, lo más preferiblemente de -35°C a -30°C.

La reacción de polimerización se puede llevar a cabo en ausencia de disolvente y por tanto bajo condiciones de reacción netas. Por ejemplo, el ácido fuerte de fórmula (2), preferiblemente ácido sulfúrico concentrado, puede servir tanto como catalizador ácido para la polimerización como de medio de reacción.

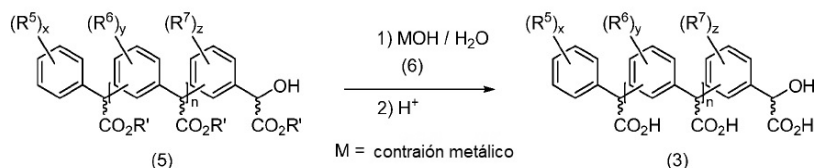
10 La reacción de polimerización se puede llevar a cabo enfriando en primer lugar el ácido fuerte hasta una temperatura inferior a 0°C, preferiblemente de -45°C a -5°C, más preferiblemente de -40°C a -15°C, lo más preferiblemente de -35°C a -30°C; seguido por la adición del reaccionante ácido mandélico. Cuando la polimerización se realiza a gran escala, preferiblemente el ácido mandélico se añade en partes alícuotas durante un período de tiempo prolongado (por ejemplo, 30 minutos).

Esquema 2



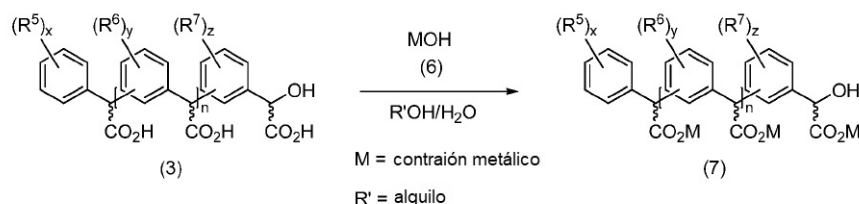
15 Los derivados de éster de los polímeros de condensación de ácido mandélico de la presente invención se pueden preparar como se describe en el Esquema 2. Los polímeros de condensación de ácido mandélico de fórmula (3), cuando se tratan con un alcohol de fórmula (4), tal como metanol, en presencia de un catalizador ácido, tal como ácido sulfúrico, proporcionarán derivados ésteres de fórmula (5).

Esquema 3



20 Los derivados ésteres de fórmula (5) se pueden hidrolizar hasta el ácido libre como se describe en el Esquema 3. Los derivados ésteres de fórmula (5), cuando se tratan con una base fuerte (MOH) de fórmula (6) (por ejemplo, hidróxido de sodio) en un disolvente acuoso, seguido por una detención brusca con ácido (por ejemplo, con ácido clorhídrico) proporcionarán polímeros de condensación de ácido mandélico de fórmula (3).

Esquema 4



Las sales de los polímeros de condensación de ácido mandélico de la presente invención se pueden preparar como se describe en el Esquema 4. Polímeros de condensación de ácido mandélico de fórmula (3), cuando se tratan con una base fuerte de fórmula (6) (por ejemplo, hidróxido de sodio) en un disolvente alcohólico/acuoso, proporcionarán derivados sales de fórmula (7), tal como en forma de sal de sodio (es decir, M = Na).

Los productos se pueden modificar adicionalmente, por ejemplo, por manipulación de los sustituyentes. Estas manipulaciones pueden incluir, aunque sin limitación, reacciones de reducción, oxidación, acoplamiento cruzado con compuestos organometálicos, alquilación, acilación e hidrólisis, que son comúnmente conocidas por los expertos en la técnica. En algunos casos, el orden de realización de los esquemas de reacción anteriores se puede variar para facilitar la reacción o para evitar productos de reacción no deseados.

#### Composiciones para reducir el riesgo de infección

Los compuestos de la invención, incluyendo las composiciones poliméricas en masa que comprenden una distribución de compuestos poliméricos de la invención, se pueden formular en composiciones útiles para reducir el riesgo de transmisión de infecciones virales y bacterianas. Una composición de la invención se puede adaptar para administración tópica a un sujeto, incluyendo el uso dérmico, intravaginal o intrarrectal, comprendiendo un supositorio, un polímero bioadhesivo o un disco vaginal, que puede proporcionar la liberación gradual de un agente protector que contenga el compuesto. Opcionalmente, los compuestos y las composiciones de la presente invención se pueden formular en combinación con un sustrato sólido para producir un preservativo, diafragma, esponja, tampón, guante o similares, que pueden estar compuestos, por ejemplo, de un polímero orgánico, tal como poli(cloruro de vinilo), látex, poliuretano, poliacrilato, poliéster, poli(tereftalato de etileno), poli(etileno-co-acetato de vinilo); polimetacrilato, caucho de silicona, un elastómero de silicona, poliestireno, policarbonato, una polisulfona o similares.

Para administración tópica, los compuestos y las composiciones de la presente invención se pueden formular en una composición con cualquier vehículo farmacéuticamente aceptable. Las composiciones tópicas pueden ser, por ejemplo, en forma de una crema, una espuma, una gelatina, una loción, una pomada, una solución, una pulverización o un gel. Además, las composiciones pueden contener uno o más agentes adicionales, por ejemplo, un agente antimicrobiano, tal como un antibiótico, o un colorante antimicrobiano, tal como azul de metileno o violeta de genciana; un agente antiviral, tal como un análogo de nucleósido, una sal de zinc o un ftalato de celulosa, tal como acetato-ftalato de celulosa o un ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa; un anticonceptivo; un lubricante o cualquier agente generalmente útil para un individuo sexualmente activo.

Un vehículo farmacéuticamente aceptable útil en una composición de la invención puede ser acuoso o no acuoso, por ejemplo, alcohólico u oleaginoso, o una de sus mezclas, y puede contener un tensioactivo, emoliente, lubricante, estabilizante, colorante, perfume, conservante, ácido o base para el ajuste del pH, un disolvente, emulsionante, agente gelificante, hidratante, estabilizador, agente humectante, agente de liberación gradual, humidificante u otro componente comúnmente incluido en una forma particular de composición farmacéutica. Los vehículos farmacéuticamente aceptables son muy conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, soluciones acuosas, tales como agua o solución salina tamponada fisiológicamente, u otros disolventes o vehículos, tales como glicoles, glicerol, aceites, tales como aceite de oliva, o ésteres orgánicos inyectables. Un vehículo farmacéuticamente aceptable puede contener compuestos fisiológicamente aceptables que actúen, por ejemplo, para estabilizar o aumentar la absorción de los compuestos de la invención, por ejemplo, carbohidratos, tales como glucosa, sacarosa o dextranos, antioxidantes, tales como ácido ascórbico o glutatión, agentes quelantes, proteínas de bajo peso molecular u otros estabilizantes o excipientes.

Las composiciones farmacéuticas también pueden comprender una mezcla con un vehículo o excipiente orgánico o inorgánico adecuado para administración intravaginal o intrarrectal, y pueden combinarse, por ejemplo, con los vehículos farmacéuticamente aceptables no tóxicos habituales para comprimidos, pelets, cápsulas, supositorios, soluciones, emulsiones, suspensiones u otras formas adecuadas para su uso. Los vehículos, además de los descritos anteriormente, pueden incluir glucosa, lactosa, manosa, goma arábiga, gelatina, manitol, pasta de almidón, trisilicato de magnesio, talco, almidón de maíz, queratina, sílice coloidal, almidón de patata, urea, triglicéridos de longitud de cadena media, dextranos y otros vehículos adecuados para uso en preparaciones manufacturadas, en forma sólida, semisólida o líquida. Además, se pueden usar agentes auxiliares, estabilizantes, espesantes o colorantes y perfumes, por ejemplo, un agente seco estabilizante, tal como triulosa.



5 Los compuestos y las composiciones poliméricas en masa de la invención se pueden incorporar dentro de un material de encapsulación, tal como en una emulsión del tipo de aceite en agua, una microemulsión, micela, micela mixta, liposoma, microesfera u otra matriz de polímero. Los liposomas, por ejemplo, que consisten en fosfolípidos u otros lípidos, son vehículos metabolizables y fisiológicamente aceptables, no tóxicos que son relativamente sencillos de preparar y administrar.

10 Las composiciones de la presente invención se pueden usar en el momento de la actividad sexual, y más preferiblemente antes de iniciar el contacto sexual. La forma de uso dependerá, en parte, de la forma de la composición, por ejemplo, si la composición está en forma líquida o similar a un líquido, tal como una gelatina, una ducha vaginal, una crema o similar, o si los compuestos de la invención están formulados con un sustrato sólido, tal como una esponja, diafragma, tampón, óvulo, preservativo o similares. Cuando están formulados como una composición, los compuestos de la presente invención se pueden impregnar en un material absorbente, tal como una esponja o un tampón, o se pueden extender sobre la superficie de un sustrato sólido relativamente impermeable, tal como un preservativo o diafragma, o en guantes médicos.

15 La cantidad de los compuestos de la presente invención en una composición puede variar, dependiendo del tipo de composición, de manera que la cantidad presente sea suficiente para reducir la capacidad de un patógeno para unirse y entrar en una célula hospedante. Una cantidad eficaz de un compuesto de la presente invención puede bloquear la infección de células susceptibles por un patógeno, tal como VIH libre, o VIH asociado a células presente en una secreción, o por la captación del patógeno debido a la unión a células por lo demás no susceptibles, que luego transfieren el patógeno a células susceptibles. Un ejemplo de tal cantidad es de 1 a 100 mM, generalmente de 5 a 30 mM, cuando se administra en una pomada, gel, espuma, pulverización o similar, o de 0,1 a 2 gramos, generalmente de 0,25 a 0,75 gramos, cuando se administra como un supositorio o en combinación con un sustrato sólido. Una cantidad eficaz de un compuesto de la presente invención también se puede medir en una cantidad de peso:peso (p:p) o peso: volumen (p:v), por ejemplo, 0,1% a 4% en p:p con respecto a un sustrato sólido o 0,1% a 4% en p:v con respecto a un vehículo farmacéuticamente aceptable. Además, se puede determinar una cantidad de un compuesto de la presente invención suficiente para reducir el riesgo de transmisión de una enfermedad de transmisión sexual usando métodos clínicos habituales.

#### Métodos

30 Los compuestos y las composiciones de la presente invención son útiles para reducir el riesgo de infección por bloqueo de la unión y entrada del patógeno en las células hospedantes. En particular, los compuestos y las composiciones son útiles como agentes antimicrobianos no citotóxicos de amplio espectro con actividades anti-VIH, anti-VHS y antibacterianas. Los compuestos y las composiciones son compatibles con mecanismos vaginales naturales y protectores; son relativamente fáciles de usar; y tienen significativamente menos efectos secundarios que los productos actualmente disponibles. Los compuestos y las composiciones se pueden usar en relaciones heterosexuales, homosexuales y bisexuales y para una amplia gama de actividades sexuales. Los compuestos y las composiciones son útiles para reducir el riesgo de infección por enfermedades de transmisión sexual, especialmente VIH/SIDA, para individuos que trabajan con pacientes y/o muestras biológicas.

40 Los compuestos y las composiciones de la presente invención son útiles para proteger a un individuo para que no contraiga una enfermedad por contacto con un fluido corporal, comprendiendo dicho uso aplicar al cuerpo o parte del cuerpo del individuo una cantidad eficaz de un compuesto o una composición de la presente invención. Los compuestos de la presente invención son útiles para reducir el riesgo de transmisión de un patógeno transmitido sexualmente a un sujeto humano, comprendiendo dicho uso poner en contacto el patógeno o las células susceptibles a la infección por el patógeno con una cantidad eficaz de un compuesto, reduciendo así el riesgo de transmisión del patógeno. Se puede usar una cantidad eficaz del compuesto o de la composición para administración tópica al sujeto que lo necesite antes o después de la relación sexual. Alternativamente, se puede usar una cantidad eficaz del compuesto o la composición para la adición a fluidos corporales, tal como semen, con el fin de eliminar o inhibir los patógenos.

50 Los compuestos y las composiciones pueden ser útiles para la inhibición de la proliferación de células microbianas, tales como las asociadas a una enfermedad o infección de transmisión sexual. La puesta en contacto de la célula microbiana con uno o más de los compuestos de la presente invención interfiere, inhibe o previene, una función o actividad de la célula necesaria para la proliferación celular. Los ensayos de proliferación celular, como se conocen y son típicos en la técnica, se pueden usar para determinar la eficacia de los compuestos y las composiciones como agentes antiproliferantes.

55 Se contempla que los compuestos y las composiciones para uso tópico de la presente invención son eficaces contra enfermedades de transmisión sexual resistentes a fármacos, así como contra enfermedades infecciosas emergentes transmitidas por fluidos corporales, particularmente semen, fluido vaginal, saliva y moco rectal o anal. Las enfermedades o infecciones de transmisión sexual contra las que los compuestos y las composiciones son eficaces incluyen, aunque sin limitación, VIH/SIDA, virus de papiloma humano (VPH) (también llamada verrugas genitales), VHS, *chancro blando* (*Haemophilus ducreyi*), clamidia (*Chlamydia trachomatis*), ladillas, gonorrea (*Neisseria gonorrhoeae*), hepatitis, linfogranuloma venéreo (LGV, *Chlamydia trachomatis*), molusco contagioso (poxvirus del género del género *Molluscipoxvirus*), uretritis no gonocócica (UNG), enfermedad inflamatoria pélvica (EIP), sarna (el

ácaro de la piel *Sarcoptes scabiei*), sífilis (*Treponema pallidum*) y vaginitis (tricomoniasis).

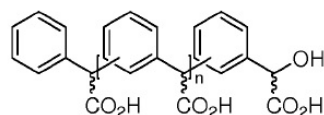
- El individuo, como se describe en la presente memoria, incluye cualquier individuo que esté en riesgo de transmisión de una enfermedad de transmisión sexual, incluidos los individuos sexualmente activos e individuos que pueden estar expuestos a enfermedades de transmisión sexual a través de otros medios. El sujeto puede ser femenino. En tales casos, los compuestos y las composiciones, descritos en la presente memoria, se pueden usar por administración como una pomada vaginal o rectal, que se aplica por vía bucal, vaginal y/o rectal, tal como, por ejemplo, un supositorio. Se puede administrar una dosis vaginal media en una pomada al 2% con 18 mg/mL de agente protector, administrando 90 mg por 5 mL o una pomada al 1% con 9 mg/mL de agente protector, administrando 45 mg por 5 mL.
- Alternativamente, el sujeto es masculino. En tales casos, los compuestos y las composiciones, descritos en la presente memoria, se pueden usar por administración a través del recto como una pomada tópica aplicada bucalmente y/o rectalmente, tal como, por ejemplo, un supositorio, o al pene como una crema, pomada, pulverización o lubricante para usar con o sin preservativo. Alternativamente, el sujeto en riesgo ha sido diagnosticado con una enfermedad o infección de transmisión sexual.
- Las composiciones o los compuestos, que se describen en la presente memoria, pueden ser útiles para la administración conjunta con otro fármaco eficaz contra una enfermedad o infección de transmisión sexual (fármaco anti-ETS) a un paciente que lo necesite. Por ejemplo, el compuesto o la composición puede ser útil para la administración conjunta con terapias anti-retrovirales altamente activas (TARAA) a una persona con VIH. Estos incluyen, por ejemplo, inhibidores de la transcripción inversa que son nucleósidos (ITIN), tales como zidovudina, didanosina, zalcitabina, estavudina, lamivudina, abacavir, tenofovir; inhibidores de la transcriptasa inversa que no son nucleósidos (ITINN), tales como nevirapina, delavirdina, efavirenz; inhibidores de proteasas, tales como indinavir, ritonavir, nelfinavir, saquinavir, amprenavir, lopinavir. Un experto en la técnica es capaz de determinar qué terapia farmacológica, incluida la dosis y el programa de dosificación, es adecuada en combinación con las composiciones o los compuestos descritos en la presente memoria basándose en el historial médico del sujeto y el progreso de la enfermedad.

Los compuestos y las composiciones de la invención se entenderán mejor haciendo referencia a los siguientes ejemplos.

### Ejemplos

- Los puntos de fusión descritos en la presente memoria se determinaron con un aparato de puntos de fusión capilar Thomas-Hoover y no están corregidos. Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN),  $^1\text{H}$ - y  $^{13}\text{C}$ -RMN se determinaron utilizando espectrómetros de RMN con transformada de Fourier (TF) Bruker de 300, 500 y 900 MHz. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en partes por millón (ppm) con respecto al tetrametilsilano (TMS) como patrón interno. Los patrones de división son los siguientes: s, singlete; d, doblete; br, ancho; m, multiplete. Todos los espectros de masas se registraron con el espectrómetro MALDI-TOF de Applied Biosystems Voyager DE PRO y Finnigan LCQ para APCI y ESI-MS de rutina. Los análisis de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en fase inversa se realizaron en una columna Nova-Pak® C<sub>18</sub> 60Å 4  $\mu\text{m}$  de 3,9 x 300 mm con un gradiente de CH<sub>3</sub>CN al 50%/H<sub>2</sub>O (1 minuto), CH<sub>3</sub>CN de 50% a 90% (70 minutos) y CH<sub>3</sub>CN de 90% a 50% (20 minutos) con un caudal de 1 mL por minuto y con detección a 254 nanómetros (nm). La HPLC preparativa se realizó en una columna Nova-Pak® C<sub>18</sub> 6  $\mu\text{m}$  de 19 x 300 mm con un gradiente de CH<sub>3</sub>CN al 65%/H<sub>2</sub>O (1 minuto), CH<sub>3</sub>CN de 65% a 90% (90 minutos) y CH<sub>3</sub>CN de 90% a 65% (30 minutos) con un caudal de 3 mL por minuto y con detección a 254 nm. Para la cromatografía en columna, se utilizó gel de sílice Fischer (malla 100-200). Todos los disolventes utilizados fueron de calidad HPLC (Fisher Scientific) o de calidad analítica (Aldrich). El ácido *d*-mandélico se adquirió a Aldrich. Todos los demás productos químicos se adquirieron a Aldrich o a Fisher Scientific.

### Ejemplo 1



(3a)

- Se preparó un polímero de condensación de ácido mandélico de fórmula (3a) por reacción directa de ácido *d*-mandélico con ácido sulfúrico concentrado a baja temperatura. Se añadió ácido *d*-mandélico (30,4 g, 200 mmol) en un lote a un matraz de fondo redondo equipado con un agitador mecánico que contenía H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado (256 g, 4000 mmol, 139 mL) con agitación vigorosa a -35°C. La mezcla de reacción resultante se agitó a -35°C durante 1 hora y luego se agitó a temperatura ambiente durante 8 horas adicionales. Posteriormente, esta mezcla de reacción se vertió en un matraz cónico que contenía 3040 mL de agua con hielo y se agitó durante 1 hora. El sólido se separó y se filtró por succión, se lavó con agua (3 x 50 mL) y se secó a presión reducida en desecadores a vacío durante 12 horas para dar (3a) en forma de un sólido blancuzco (28,25 g, rendimiento 100%); p.f. 205-206°C.  $^1\text{H}$ -RMN (DMSO-

$d_6$ ):  $\delta$  7,35-7,02 (m, ArH), 5,23 (s br, CHOH), 5,15-4,75 (m, CHCO<sub>2</sub>H), 3,41 (s br, OH). <sup>13</sup>C-RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  174,09, 140,23, 139,72, 138,85, 138,25, 129,38, 127,96, 56.76.

### Ejemplo 2

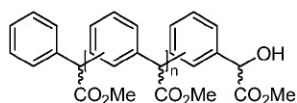
#### Análisis de ESI-MS

5 La estructura de la fórmula (3a) se confirmó adicionalmente por espectrometría de masas (MS) con ionización por electropulverización (ESI). Se evaluaron varias muestras preparadas de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 1. Como se muestra en la Figura 1, el espectro de ESI indica que el producto del Ejemplo 1 es una composición de polímeros con unidades repetitivas de 134 unidades de masa atómica (uma), que corresponde al peso molecular del ácido mandélico menos el agua.

### Ejemplo 3

10 Se logró una segunda síntesis del polímero de fórmula (3a) realizando la polimerización a -30°C ( $\pm$  5 grados). El ácido sulfúrico concentrado se enfrió hasta -30°C. La temperatura se mantuvo a -30°C ( $\pm$  5 grados) a medida que se añadía ácido mandélico en forma de partes alícuotas a la mezcla enfriada y agitada, durante un período de tiempo (aproximadamente 30 minutos utilizados para la reacción de 20 gramos). (La relación ácido mandélico/ácido sulfúrico concentrado fue 20 gramos/100 mL). La mezcla de reacción se agitó luego y se mantuvo a -30°C durante una hora, seguido por permitir que la temperatura subiera lentamente hasta la temperatura ambiente y se agitó durante 12 horas adicionales. La mezcla de reacción se vertió luego sobre/en una mezcla de hielo y agua desionizada (DI) (500 gramos/200 mL). Se formó un precipitado rosa claro y posteriormente se filtró a vacío, se lavó con agua y luego se volvió a poner en suspensión en 200 mL de agua DI. El precipitado se recogió por filtración a vacío y se lavó por suspensión repetida en agua DI (200 mL), seguido de filtración a vacío hasta que el pH final del agua de lavado estuvo entre 4 y 5. El sólido final a granel se secó al aire durante la noche. El rendimiento de la reacción proporcionó aproximadamente 18 gramos de producto polímero de fórmula (3a) por cada 20 gramos de material de partida de ácido mandélico.

### Ejemplo 4



(5a)

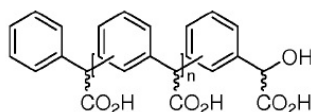
25 Se preparó un derivado éster de fórmula (5a) a partir del polímero de fórmula (3a). A una solución transparente de la fórmula del polímero (3a) (5,36 g, 40 mmol) en metanol (200 mL) se añadió 1,0 mL de ácido sulfúrico concentrado y la mezcla de reacción resultante se calentó a la temperatura de reflujo con agitación mientras se eliminaba el agua usando una trampa Dean-Stark durante 8 horas. El disolvente se separó a presión reducida y al residuo se añadió diclorometano (200 mL). La mezcla de reacción se lavó con solución al 10% de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 30 mL). La fase acuosa se volvió a extraer con diclorometano (2 x 50 mL). Las fases orgánicas reunidas se lavaron con salmuera (2 x 25 mL), se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró en un evaporador rotatorio para dar el polímero de fórmula (5a) en forma de un sólido blanco (5,78 g, rendimiento 97,6%); p.f. 125-126°C. <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7,26-6,96 (m, ArH), 5,30 (s, CHOH), 5,05 - 4,80 (m, CHCO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3,76-3,46 (m, OCH<sub>3</sub>).

### Ejemplo 5

#### Análisis de HPLC y LCQ-APCI

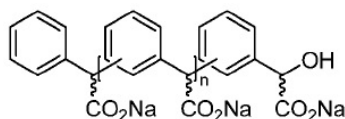
35 La estructura de la fórmula (5a), y por lo tanto la de la fórmula (3a), se confirmó adicionalmente por análisis de HPLC en fase inversa y LCQ-APCI. El análisis de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC en fase inversa del producto según el Ejemplo 4 utilizando una columna Nova-Pak® C<sub>18</sub> 60Å, 4  $\mu$ m de 3,9 x 300 mm proporcionó el cromatograma de HPLC que se muestra en la Figura 2.

40 Para confirmar la estructura de los diferentes picos obtenidos en la HPLC en fase inversa, el producto de acuerdo con el Ejemplo 4 se analizó con cromatografía de líquidos asociada a espectrografía de masas cuadrupolo-ionización química a presión atmosférica (LCQ-APCI). La Figura 3 muestra que los picos individuales representan cada uno un polímero con unidades repetitivas de 148 unidades de masa atómica. En particular, el ion molecular precursor para cada fracción desde arriba a abajo en la Figura 3 tiene una relación de masa a carga (m/z) de 462,5, 610,5, 758,5, 905,5, 1054-1055, 1202-1203, 1350-1351, 1498-1499, 1646-1647, 1794-1795 y 1942-1943, respectivamente. Estos picos corresponden, respectivamente, a compuestos de fórmula (5a) en donde n = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 y 11. La Figura 4 muestra el APCI-MS del compuesto puro de fórmula (5a) en donde n = 3. Los polímeros individuales del producto de acuerdo con el Ejemplo 4 se separaron por HPLC en fase preparativa usando una columna Nova-Pak® C<sub>18</sub>, 6  $\mu$ m de 19 x 300 mm, como se muestra por la superposición de los cromatogramas de HPLC en la Figura 5.

**Ejemplo 6**

(3a)

El derivado éster de fórmula (5a) se hidrolizó satisfactoriamente de nuevo para dar el polímero de fórmula (3a). A una suspensión agitada del polímero de fórmula (5a) (444 mg, 3 mmol) en agua (10 mL), se añadió una solución de NaOH (144 mg, 3,6 mmol) en agua (10 mL) y la mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. En este momento, el compuesto se disolvió en agua y se obtuvo una solución transparente. A esta solución se añadió HCl concentrado (1,0 mL) y se agitó durante 30 minutos. El sólido se separó y se filtró por succión, se lavó con agua y se secó a presión reducida en un desecador a vacío sobre CaCl<sub>2</sub> para dar el polímero de fórmula (3a) en forma de un sólido blancuzco (350 mg, rendimiento 87,1%); p.f. 203-204°C. El producto resultante se sometió a análisis de ESI-MS, que confirmó una composición polimérica de compuestos con unidades repetidas de 134 unidades de masa atómica.

**Ejemplo 7**

(7a)

Se preparó una forma de sal sódica del polímero de fórmula (3a) que tiene la fórmula (7a). Se añadió, gota a gota con agitación a temperatura ambiente, una solución transparente de NaOH (9,24 g, 231 mmol) en agua (10 mL) y etanol (225 mL) a una solución del polímero de fórmula (3a) (28,14 g, 210 mmol) en etanol (350 mL). La mezcla de reacción resultante se agitó a la misma temperatura durante 1 hora. El sólido se separó y se filtró por succión, se lavó con etanol (2 x 40 mL) y se secó a presión reducida en desecadores a vacío sobre P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> y CaCl<sub>2</sub> para dar el polímero de fórmula (7a) en forma de un sólido blancuzco (30,40 g, rendimiento 92,2%); p.f. 320-321°C (d).

**Ejemplo 8**

Se logró una segunda síntesis de la sal sódica de fórmula (7a). La forma de ácido libre de fórmula (3a) se disolvió en etanol absoluto (aproximadamente 20 gramos en 300 mL) y se filtró. Luego se añadió gota a gota una solución saturada de hidróxido de sodio en agua/etanol absoluto con agitación vigorosa hasta que el pH fue 10-11. El precipitado de polvo fino se filtró a vacío rápidamente y se lavó repetidamente con etanol absoluto hasta que el pH del lavado fue neutro. El sólido recogido se transfirió inmediatamente a un desecador a vacío para secarlo durante una noche (24 horas a vacío sobre H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) dando como resultado un polvo blanco muy fino. El rendimiento global fue de aproximadamente 20,5 gramos de la sal de fórmula (7a) a partir de 18 gramos de polímero de partida de fórmula (3a).

**Ejemplo 9**

## Valoración de equivalentes de ácido

La estructura de la fórmula (7a), y por lo tanto la de la fórmula (3a), se confirmó adicionalmente por una valoración de equivalentes de ácido. Se preparó una solución aproximadamente 0,1 N de ácido clorhídrico (HCl) por un método conocido y se determinó la concentración real de HCl valorando una muestra de carbonato de sodio disuelto en agua utilizando el indicador azul de timol; se determinó que la concentración de HCl era 0,103 N. El volumen del agente de valoración utilizado se midió con una bureta calibrada de 10,0 mililitros (mL). La sal de sodio de acuerdo con la fórmula (7a) se disolvió en 10 mL de agua y la solución se valoró con HCl 0,103 N hasta que persistió un color rosa. Se necesitaron aproximadamente 0,94 ± 0,01 mL de HCl 0,103 N para alcanzar el punto final para tres muestras, lo que indicaba que había un carboxilato libre por 134 unidades de masa. Estos resultados son consistentes con la estructura de fórmula (7a). Además, estos resultados eliminan la posibilidad de que el producto sea un compuesto poliéster resultante de la formación de poliéster catalizada por ácido por la reacción de los grupos funcionales hidroxilo del ácido mandélico con los grupos funcionales ácido carboxílico del ácido mandélico.

**Ejemplo 10**

## Análisis de RMN de campo ultra-alto

Para confirmar la estructura y la complejidad estereoquímica de los compuestos de la invención, se analizaron los diferentes picos obtenidos por la HPLC en fase inversa, de acuerdo con el Ejemplo 5, con análisis de RMN con TF

de campo ultra-alto. La Figura 6 muestra la parte de un experimento de correlación cuántica simple heteronuclear seleccionada por gradiente (gsHSQC) del compuesto de fórmula (5a), en donde  $n = 4$ . Cada pico individual representa una correlación entre un protón y carbono en un desplazamiento químico particular. El pico 1 (5,10-56,00 ppm) representa la correlación  $H-C-OH$ , mientras que el pico 2 (5,43-52,72 ppm) representa  $H-C-CO_2CH_3$ . El poder de resolución del espectrómetro de 900 MHz en ambas dimensiones, así como su sensibilidad, permitieron la asignación inequívoca del pico de CHOH (pico 1) en presencia de otras señales en el espectro de protones (mostrado como proyección en la parte superior del espectro en la Figura 6). La resolución en la dimensión horizontal (carbono) indica el patrón de división del pico 2 en una relación de aproximadamente 1:2:1, característico de todas las formas estereoisómeras.

### Ejemplo 11

#### Análisis MALDI-TOF

La estructura de la fórmula (3a) se confirmó adicionalmente y la distribución de la cadena de polímero en la composición de polímero en masa se determinó por análisis de espectrometría de masas con desorción/ionización por láser asistida por matriz y los iones se detectan por tiempo de vuelo (MALDI-TOF). El análisis MALDI-TOF del producto según el Ejemplo 3 utilizando una placa de muestra de acero inoxidable de Applied Biosystems y ácido 3-indolacrilico (IAA) o ácido 2,5-dihidrobenzoico (2,5-DHB) como matrices proporcionó el espectro de masas mostrado en la Figura 7 (la parte del espectro entre 5200 Da y 8000 Da se muestra en el recuadro). Este resultado de MALDI-TOF confirmó que el producto de acuerdo con el Ejemplo 3 es una composición de polímeros de fórmula (3a) que generalmente tiene de 4 a 60 unidades repetidas. La Figura 7 muestra que los picos individuales representan cada uno un polímero con unidades repetidas de 134 unidades de masa atómica. En particular, el ion molecular precursor para cada fracción de arriba a abajo en la Figura 7 tiene una relación de masa a carga ( $m/z$ ) entre 558 y 7700 Da. Los picos representativos que se muestran en la Figura 7 incluyen, aunque sin limitación: 558,93, 692,59, 826,29, 960,06, 1093,76, 1227,45, 1361,08, 1494,73, 1628,39, 1761,96, 1895,59, 2162,87, 2430,14, 2696,54, 2964,38, 3364,14, 3765,36, 4165,97, 4565,15, 4963,63, 5367,30; y dentro del recuadro: 5495,09, 5637,66, 5773,34, 5903,60, 6038,95, 6170,94, 6308,06, 6433,03, 6580,91, 6701,36, 6838,62, 6960,89, 7092,04, 7219,46 y 7362,96.

#### Determinación de la actividad biológica

Los compuestos y las composiciones de la invención son activos contra VIH, VHS y *N. gonorrhoeae in vitro*. Los compuestos de la presente invención previenen la transmisión del VIH por células dendríticas, que son células diana importantes para la infección primaria por VIH. Los compuestos y las composiciones retienen la actividad antiviral (VIH y VHS-2) en presencia de secreciones cervicales y en un amplio intervalo de pH *in vitro*. Los compuestos y las composiciones inhiben la hialuronidasa y la acrosina, inducen la pérdida acrosomal de espermatozoides y son anticonceptivos en un modelo de conejo.

### Ejemplo 12

Prevención de la infección por VIH y VHS y sinergismo con inhibidores de la transcriptasa inversa.

#### Materiales y métodos

**Microbicidas.** El PPCM es sintetizado por investigadores del programa para la *Topical Prevention and Conception of Disease* (TOPCAD) en la Universidad de Illinois Chicago (Chicago, IL). Geles de PPCM al 0,4% y 4% (y el gel de placebo emparejado) se obtienen de Yaso Biotechnologies, Inc. (Coppell, TX). El PMPA (tenofovir) se obtiene de Gilead Sciences, Inc. (Foster City, CA), y UC-781 se obtiene de Biosyn, Inc. (Filadelfia, PA).

**Cultivos de células y virus.** Las células y los virus se obtienen del proyecto de reactivos contra el SIDA, *National Institute for Biological Standards and Control*, Potters Bar, Reino Unido, a menos que se indique lo contrario. Las células ME-180, una línea celular epitelial cervical (obtenida de American Type Culture Collection, Manassas, VA), y las células TZM-bl, una línea celular HeLa que expresa establemente CD4 y CCR5 y usadas para el análisis cuantitativo del VIH-1 con luciferasa como agente informador, se cultivan en medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) suplementado con suero de ternera fetal al 10%, L-glutamina 2 mM, 100 U/mL de penicilina y 100 µg/mL de estreptomycin (DMEM completo). Las células Vero y las líneas de linfocitos T PM-1 y H9 se cultivan en RPMI 1640 suplementado como DMEM (RPMI completo). Las células Jurkat-Tat-CCR5, una línea de linfocitos T que se han transfectada con el gen tat del VIH-1 y el co-receptor CCR5, haciéndola permisiva a los virus X4 y R5, se obtuvieron de Quentin Sattentau (Sir William Dunn School of Pathology, University of Oxford, Oxford, Reino Unido) y se cultivaron en RPMI completo suplementado con 250 µg/mL de higromicina B (para la selección de Tat) y 500 µg/mL de geneticina (para la selección de CCR5). Las células Raji que expresan de forma estable DC-SIGN (células Raji/DCSIGN) y las células de control negativo se obtienen de V.N Kewal Ramani (National Cancer Institute, Frederick, MD) y se cultivan en RPMI completo (suplementado con 500 µg/mL de geneticina para las células transfectadas). Todas las células se someten a pases cada 3 a 4 días y se cultivan en una incubadora humidificada que contiene CO<sub>2</sub> al 5% de. Los aislados de VIH-1 primarios pertenecientes a las clados B y C, eran un regalo de John P. Moore (Weill Medical College, Cornell University, Nueva York, NY). Las cepas de VIH-1 adaptadas en el laboratorio, VIH-1RF (cepa que utiliza X4) y VIH-1BaL (cepa que utiliza R5), se cultivan en células PM-1 y se conservan a -180°C después de la filtración a través de filtros de 0,2 µm (Millipore, MA). [Nota del traductor: La cepas

del virus de la inmunodeficiencia humana, citadas en, con la abreviatura española VIH, se denominan en inglés con la abreviatura HIV. Análogamente para el virus herpes simple se usa la abreviatura española VHS, en lugar de la inglesa HSV].

5 Modelo de múridos anti-VHS. Cinco días antes de la infección, los ratones se tratan con 2 mg/mL de Depo-Provera. El día 0, los ratones se tratan con 30  $\mu$ L de gel de PPCM al 0,4% o 4% o un gel de placebo emparejado, 15 minutos antes de la exposición, con 20  $\mu$ L de VHS-2 (G) ( $1 \times 10^5$  UFP) diluido en PBS o en mezcla de plasma seminal humano obtenido de varones con bajo riesgo de ETS. Los ratones se monitorizan para detectar signos de enfermedad durante 14 días después de la infección en una escala de 0 a 4 puntos: 0, sin infección aparente; 1, ligero enrojecimiento de la vagina; 2, enrojecimiento moderado e hinchazón de la vagina y el tejido circundante; 3, enrojecimiento severo, hinchazón y pérdida de pelo de los tejidos genitales y circundantes; y 4, ulceración genital con enrojecimiento severo, hinchazón y pérdida de pelo de los tejidos genitales y circundantes. Se sacrifican los ratones que alcanzan la enfermedad genital en el estadio 4 o que muestran signos neurológicos (parálisis de las extremidades posteriores).

15 Ensayo con luciferasa para la detección de infección por VIH-1. Las células TZM-bl se exponen a  $10^3$  DICT<sub>50</sub> de VIH-1 en presencia de diversas concentraciones de PPCM solo o en combinación con los inhibidores de la transcriptasa inversa (RT) UC-781 y PMPA. Los virus y los fármacos se dejan en cultivo durante 48 horas a 37°C y luego se retiran lavándolos una vez con 200  $\mu$ L de PBS. Después de la lisis celular con el reactivo de lisis del cultivo celular con luciferasa (Promega, Southampton, Reino Unido), se determina la actividad de la luciferasa en los lisados.

20 Actividad anti-VIH del PPCM en modelos celulares. El VIH-1 libre de células (BaL o RF) se captura en placas de 96 pocillos recubiertas con un anticuerpo monoclonal contra HLA-DR humano. El virus no unido se elimina mediante lavado y el virus inmovilizado se trata con 100  $\mu$ L de diluciones en serie de PPCM durante 1 hora a 37°C. Para evaluar la actividad viricida directa, el compuesto se retira y las placas se lavan cuatro veces con 200  $\mu$ L de PBS antes de la adición de células diana ( $4 \times 10^4$  células Jurkat-Tat-CCR5 por pocillo). Alternativamente, las células se añaden sin la retirada del compuesto o, para evaluar la protección celular, las células Jurkat-Tat-CCR5 ( $4 \times 10^4$  células/pocillo) se exponen a las mismas concentraciones de compuesto en placas de 96 pocillos de fondo en U y se lavan de la misma manera antes de transferirlas a placas con virus inmovilizado. La replicación viral se evalúa midiendo los niveles de RT en líquidos sobrenadantes de cultivo 7 días después de la infección.

30 Para evaluar la actividad de PPCM contra VIH-1 asociado a células, las células PM-1 o H9 infectadas crónicamente con aislado del clado B, VIH-1RF, VIH-1IIB o VIH-1BaL o aislado clínico del clado C Za003/97 se tratan con 200  $\mu$ g/mL de mitomicina C en medio completo durante 1 hora a 37°C. Las células infectadas se lavan dos veces con 50 mL de PBS, se añaden a placas de 96 pocillos (500 células/pocillo) y se incuban con diversas concentraciones de PPCM durante 1 hora antes de la adición de  $4 \times 10^4$  células Jurkat-Tat-CCR5 por pocillo. Los cultivos conjuntos se incuban a 37°C durante 5 días y los líquidos sobrenadantes de los cultivos se recogen y conservan a -20°C antes de medir la actividad de la transcriptasa inversa (RT) como antes.

35 Inhibición por PPCM de la infección por VIH-1 en cultivo celular. El PPCM puede prevenir la infección de células indicadoras TZM-bl por aislados de VIH adaptados en laboratorio y de los clados primarios C y B. A una concentración de 100  $\mu$ g/mL, una concentración que debe encontrarse fácilmente en las secreciones del tracto genital después de la aplicación de una formulación de PPCM al 0,4% o al 4%, el PPCM puede bloquear completamente la infección por todos los aislados analizados, sin citotoxicidad a la concentración de la dosis.

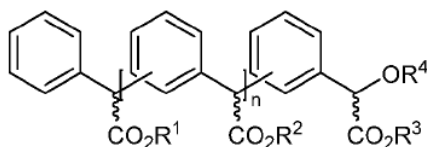
40 Estudios de combinación. El PPCM y los inhibidores de la transcriptasa inversa (RTI) se combinan en relaciones 1:1 en términos de concentraciones inhibitoras del 50% (CI<sub>50</sub>) y se tratan como un solo fármaco que se usa en un intervalo de diluciones en el ensayo de inhibición viral (ensayo de luciferasa). Para determinar las relaciones de compuestos que se deben usar en estos estudios, los valores de la CI<sub>50</sub> se determinan después de la exposición de las células TZM-bl a cada aislado viral en presencia de fármacos individuales durante 48 horas. Las relaciones PPCM/PMPA son 1:13,213 y 1:0,015 para VIH-1RF y VIH-1BaL, respectivamente, mientras que las relaciones PPCM/UC-781 son 1:0,055 y 1: 0,015 para los virus X4 y R5, respectivamente. En paralelo, los fármacos individuales se analizan en las mismas concentraciones.

50 El PPCM puede proteger a los ratones expuestos en la vagina al VHS-2. Los ratones hembra Balb/c se tratan previamente con 30  $\mu$ L de PPCM al 0,4%, PPCM al 4% o gel de placebo emparejado y luego 15 minutos más tarde se les inoculan 20  $\mu$ L de  $1 \times 10^5$  dosis (DL<sub>90</sub>) de VHS-2G diluido en PBS o en semen. Los resultados que muestran la supervivencia se agrupan de 4 experimentos independientes (n = 5-10 ratones/grupo/experimento). El PPCM al 4% puede proteger significativamente a los ratones cuando el virus se administra tanto en PBS como en semen (por ejemplo, p <0,0001 y p <0,0004, respectivamente, prueba de rango logarítmico). El PPCM al 0,4% puede proporcionar una protección significativa (por ejemplo, p <0,002).

55

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):



(I),

o una de sus sales, ésteres o amidas farmacéuticamente aceptables, en donde:

5  $R^1$ ,  $R^2$  y  $R^3$  se selecciona cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, metilo o catión de sodio;

$R^4$  es hidrógeno; y

$n$  es un número entero mayor que cero.

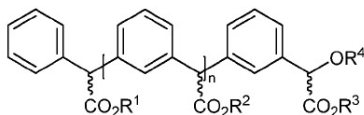
2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde:  $R^1$ ,  $R^2$  y  $R^3$  son hidrogeno.

10 3. El compuesto de la reivindicación 1, en donde:  $R^1$ ,  $R^2$  y  $R^3$  son metilo o catión de sodio.

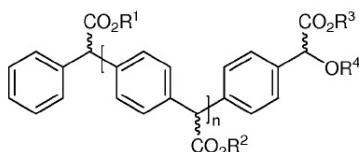
4. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde  $n$  es un número entero seleccionado independientemente de 1 a 70.

5. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde  $n$  es un número entero seleccionado independientemente de 10 a 22.

15 6. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, que tiene la fórmula (I-A) o (I-B),



(I-A), o



(I-B).

7. Una composición de compuestos de fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 2, que tiene un intervalo de pesos moleculares de 600 a 6000.

20 8. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para uso en proteger a un individuo para que no contraiga una enfermedad de transmisión sexual.

9. El compuesto de la reivindicación 8, para uso en proteger a un individuo para que no contraiga una enfermedad de transmisión sexual, en donde la enfermedad de transmisión sexual es VIH/SIDA.

10. Una composición que comprende un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

25 11. Una composición que comprende un agente protector para uso en la protección de un individuo para que no contraiga una enfermedad de transmisión sexual a través del contacto con un fluido corporal, comprendiendo dicho uso aplicar al cuerpo o parte del cuerpo del individuo una cantidad eficaz de un agente protector, en donde el agente protector comprende un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1.

12. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, para uso en reducir el riesgo de transmisión de un patógeno de transmisión sexual a un sujeto humano, comprendiendo dicho uso poner en contacto el patógeno, o las células susceptibles de infección por el patógeno, con una cantidad eficaz del compuesto, reduciendo así el riesgo de transmisión del patógeno.
- 5 13. La composición que comprende un agente protector para uso de acuerdo con la reivindicación 11 o el compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 12, en donde la enfermedad de transmisión sexual es VIH/SIDA.



# ES 2 718 333 T3

S#: 1-10 RT: 0.02-0.29 AV: 10 NL: 2.45E5  
T: - p Full ms

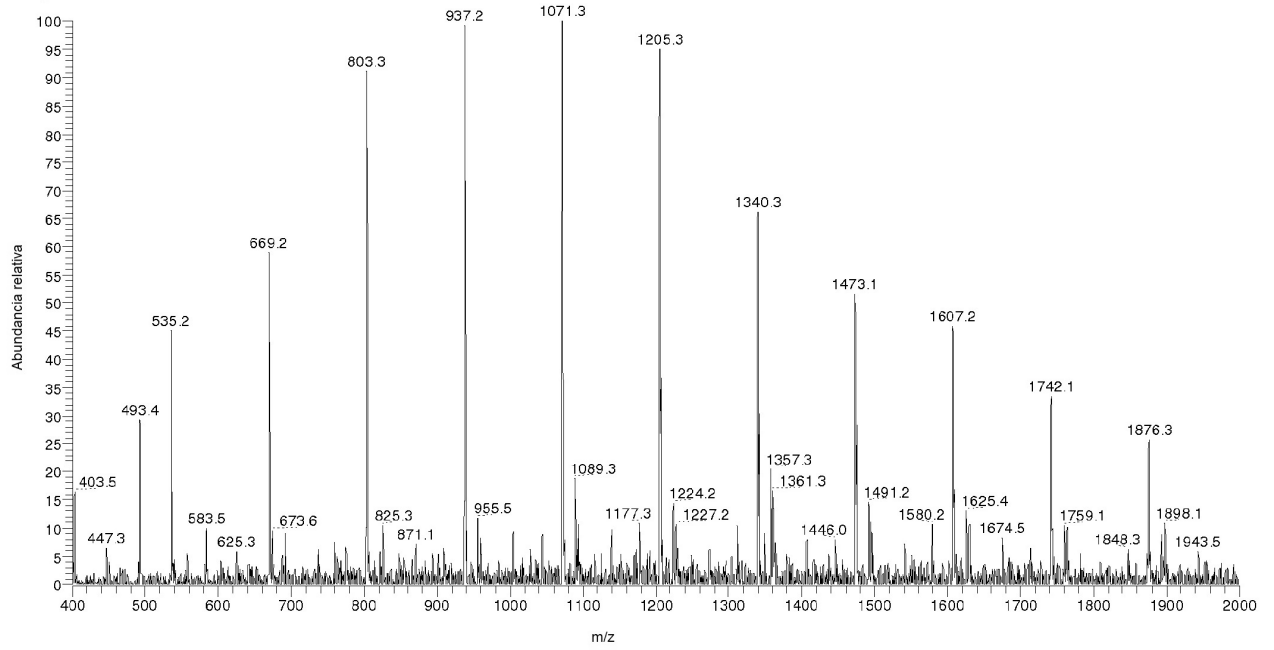
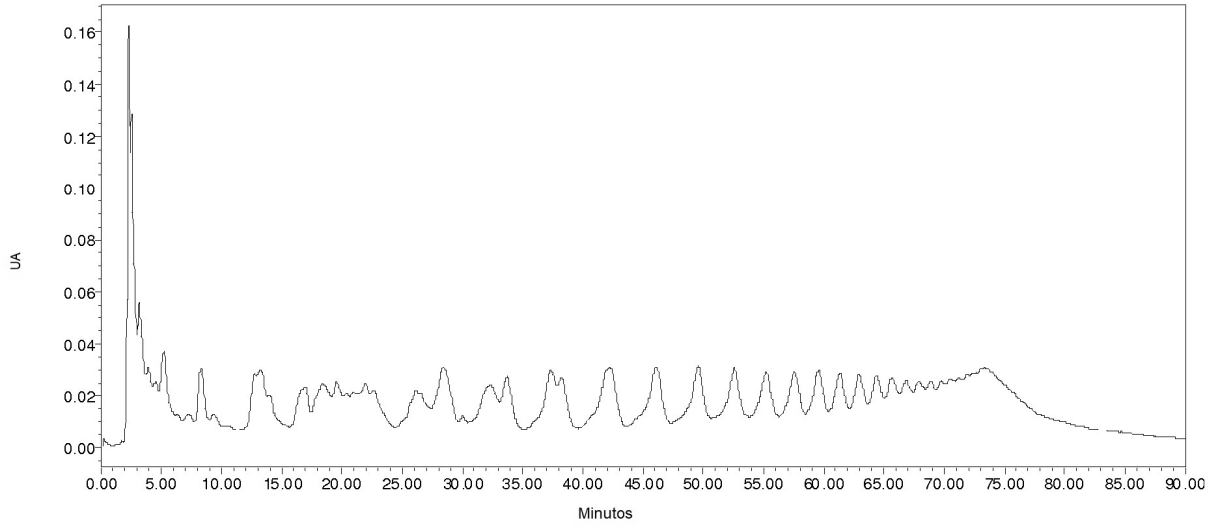


Figura 1



**Figura 2**

# ES 2 718 333 T3

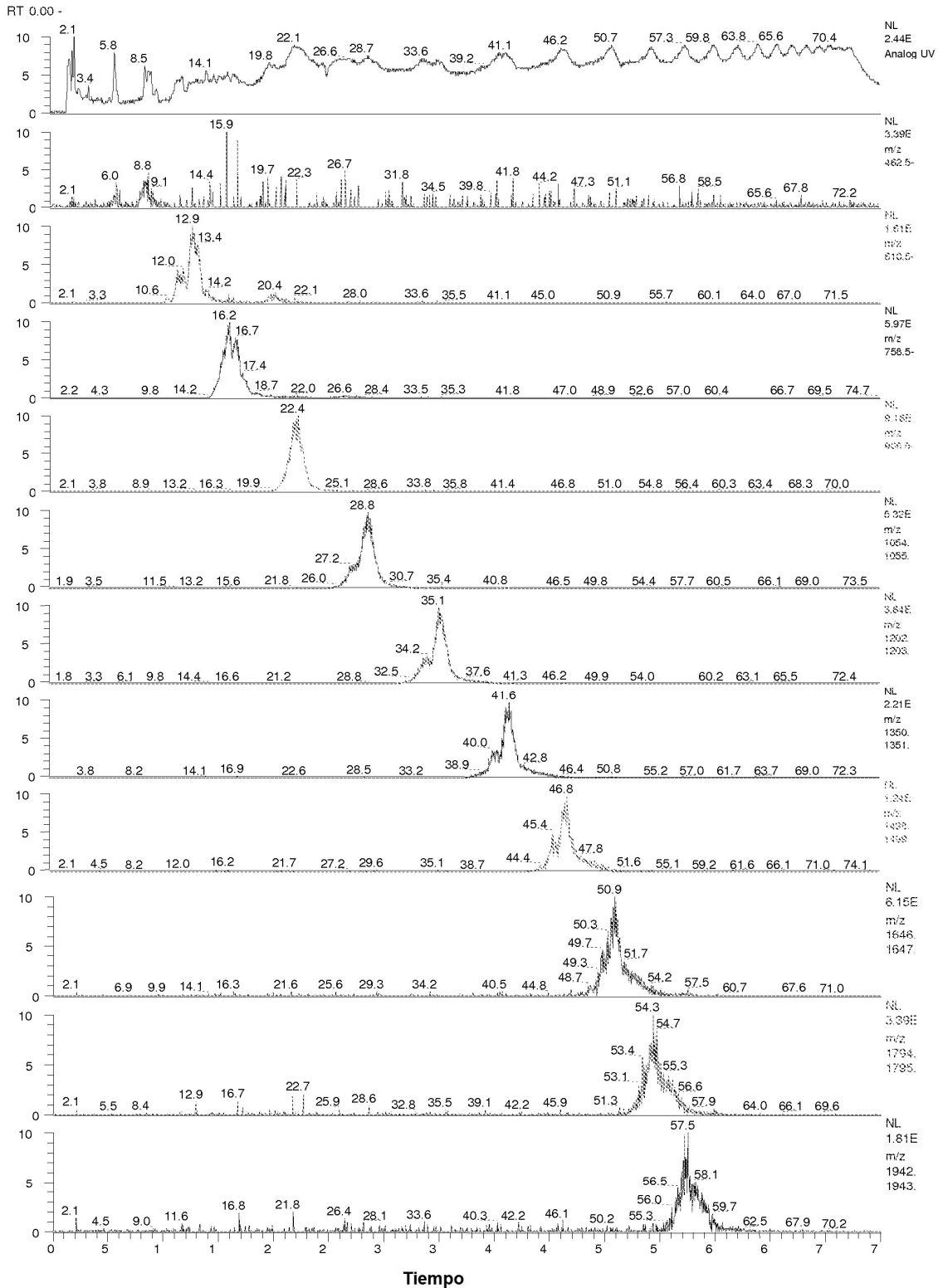
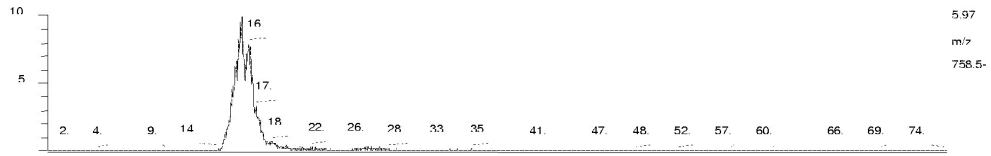


Figura 3

# ES 2 718 333 T3



S#: 522-640 RT: 14.88-17.72 AV: 119 NL: 6.33E7  
T: + c Full ms [150.00 - 2000.00]

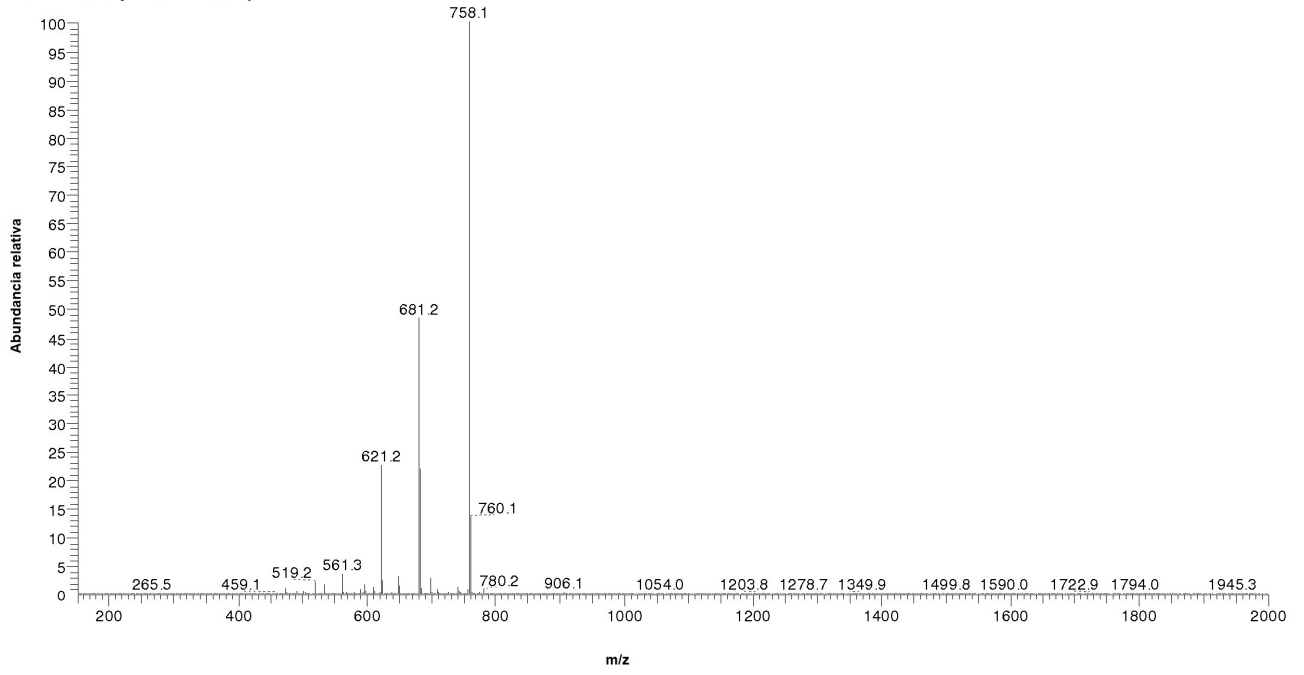
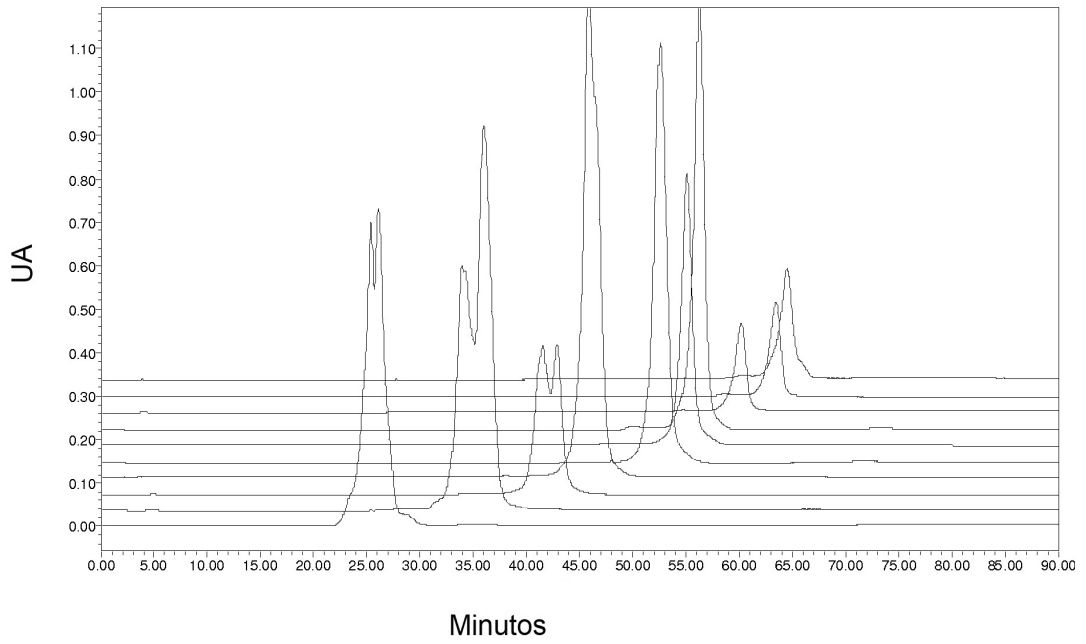
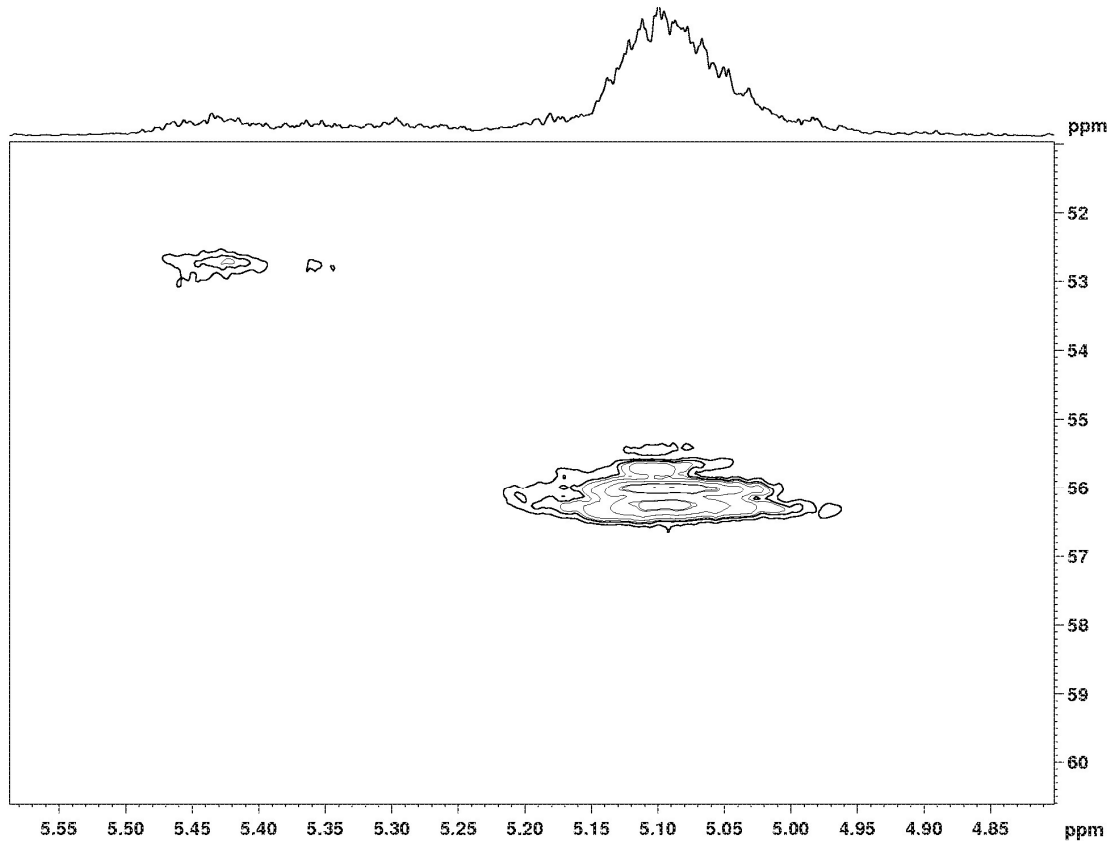


Figura 4



**Figura 5**



**Figura 6**

# ES 2 718 333 T3

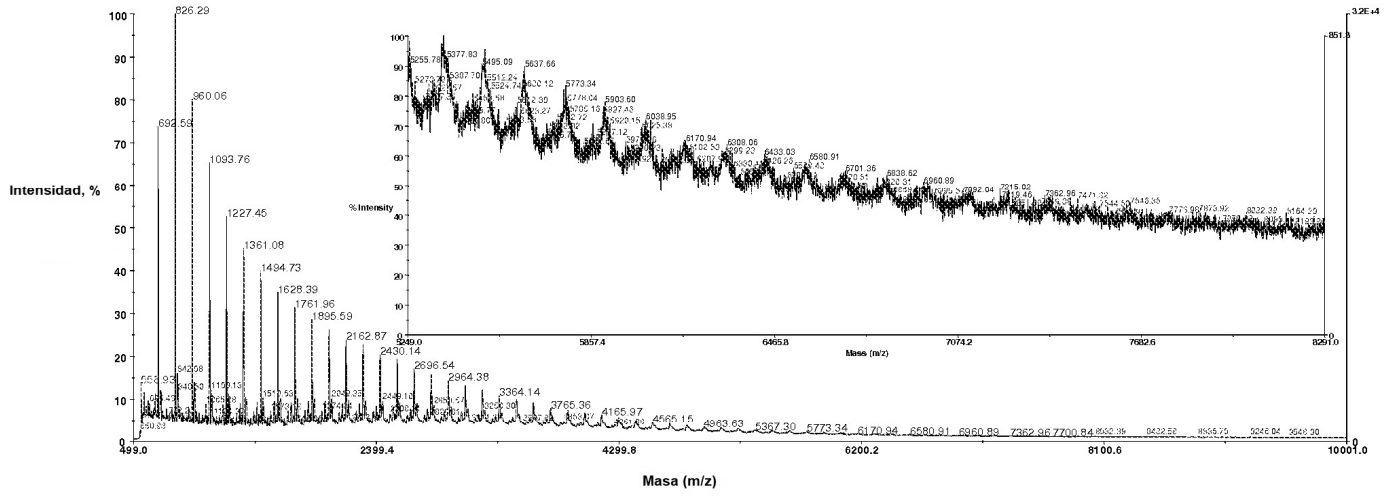


Figura 7