

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 604 662**

51 Int. Cl.:

C07D 493/04 (2006.01)

C07D 491/04 (2006.01)

C07D 495/04 (2006.01)

A61K 31/34 (2006.01)

C12Q 1/37 (2006.01)

A61K 31/445 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.06.1999** **E 10179052 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.08.2016** **EP 2336134**

54 Título: **Ensayo de acondicionamiento físico y métodos para reducir la resistencia del VIH a la terapia**

30 Prioridad:

23.06.1998 US 90393 P

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

08.03.2017

73 Titular/es:

**THE UNITED STATES OF AMERICA,
REPRESENTED BY THE SECRETARY,
DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN
SERVICES (50.0%)**

**National Institutes of Health Office of Technology
Transfer Suite 325, 6011 Executive Boulevard
Rockville, MD 20852, US y
THE BOARD OF TRUSTEES OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS (50.0%)**

72 Inventor/es:

**ERICKSON, JOHN W.;
GULNIK, SERGEI V.;
MITSUYA, HIROAKI y
GHOSH, ARUN K.**

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 604 662 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).

Ensayo de acondicionamiento físico y métodos para reducir la resistencia del VIH a la terapia**Descripción****CAMPO TÉCNICO DE LA INVENCION**

[0001] La presente invención se refiere al nuevo uso del compuesto como se especifica en la reivindicación 1.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0002] El desarrollo de resistencia a los medicamentos es uno de los retos más desconcertantes en el campo de la medicina. Una de las causas más comunes de insuficiencia de medicamentos en el tratamiento de enfermedades que implican la replicación de entidades biológicas, por ejemplo, el cáncer y las enfermedades infecciosas, es la aparición de resistencia a los medicamentos. Uno de los ejemplos más dramáticos y trágicos de resistencia a los medicamentos se pueden encontrar en relación con el tratamiento antiviral del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).

[0003] El SIDA es una enfermedad mortal, cuyos casos notificados se han aumentado drásticamente en los últimos años. Las estimaciones de los casos informados en un futuro muy próximo también siguen aumentando de manera espectacular.

[0004] El virus del SIDA se identificó por primera vez en 1983. Se ha conocido por varios nombres y siglas. Es el tercer virus de linfocitos T (HTLV-III) conocido y tiene la capacidad de replicarse dentro de las células del sistema inmune, causando la destrucción profunda de células. El virus del SIDA es un retrovirus, un virus que utiliza la transcriptasa inversa durante la replicación. Este retrovirus en particular también es conocido como virus asociado a la linfadenopatía (LAV), virus relacionado con el SIDA (ARV) y, más recientemente, como virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Dos familias distintas de VIH se han descrito hasta la fecha, a saber, el VIH-1 y VIH-2. El acrónimo VIH se usa en este documento para referirse a los virus VIH genéricamente.

[0005] Específicamente, se conoce que el VIH ejerce un profundo efecto citopático en las células T cooperadoras/inductoras CD4+, comprometiendo seriamente de ese modo el sistema inmunológico. la infección por VIH también se traduce en el deterioro neurológico y, en última instancia, en la muerte del individuo infectado.

[0006] El campo de la quimioterapéutica viral se ha desarrollado en respuesta a la necesidad de agentes eficaces contra retrovirus, en particular el VIH. Por ejemplo, agentes anti-retrovirales, tales como 3'-azido-2',3'-didesoxitimidina (AZT), 2'3'-dideoxicitidina (ddC), y 2'3'-dideoxiinosina (ddl) son conocidos por inhibir la transcriptasa inversa. También existen agentes antivirales que inhiben la proteína transactivadora. Los análogos de nucleósidos, como AZT, están disponibles actualmente para el tratamiento antiviral. Aunque muy útil, la utilidad de AZT y compuestos relacionados está limitada por la toxicidad y los índices terapéuticos insuficientes para terapia totalmente adecuada.

[0007] Los inhibidores de proteasa retroviral también se han identificado como una clase de agentes anti-retrovirales. Proteasa retroviral procesa precursores de poliproteína en las proteínas virales estructurales y enzimas replicativas. Este procesamiento es esencial para el ensamblaje y la maduración de los viriones completamente infecciosos. De acuerdo con ello, el diseño de inhibidores de la proteasa sigue siendo un importante objetivo terapéutico en el tratamiento del SIDA.

[0008] El uso de inhibidores de la proteasa del VIH, en combinación con agentes que tienen diferentes mecanismos de antirretrovirales (por ejemplo, AZT, ddl y DDT), también se ha descrito. Por ejemplo, se ha observado sinergismo contra el VIH-1 entre ciertos inhibidores de VIH simétricas C₂ y AZT (Kageyama et al., Antimicrob. Agents Chemother., 36, 926-933 (1992)).

[0009] Numerosas clases de inhibidores peptídicos potentes de proteasas se han diseñado utilizando el sitio de escisión natural de las poliproteínas precursoras como punto de partida. Estos inhibidores son típicamente análogos de sustratos peptídicos en los que el enlace amida escindible P₁-P₁' se ha sustituido por un isómero no hidrolizable con la geometría tetraédrica (Moore et al, Perspect. Drug Dis. Design, 1, 85 (1993); Tomasselli et al, Int J. Chem Biotechnology, 6 (1991); Huff, J. Med Chem, 34, 2305 (1991); Norbeck et al, Ann Reports Med Chem, 26, 141 (1991); y Meek, J. Enzyme Inhibition, 6, 65 (1992)). Aunque estos inhibidores son eficaces en la prevención de la proteasa retroviral de funcionamiento, los inhibidores sufren de algunas desventajas distintas. En general, los peptidomiméticos a menudo dan lugar a fármacos pobres, debido a sus propiedades potenciales adversos farmacológicos, es decir, la mala absorción oral, pobre estabilidad y un metabolismo rápido (Plattner et al., Drug Discovery Technologies, Clark et al., eds., Ellis Horwood, Chichester, Inglaterra (1990)).

[0010] El diseño de los inhibidores de la proteasa del VIH-1 sobre la base del concepto mimético de estado de transición ha dado lugar a la generación de una variedad de análogos de péptidos altamente activos contra la

replicación viral in vitro (Erickson et al, Science, 249, 527- 533 (1990); Kramer et al, Science, 231, 1580-1584 (1986);. McQuade et al, Science, 247, 454-456 (1990);. Meek et al, Nature (Londres), 343, 90-92 (1990);. y Roberts et al, Science, 248, 358-361 (1990)). Estos agentes activos contienen un isómero no hidrolizable, dipeptídico, como hidroxietileno (McQuade et al, *supra*;. Meek et al, Nature (Londres), 343, 90-92 (1990); y Vacca et al, J. Med Chem, 34, 1225-1228 (1991)) o hidroxietilamina (Ghosh et al, Bioorg Med Chem Lett, 8, 687-690 (1998); Ghosh et al, J. Med Chem., 36, 292-295 (1993)); Rich et al., J. Med. Chem, 33, 1285-1288 (1990);. y Roberts et al., Science, 248, 358-361 (1990)) como un resto activo que imita el estado de transición putativo de la reacción catalizada por la proteasa aspártica. El documento WO 95/06030 da a conocer sulfonamidas de hidroxietilamino útiles como inhibidores de proteasas retrovirales.

[0011] Inhibidores simétricas dobles (C_2) de la proteasa del VIH representan otra clase de potentes inhibidores de proteasa de VIH, que fueron creados por Erickson et al., sobre la base de la simetría tridimensional del sitio activo de la enzima (Erickson et al. (1990), *supra*). Típicamente, sin embargo, la utilidad de los inhibidores de la proteasa del VIH disponibles en la actualidad en el tratamiento del SIDA ha sido limitado por plasma de una vida media relativamente corta, mala biodisponibilidad oral, y la dificultad técnica de síntesis ampliada (Meek et al. (1992), *supra*).

[0012] En un esfuerzo continuo para abordar el problema de la vida media plasmática corta y escasa biodisponibilidad, se han identificado nuevos inhibidores de la proteasa del VIH. Por ejemplo, los inhibidores de la proteasa del VIH que incorporan los isómeros 2,5-diamino-3,4-desustituidos-1,6-difenilhexano se describen en Ghosh et al., Bioorg. Medicina. Chem. Lett., 8, 687-690 (1998) y las patentes de EE.UU. n.ºs. 5.728.718 (Randad et al.). inhibidores de la proteasa del VIH, que incorporan el isómero de hidroxietilamina, se describen en la patente de EE.UU. N.ºs. 5.502.060 (Thompson et al), 5.703.076 (Talley et al.) y 5.475.027 (Talley et al.).

[0013] Los estudios recientes, sin embargo, han puesto de manifiesto la aparición de cepas mutantes de VIH, en las que la proteasa es resistente a los inhibidores simétricas C_2 (Otto et al, PNAS USA, 90, 7543 (1993); Ho et al, J. Virology, 68, 2016-2020 (1994);. y Kaplan et al, PNAS USA, 91, 5597 a 5601 (1994)). En un estudio, la mutación más abundante que se encuentra en respuesta a un inhibidor basado en simetría C_2 era Arg a Gln en la posición 8 (R8Q), que afecta fuertemente el subsitio del dominio de unión de la proteasa de S_3/S_3' . En este estudio, la reducción de los residuos P_3/P_3' dio lugar a inhibidores que fueron equipotentes hacia proteasas mutantes tanto de tipo silvestre como R8Q (Majer et al., 13th American Peptide Symposium, Edmon- ton, Canada (1993)). Los inhibidores han sido truncado para P_2/P_2' sin pérdida significativa de actividad (Lyle et al, J. Med Chem, 34, 1230 (1991); y Bone et al, J. Am Chem Soc, 113, 9382 (1991)). Estos resultados sugieren que los inhibidores se pueden truncan y sin embargo mantienen las interacciones cruciales necesarios para una unión fuerte. Los beneficios de este enfoque incluyen la eliminación de dos o más enlaces peptídicos, la reducción del peso molecular, y la disminución del potencial de reconocimiento por enzimas de degradación.

[0014] US 5.766.842 da a conocer métodos de identificación resistentes a fármacos, mutantes biológicamente activos de una proteína que pueden surgir *in vivo* en respuesta a un fármaco dirigido contra la proteína, en particular la proteasa de VIH. Klabe et al. (Biochemistry, Vol. 37, n.º 24, 1998, p. 8.735-8.742) se refiere a la resistencia a los inhibidores de la proteasa del VIH y da a conocer una comparación de la inhibición de la enzima y la potencia antiviral.

[0015] Más recientemente, nuevas cepas mutantes de VIH han surgido que son resistentes a inhibidores de la proteasa retrovirales múltiples, estructuralmente diversos, experimentales y quimioterapéuticos. Tales cepas de VIH resistentes a múltiples fármacos se encuentran típicamente en los pacientes infectados, que se habían sometido a tratamiento con una combinación de inhibidores de la proteasa del VIH o una serie de inhibidores de la proteasa del VIH diferentes. El número de casos reportados de pacientes infectados con el VIH multirresistente se está aumentando dramáticamente. Trágicamente para estos pacientes, las opciones disponibles para la quimioterapia contra el SIDA y/o la gestión del VIH es muy limitada o es, por lo demás, totalmente inexistente.

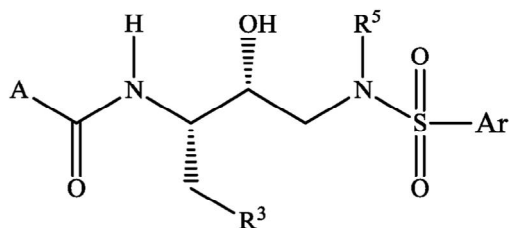
[0016] La resistencia a fármacos es, por desgracia, la razón más común para las fallas de fármacos en general. Uno de los ejemplos más dramáticos de fracaso del tratamiento debido a la resistencia es en la terapia del VIH. Una vez que se obtiene la resistencia del VIH a la terapia de primera línea, las posibilidades de éxito en el futuro se ven disminuidas en gran medida debido al desarrollo de resistencia cruzada a múltiples fármacos. Otras enfermedades relacionadas con agentes infecciosos (por ejemplo, virus, bacterias, protozoos, y priones) u otras células causantes de enfermedades (por ejemplo, células tumorales) presentan retos similares en que la resistencia a las drogas es una causa principal de fracaso del tratamiento.

[0017] En vista de los problemas anteriores, existe una necesidad de determinar si un mutante será capaz de replicarse en presencia de un fármaco. También existe una necesidad de un método de predecir si la resistencia a fármacos es probable que surja en una enfermedad que implica una entidad biológica replicante. También hay una necesidad de un método de elaboración de un régimen terapéutico a largo plazo que minimiza la probabilidad de que la resistencia se producirá en una enfermedad que implica una entidad biológica replicante. Por otra parte, hay una necesidad de un método para prevenir o inhibir el desarrollo de resistencia a fármacos en estas enfermedades.

[0018] La presente invención proporciona una cantidad eficaz inhibidora de la resistencia de un compuesto tal como se detalla en la reivindicación 1 para su uso en el tratamiento de un mamífero infectado por el VIH que está infectado con un VIH mutante. Estas y otras ventajas de la presente invención, así como características inventivas adicionales, serán evidentes a partir de la descripción de la invención proporcionada en este documento.

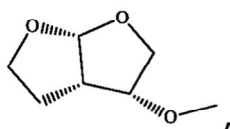
BREVE RESUMEN DE LA INVENCION

[0019] La invención proporciona una cantidad eficaz inhibidora de la resistencia de un compuesto de fórmula:



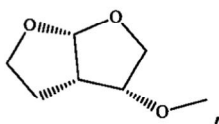
donde:

(i) A es

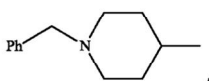


R^3 es fenilo, R^5 es isobutilo, y Ar es fenilo sustituido con un grupo m-hidroxilo, un grupo m o p-hidroximetilo, o un grupo p-aminometilo;

(ii) A es

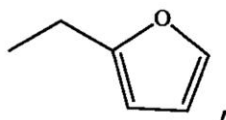


R^3 es



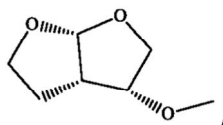
R^5 es isobutilo, y Ar es p-metoxifenilo;

(iii) A es R^3 es fenilo, R^5 es



y Ar es m-metoxifenilo; o

(iv) A es



R^3 es fenilo, R^5 es isobutilo, y Ar es p-aminofenilo.

para su uso en el tratamiento de un mamífero infectado por el VIH que está infectado con un VIH mutante, en combinación con un agente antiviral seleccionado del grupo que consiste en ritonavir, indinavir y saquinavir en un vehículo farmacéuticamente aceptable, en el que dicho tratamiento previene la aparición de resistencia a los medicamentos debido a mutaciones adicionales.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0020]

Fig. 1 ilustra la síntesis de un núcleo de isómero sulfonamida particular de un compuesto descrito en este documento.

Fig. 2 ilustra la síntesis de un ligando bis-tetrahidrofurano y la resolución óptica de los mismos.

Fig. 3A ilustra la síntesis de un compuesto de la presente invención a través del acoplamiento de un ligando bis-tetrahidrofurano a un isómero de sulfonamida de la presente invención.

Fig. 3B ilustra la síntesis de un compuesto de la presente invención a través del acoplamiento de un ligando bis-tetrahidrofurano a un isómero de sulfonamida de la presente invención.

Fig. 4 ilustra en general la síntesis de un compuesto descrito en el presente documento.

Figs. 5A-5D ilustran las estructuras de compuestos específicos que se ensayaron frente a varios mutantes de VIH resistentes a fármacos.

DESCRIPCIÓN DE LAS REALIZACIONES PREFERIDAS

[0021] La presente invención se basa en el descubrimiento sorprendente e inesperado de que la "vitalidad" de una diana bioquímica de una entidad biológica mutante replicante con respecto al objetivo bioquímico de su predecesor se puede utilizar para predecir la aptitud biológica del mutante bajo la presión de selección de un inhibidor de la diana bioquímica. La "vitalidad" de una diana bioquímica de una entidad biológica de mutante de replicación con relación a la "vitalidad" de la diana bioquímica de su predecesor se define aquí como la "aptitud bioquímica."

[0022] "Vitalidad" según se utiliza en el presente documento describe la capacidad de un "objetivo" biomolecular particular (es decir, una especie bioquímica destinada a ser inhibida por un inhibidor particular) para realizar su función bioquímica en presencia del inhibidor. La vitalidad bioquímica es una función de al menos dos variables: la capacidad de un inhibidor particular para inhibir una diana bioquímica de la entidad biológica replicante en cuestión, y la capacidad de la diana bioquímica de la célula para realizar inherentemente su función bioquímica (independientemente de un inhibidor). Vitalidad bioquímica puede incluir también otros factores que afectan la capacidad de una diana bioquímica para realizar su función bioquímica en presencia del inhibidor.

[0023] El objetivo bioquímico en cuestión puede incluir, por ejemplo, una especie bioquímica con una o más funciones biológicas conocidas o desconocidas. El objetivo bioquímico puede ser, por ejemplo, una especie bioquímica que tiene una o más función bioquímica específica, o puede ser una especie bioquímica que afecta o influencia una función bioquímica directa o indirectamente. Objetivos bioquímicos adecuados incluyen, por ejemplo, enzimas, proteínas, oligómeros, receptores, y similares. Las enzimas adecuadas incluyen, por ejemplo, transcriptasas inversas, proteasas (por ejemplo, proteasas retrovirales, plasmepsinas, y similares), metilasas, oxidasas, esterasas, transferasas de acilo, y similares. Las enzimas adecuadas incluyen también, por ejemplo, helicasas virales y no virales, topoisomerasas, girasas de ADN, polimerasas de ADN y ARN, proteasas de parásitos codificada, y similares.

[0024] Las proteínas adecuadas incluyen, por ejemplo, las proteínas que incorporan un cambio conformacional como un requisito importante de funcionamiento, y similares. Ejemplos de tales proteínas incluyen gp41 del VIH y otras proteínas virales fusogénicas y péptidos, topoisomerasas, y todas las enzimas de ADN, y similares.

[0025] Oligómeros adecuados incluyen, por ejemplo, oligómeros que requieren oligomerización con el fin de realizar su función bioquímica. Ejemplos de tales oligómeros incluyen la proteasa de VIH, proteínas de fusión retrovirales, péptidos, VIH gp 41, las proteínas de fusión de membranas virales y no virales, proteínas supresoras de tumor (por ejemplo, p53, y similares) priones, los ribosomas, y similares.

[0026] La capacidad de un inhibidor particular para inhibir una diana bioquímica de una entidad biológica replicante particular puede determinarse mediante cualquier método adecuado y/o se puede obtener de cualquier fuente adecuada. La capacidad de un inhibidor particular para inhibir una función bioquímica de una entidad biológica replicante se puede determinar, por ejemplo, sobre la base de una propiedad medible, o una relación mensurable de propiedades, que se correlaciona con la capacidad del inhibidor para inhibir el objetivo. Los métodos adecuados para la determinación de la capacidad del inhibidor para inhibir el objetivo incluyen, por ejemplo, ensayos, y similares. En algunos casos, la capacidad del inhibidor para inhibir el objetivo puede obtenerse a partir de una o más fuentes adecuadas, por ejemplo, los datos del ensayo de una base de datos, un libro de texto, o la literatura.

[0027] Cuando el objetivo bioquímico es una proteína, la capacidad de un inhibidor para inhibir la proteína se puede determinar, por ejemplo, mediante la obtención de constante de equilibrio de disociación (K_d) de unión de fármaco a la diana donde la unión de drogas interfiere con la función de la proteína.

[0028] Cuando el objetivo bioquímico es una enzima, la capacidad de un inhibidor para inhibir la enzima se puede determinar, por ejemplo, mediante la obtención de la constante de inhibición (K_{inh}), o similares. La constante de inhibición puede ser en términos de inhibición constante de fármaco para el efecto del fármaco sobre la catálisis del sustrato (por ejemplo, K_i) o constante de disociación para el fármaco de unión (por ejemplo, K_d), donde las correlaciones de unión con la inhibición de la función de la enzima de drogas.

[0029] Cuando el objetivo bioquímico es un oligómero, la capacidad de un inhibidor para inhibir el oligómero se puede determinar, por ejemplo, mediante la obtención de la disociación constante de equilibrio (K_d) para el fármaco de unión donde interfiere con la unión de oligomerización de la diana de fármaco.

[0030] Cuando el objetivo bioquímico es una proteína que requiere un cambio de conformación para su función, la capacidad de un inhibidor para inhibir el cambio conformacional se puede determinar, por ejemplo, mediante la obtención de la constante de equilibrio de disociación (K_d) para el fármaco de unión donde la droga interfiere con el cambio conformacional de la diana de unión.

[0031] Cuando el objetivo bioquímico es una proteína que se requiere para unirse a un ligando, macromolécula, o complejo macromolecular para llevar a cabo su función bioquímica, la capacidad de un inhibidor para inhibir la función de la proteína se puede determinar mediante la obtención de la constante de disociación de equilibrio (K_d) para la unión de drogas, donde interfiere con la unión del ligando vinculante de drogas, unión de macromolécula o unión de complejo macromolecular.

[0032] Cuando el objetivo bioquímico es una proteína de unión de ácido nucleico, la capacidad de un inhibidor para inhibir la función de proteína de unión de ácido nucleico se puede determinar mediante la obtención de la disociación constante de equilibrio (K_d) para la unión de fármaco donde unión de fármaco interfiere con ácido nucleico de unión del ácido nucleico.

[0033] Vitalidad también es una función de la capacidad de la diana bioquímica para realizar inherentemente su función bioquímica (con independencia de un inhibidor). La capacidad de la diana bioquímica para realizar inherentemente su función bioquímica se puede determinar por cualquier método adecuado y/o se puede obtener de cualquier fuente adecuada. La capacidad de la diana bioquímica para realizar inherentemente su función bioquímica se puede determinar, por ejemplo, sobre la base de una propiedad medible, o relación mensurable de propiedades, que se correlacionan con la capacidad de la capacidad del objetivo bioquímico para realizar inherentemente su función bioquímica. Los métodos adecuados para la determinación de la capacidad de la diana bioquímica para realizar inherentemente su función bioquímica incluye, por ejemplo, ensayos bioquímicos, y similares. En algunos casos, la capacidad de la diana bioquímica de una célula para realizar inherentemente su función bioquímica puede obtenerse a partir de una o más fuentes adecuadas, por ejemplo, los datos del ensayo de una base de datos, un libro de texto, o la literatura.

[0034] Cuando el objetivo bioquímico es una enzima, la capacidad de la enzima para llevar a cabo su función bioquímica inherente se puede determinar, por ejemplo, mediante la determinación de la eficiencia catalítica de la enzima. Por ejemplo, la eficiencia catalítica de las enzimas que exhiben una cinética de Michaelis-Menten se puede determinar mediante la obtención de la relación de k_{cat}/K_M , o por un método similar, en el que la k_{cat} es la velocidad catalítica y K_M es la constante de Michaelis.

[0035] Cuando el objetivo bioquímico es una proteína, la capacidad de la proteína para llevar a cabo su función bioquímica inherente puede ser determinada, por ejemplo, mediante la obtención de la constante de equilibrio (K_{eq}) para la función bioquímica de la proteína, o similares.

[0036] Cuando el objetivo bioquímico es un oligómero, la capacidad de un inhibidor para llevar a cabo su función biológica se puede determinar, por ejemplo, mediante la obtención de la constante de equilibrio (K_{eq}) que está asociado con la oligomerización.

5 **[0037]** Cuando el objetivo bioquímico es una proteína que requiere un cambio de conformación para su función, la capacidad del objetivo para realizar su función se puede determinar, por ejemplo, mediante la obtención de la constante de equilibrio (K_{eq}) asociado con el cambio conformacional.

10 **[0038]** Cuando el objetivo bioquímico es una proteína que se requiere para unirse a un ligando para realizar su función, la capacidad del objetivo para realizar su función se puede determinar, por ejemplo, mediante la obtención de la constante de equilibrio de disociación (K_d) para la unión de ligando.

15 **[0039]** Cuando el objetivo bioquímico es una proteína de unión de ácido nucleico, la capacidad de un inhibidor para realizar su función se puede determinar mediante la obtención de la constante de equilibrio de disociación (K_d) para la unión de ácidos nucleicos.

20 **[0040]** Se apreciará que la vitalidad también puede ser una función de otros factores que afectan a la capacidad de una diana bioquímica para llevar a cabo su función bioquímica en presencia del inhibidor. Si el objetivo bioquímico es una especie dimérica, por ejemplo, otros factores que influyen en la vitalidad bioquímica podrían incluir la capacidad de la especie para dimerizar en la presencia y/o en ausencia del inhibidor. Si, a modo de ejemplo, una mutación hace que la tasa de dimerización se convierta en un factor en la función bioquímica de la diana bioquímica de los mutantes en relación a la de su predecesor, a continuación, la tasa de dimerización puede ser incluida en la determinación de vitalidad.

25 **[0041]** Las vitalidades bioquímicas de una entidad biológica mutante de replicación y su predecesor, en comparación, describen la aptitud bioquímica del objetivo de la célula mutante. De acuerdo con la invención, se ha encontrado que la aptitud bioquímica se refiere a la aptitud biológica de los mutantes en presencia del inhibidor. Cuando el valor de la vitalidad bioquímica del objetivo del mutante supera el valor para la vitalidad bioquímica del objetivo de un predecesor del mutante, el objetivo de la mutante tiene una mayor aptitud bioquímica en presencia del inhibidor. En tales casos, la entidad biológica mutante de replicación se ve favorecida por el predecesor y es probable que se desarrolle una resistencia al inhibidor que se utiliza para tratar el precursor.

35 **[0042]** Vitalidad bioquímica se puede determinar de muchas maneras diferentes que relacionan adecuadamente los diversos factores relacionados con la vitalidad bioquímica de la diana. Por ejemplo, una función matemática puede ser utilizada para relacionar los diversos factores. A modo de ilustración, cuando el objetivo bioquímico es una enzima, la vitalidad se puede determinar como una función de K_{inh} (por ejemplo, K_i o K_d) y enzimática o eficiencia catalítica (por ejemplo, K_{cat}/K_M). Vitalidad puede ser determinada como el producto de K_{inh} y la eficiencia enzimática, por ejemplo, $(K_{inh}) \times (\text{eficiencia catalítica})$, o $(K_i) \times (\text{eficiencia catalítica})$ o $(K_d) \times (\text{eficiencia catalítica})$. Alternativamente, la vitalidad se puede determinar, por ejemplo, como el registro del producto de la K_{inh} y la eficiencia enzimática, por ejemplo, $\log [(K_{inh}) \times (\text{eficiencia catalítica})]$, o $\log [(K_i) \times (\text{eficiencia catalítica})]$ o $\log [(K_d) \times (\text{eficiencia catalítica})]$. Del mismo modo, para las enzimas que exhiben una cinética de Michaelis-Menten, la vitalidad se puede determinar como una función de K_{inh} (por ejemplo, K_i o K_d) y la relación k_{cat}/K_M . Por ejemplo, la vitalidad se puede determinar como el producto de K_{inh} y k_{cat}/K_M , por ejemplo, $(K_{inh}) \times (k_{cat}/K_M)$, en el que K_{inh} es K_i o K_d . Alternativamente, la vitalidad se puede determinar, por ejemplo, como el registro del producto de la K_{inh} y k_{cat}/K_M , por ejemplo, $\log [(K_{inh}) \times (k_{cat}/K_M)]$, en el que K_{inh} es K_i o K_d . El objetivo bioquímico puede ser una enzima y la vitalidad es $(K_i) \times (k_{cat}/K_M)$, o $\log [(K_i) \times (k_{cat}/K_M)]$.

50 **[0043]** "Aptitud", a menos que se indique lo contrario, significa la aptitud bioquímica. "Aptitud bioquímica" según se utiliza en el presente documento es un valor que representa la vitalidad de una diana bioquímica de un mutante de replicación de entidad biológica con respecto a la vitalidad del objetivo bioquímico de su predecesor. Aptitud bioquímica se determina comparando la vitalidad de una diana bioquímica de una entidad biológica mutante de replicación respecto a la de su predecesor. Cualquier comparación adecuada de la vitalidad de una diana bioquímica de una entidad biológica mutante de replicación con relación a la de su predecesor se puede utilizar en la determinación de la aptitud. Por ejemplo, la aptitud bioquímica puede determinarse como la diferencia entre la vitalidad bioquímica de una diana bioquímica de un predecesor (vitalidad bioquímica_{pred}) y la vitalidad bioquímica del objetivo bioquímico de un mutante particular, la replicación de entidad biológica que puede evolucionar desde el predecesor (vitalidad bioquímica_{mut}), por ejemplo, (vitalidad bioquímica_{mut})-(vitalidad bioquímica_{pred}). Si la aptitud bioquímica se determina sobre la base de esta diferencia, entonces un valor positivo indica que el mutante tiene una mayor aptitud en relación a su predecesor en la presencia del inhibidor, mientras que un valor negativo indica que el mutante es menos conveniente en relación a su predecesor. Un valor de cero indica que el estado físico de la mutante y el predecesor son iguales. Un valor más alto positivo indica una mayor probabilidad de que la resistencia al inhibidor emergerá, mientras que un valor negativo más alto indica una menor probabilidad de que la resistencia al inhibidor emergerá.

65 **[0044]** Alternativamente, y preferiblemente, la aptitud puede determinarse como el cociente de dos vitalidades bioquímicas, por ejemplo, como el cociente de una diana bioquímica de un mutante particular, la replicación de

entidad biológica y la vitalidad bioquímica del objetivo bioquímico de un predecesor, por ejemplo,

$$\text{aptitud} = \text{vitalidad}_{\text{mut}} / \text{vitalidad}_{\text{pred}}$$

Si la aptitud se determina sobre la base de este registro, a continuación, un valor mayor que uno indica que el mutante tiene una mayor aptitud en relación a su predecesor, en presencia del inhibidor. Un valor negativo indica que el mutante es menos conveniente en relación a su predecesor. Un valor de cero indica que el estado físico de la mutante y el predecesor son iguales. Un valor más alto positivo indica una mayor probabilidad de que la resistencia al inhibidor/drogas emergerá, mientras que un valor positivo más bajo indica una menor probabilidad de que la resistencia al inhibidor/drogas emergerá. Un valor negativo indica que el mutante no surgirá en presencia del inhibidor/de drogas.

[0045] La aptitud puede ser determinada en presencia de cualquier compuesto adecuado que inhibe una diana bioquímica contra el desempeño de su función biológica. El inhibidor, por ejemplo, puede ser un compuesto que inhibe una enzima. Inhibidores de la enzima adecuados incluyen, por ejemplo, inhibidores de la proteasa, inhibidores de la transcriptasa, inhibidores de la ADN polimerasa, inhibidores de metilasa, oxidasa, inhibidores de la esterasa, inhibidores de la transferasa de acil, y similares.

[0046] Inhibidores de la proteasa adecuados incluyen, por ejemplo, inhibidores de la proteasa viral, inhibidores de plasmepsina, e inhibidores de la cathepsina D. El inhibidor es preferiblemente un inhibidor de proteasa viral, más preferiblemente un inhibidor de la proteasa retroviral, aún más preferiblemente un VIH-1 o un inhibidor de proteasa de VIH-2, y lo más preferiblemente y el inhibidor de proteasa de VIH-1. Inhibidores de proteasa de VIH-1 ejemplares incluyen, por ejemplo, saquinavir, ritonavir, indinavir, nelfinavir, amprenavir, e inhibidores de proteasa de VIH-1 que están siendo sometidos a ensayos clínicos, por ejemplo, tipranavir (PNU-140690).

[0047] Los inhibidores de plasmepsina adecuados incluyen, por ejemplo, los inhibidores de plasmepsina I o II, incluyendo inhibidores de la plasmepsina I o II que tienen actividad antimalárica. Los inhibidores adecuados de la cathepsina D incluyen, por ejemplo, inhibidores de la cathepsina D que inhiben la cathepsina D en tejidos de cáncer de mama primario, incluyendo inhibidores de la cathepsina D que inhiben la cathepsina D en tejidos de cáncer de mama primario y se espera para reducir el riesgo de metástasis y/o supervivencia libre de recaída más corta en pacientes con cáncer de mama. Véase, por ejemplo, Gulnik et al., J. Mol. Biol., 227, 265-270 (1992).

[0048] Los inhibidores de la transcriptasa inversa adecuados incluyen, por ejemplo, inhibidores de la transcriptasa inversa retroviral, por ejemplo, AZT, 3TC, ddI, ddC, d4T, y similares.

[0049] Inhibidores de la proteína adecuados incluyen, por ejemplo, los compuestos que inhiben un cambio conformacional en una proteína, y similares. Inhibidores de oligomerización adecuados incluyen, por ejemplo, inhibidor de péptido T-20 de la fusión VIH-1 y otros compuestos que inhiben oligómeros de oligomerización en una superficie celular o dentro de una membrana celular.

[0050] La aptitud en la presencia de un inhibidor se puede determinar por una entidad biológica que produce o incluye una diana biológica del inhibidor. La entidad biológica es preferiblemente una entidad biológica replicante, por ejemplo, un virus, un parásito, o una célula, preferiblemente una célula que causa la enfermedad. Entidades biológicas de replicación causantes de enfermedades incluyen, por ejemplo, células tumorales, células cancerosas, y los organismos infecciosos (por ejemplo, hongos, protozoos, bacterias, y similares) y priones.

[0051] Las células de cáncer incluyen, por ejemplo, células asociadas con el cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de pulmón, y similares. La aptitud puede ser determinada por una célula tumoral de rápido crecimiento.

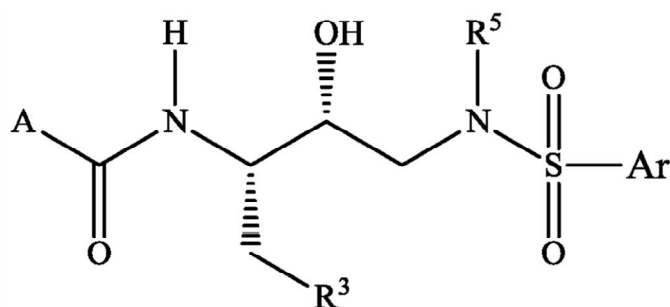
[0052] Los hongos incluyen, por ejemplo, *Candida albicans*, y similares. Los protozoos incluyen, por ejemplo, *Tripanosoma* especies, especies *Schistosoma*, protozoos *Plasmodium*, especies de *Plasmodium* incluyen, por ejemplo, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, y similares. Las bacterias incluyen, por ejemplo, *Helicobacter pylori*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus anthrax*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Influenza Hemophilus*, y similares. Los virus incluyen, por ejemplo, los retrovirus (por ejemplo, VIH-1 y VIH-2), virus del herpes, citomegalovirus, virus de la gripe, virus de Epstein-Barr (EBV), virus del sarcoma de herpes de Kaposi (VHSK), virus varicellazoster (VZV), virus de papiloma humana (VPH), echovirus, picornavirus, los rinovirus, poliovirus, virus coxsackie, sarampión, las paperas, virus de leucemia de células T humanas (HTLV-1), rubéola, rotavirus, virus de fiebre amarilla, virus del ébola y otros virus patógenos, y similares.

[0053] Entidades biológicas replicantes incluyen también los organismos multicelulares, por ejemplo, microorganismos infecciosos, por ejemplo, helmintos. Los helmintos incluyen, por ejemplo, parásitos intestinales (por ejemplo, *Ancylostoma duodenale*) *Strongyloides stercoralis*, *Fasciola hepatica*, *Trichuris trichiura*, *Trichinella spiralis*, *Taenia solium*, *Taenia saginata*, y similares.

[0054] Se cree que la resistencia a fármacos es el resultado de la evolución de la selección basada en la aptitud de

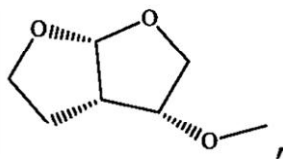
células/microorganismos mutantes en la presencia de un medicamento (o cualquier compuesto que tiene actividad biológica). De acuerdo con la presente invención, la aparición (o no-emergencia) de resistencia a fármacos en una enfermedad causada por una enfermedad que causa la replicación de entidad biológica puede predecirse mediante la determinación de la aptitud de un objetivo bioquímico de un mutante en presencia de la droga. Por lo tanto, la aparición (o no-emergencia) de resistencia a los medicamentos se puede predecir sobre la base de la aptitud bioquímica. Mientras que los perfiles de resistencia pueden, en algunos casos, reflejar aptitud, no se puede suponer que la aparición de resistencia a los medicamentos para un mutante particular puede predecirse directamente sobre la base de su perfil de resistencia solo.

[0055] La presente invención proporciona una cantidad eficaz inhibidora de la resistencia de un compuesto de fórmula:



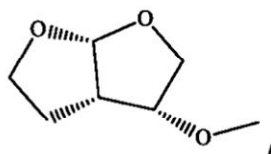
en el que:

(i) A es

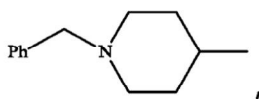


R^3 es fenilo, R^5 es isobutilo, y Ar es fenilo sustituido con un grupo m-hidroxilo, un grupo m o p-hidroximetilo, o un grupo p-aminometilo;

(ii) A es

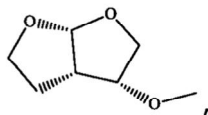


R^3 es

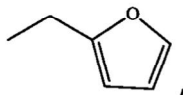


R^5 es isobutilo, y Ar es p-metoxifenilo;

(iii) A es

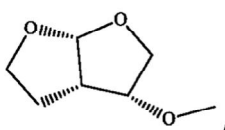


R³ es fenilo, R⁵ es



y Ar es m-metoxifenilo; o

(iv) A es



R³ es fenilo, R⁵ es isobutilo, y Ar es p-aminofenilo

para su uso en el tratamiento de un mamífero infectado por el VIH que está infectado con un VIH mutante, en combinación con un agente antiviral seleccionado del grupo que consiste en ritonavir, indinavir y saquinavir en un vehículo farmacéuticamente aceptable, en el que dicho tratamiento previene la aparición de resistencia a los medicamentos debido a mutaciones adicionales. Una cantidad eficaz inhibidora de la resistencia es una cantidad suficiente para producir una concentración *in vivo* de drogas o el nivel en el que la vitalidad bioquímica de un VIH mutante es más bajo que la vitalidad bioquímica del VIH (predecesor) infectar el mamífero infectado por el VIH. Por ejemplo, una cantidad eficaz inhibidora de resistencia es una cantidad suficiente para producir una concentración *in vivo* de drogas o nivel en el que el valor para la aptitud bioquímica es menor que uno, cuando se determina por la relación de la vitalidad bioquímica de los mutantes a la vitalidad bioquímica del predecesor. El compuesto se puede administrar a un mamífero de tipo silvestre infectado con VIH para prevenir la aparición de resistencia de primera línea, o se puede administrar a un mamífero infectado con un mutante con el VIH para prevenir la aparición de resistencia a los medicamentos debido a mutaciones adicionales.

[0056] El compuesto se administra preferiblemente en forma de una composición farmacéutica. La composición farmacéutica incluye preferiblemente un vehículo farmacéuticamente aceptable y una cantidad eficaz de resistencia de inhibición de al menos uno de los compuestos antes mencionados, solo o en combinación con otro compuesto antirretroviral, como, por ejemplo, un inhibidor de proteasa de VIH de tipo silvestre, un inhibidor de proteasa retroviral de VIH mutante, o un inhibidor de transcriptasa inversa.

[0057] Los vehículos farmacéuticamente aceptables son bien conocidos por los expertos en la técnica. La elección de un vehículo se determinará en parte por la composición particular, así como por el modo particular de administración. En consecuencia, hay una amplia variedad de formulaciones adecuadas para la administración.

[0058] La composición farmacéutica se puede administrar en una forma adecuada para uso oral, tales como, por ejemplo, comprimidos, trociscos, pastillas, suspensiones o soluciones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras o blandas, jarabes o elixires. Las composiciones destinadas a uso oral pueden prepararse de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica de la fabricación de composiciones farmacéuticas, y tales composiciones pueden contener uno o más agentes tales como, por ejemplo, agentes endulzantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes, y agentes conservantes, edulcorantes con el fin de proporcionar una preparación farmacéuticamente elegante y/o agradable al paladar. Las tabletas pueden contener el ingrediente activo en mezcla con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos que son adecuados para la fabricación de tabletas. Tales excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes tales como, por ejemplo, carbonato de calcio, lactosa, fosfato cálcico o fosfato sódico; de granulación y agentes disgregantes tales como, por ejemplo, almidón de maíz o ácido algínico; agentes aglutinantes tales como, por ejemplo, almidón, gelatina o acacia, y agentes lubricantes tales como, por ejemplo, ácido esteárico o talco. Los comprimidos pueden estar sin recubrir o pueden estar recubiertos mediante técnicas conocidas para retrasar la desintegración y absorción en el tracto gastrointestinal y proporcionar así una acción sostenida durante un período más largo. Por ejemplo, puede emplearse un material de retardo temporal tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo solo o con una cera.

[0059] Las formulaciones para uso oral también pueden presentarse como cápsulas de gelatina dura en las que el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda en las que el ingrediente activo se mezcla con agua o un medio de aceite, por ejemplo aceite de cacahuete, aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

[0060] Las suspensiones acuosas contienen normalmente los materiales activos en mezcla con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Tales excipientes son agentes de suspensión, por ejemplo, carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, tragacanto de goma y acacia de gam; agentes dispersantes o humectantes pueden ser un fosfátido de origen natural, por ejemplo, lecitina, o productos de condensación de un óxido de alquileno con ácidos grasos, por ejemplo estearato de polioxietileno, o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo heptadecaetilenoxietanol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y un hexitol tales como monooleato de polioxietileno sorbitol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo poli oxietileno sorbitán mono-oleato. Las suspensiones acuosas también pueden contener uno o más conservantes, por ejemplo, benzoato de etilo o n-propilo p-hidroxi, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes aromatizantes y uno o más agentes edulcorantes tales como, por ejemplo, sacarosa o sacarina.

[0061] Suspensiones oleosas se pueden formular suspendiendo el ingrediente activo en un aceite vegetal, por ejemplo aceite de cacahuete, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco, o en un aceite mineral tal como parafina líquida. Las suspensiones en aceite pueden contener un agente espesante, por ejemplo cera de abejas, parafina dura o alcohol cetílico. Los agentes edulcorantes, tales como los expuestos anteriormente, y agentes aromatizantes se pueden añadir para proporcionar una preparación oral de sabor agradable. Estas composiciones se pueden conservar mediante la adición de un antioxidante tal como, por ejemplo, ácido ascórbico.

[0062] Los polvos y gránulos dispersables adecuados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua proporcionan el ingrediente activo en mezcla con un agente dispersante o humectante, agente de suspensión y uno o más pre conservantes. Los agentes dispersantes o humectantes y de suspensión se ejemplifican por los ya mencionados anteriormente. Excipientes adicionales, por ejemplo edulcorantes, aromatizantes y agentes colorantes, también pueden estar presentes.

[0063] La composición farmacéutica se puede administrar también en forma de emulsiones de aceite-en-agua. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal, por ejemplo, aceite de oliva o aceite de cacahuete, o un aceite mineral, por ejemplo parafina líquida o mezclas de éstos. Agentes emulsionantes adecuados pueden ser gomas de origen natural, por ejemplo goma de acacia o goma de tragacanto, fosfátidos naturales, por ejemplo lecitina de semilla de soja, y ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo monooleato de sorbitán y productos de condensación de dichos ésteres parciales y óxido de etileno, por ejemplo polioxietileno sorbitán mono-oleato. Las emulsiones también pueden contener agentes edulcorantes y aromatizantes.

[0064] La composición farmacéutica también puede administrarse en forma de jarabes y elixires, que típicamente se formulan con agentes edulcorantes tales como, por ejemplo, glicerol, sorbitol o sacarosa. Tales formulaciones también pueden contener un demulcente, un conservante y agentes aromatizantes y colorantes.

[0065] Además, la composición farmacéutica se puede administrar en forma de una preparación inyectable estéril, por ejemplo, como una suspensión oleaginosa inyectable estéril acuosa. Las suspensiones adecuadas para la administración parenteral se pueden formular según la técnica conocida usando los agentes dispersantes o humectantes y agentes que se han mencionado anteriormente de suspensión. Las formulaciones adecuadas para administración parenteral incluyen, por ejemplo, soluciones para inyección estériles isotónicas acuosas y no acuosas, y, que puede contener antioxidantes, tampones, bacteriostatos, y solutos que hacen la formulación isotónica con la sangre del receptor previsto, y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión, solubilizantes, agentes espesantes, estabilizantes, y conservantes. La preparación inyectable estéril puede ser una solución o una suspensión en un diluyente parenteralmente aceptable no tóxico o disolvente, por ejemplo, como una solución en agua o 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que se pueden emplear, por ejemplo, están el agua, solución de Ringer y solución isotónica de cloruro sódico. Además, los aceites fijos estériles se emplean convencionalmente como medio disolvente o de suspensión. Para este propósito cualquier aceite fijo suave puede ser empleado incluyendo monoglicéridos o diglicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos tales como, por ejemplo, ácido oleico encuentran uso en la preparación de inyectables.

[0066] Además, el compuesto se puede administrar en forma de supositorios para la administración rectal del fármaco. Estas composiciones se pueden preparar mezclando el fármaco con un excipiente no irritante adecuado que es sólido a temperaturas ordinarias pero líquido a la temperatura rectal y por lo tanto se fundirá en el recto para liberar el fármaco. Tales materiales incluyen, por ejemplo, manteca de cacao y polietilenglicoles. Las formulaciones adecuadas para administración vaginal pueden presentarse como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, y espumas.

[0067] Las formulaciones adecuadas para administración tópica se pueden presentar como cremas, geles, pastas, o

espumas, que contienen, además el ingrediente activo, vehículos tales como se conocen en la técnica como apropiados.

[0068] La composición se puede convertir en una formulación de aerosol para administrarse por inhalación. Tales formulaciones de aerosol se pueden colocar en propelentes presurizados aceptables, tales como diclorodifluorometano, propano, nitrógeno, y similares. También se pueden formular como productos farmacéuticos para preparaciones no presurizadas tales como en un nebulizador o un atomizador.

[0069] Las formulaciones se pueden presentar en contenedores sellados de dosis unitaria o multi-dosis, tales como ampollas y viales, y pueden almacenarse en un estado liofilizado (liofilizado) que requiere sólo la adición del excipiente líquido estéril, por ejemplo, agua, para inyecciones, inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y suspensiones para inyección extemporánea se pueden preparar a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos del tipo descrito previamente.

[0070] Cualquier nivel de dosificación adecuado puede emplearse en las composiciones farmacéuticas de la presente invención. los dosis administrada a un animal, particularmente un ser humano, en el contexto de la presente invención debe ser suficiente para efectuar una respuesta profiláctica o terapéutica en el animal durante un marco de tiempo razonable. La cantidad de ingrediente activo que se puede combinar con los materiales portadores para producir una forma de dosificación única variará dependiendo del huésped tratado y del modo particular de administración. El tamaño de la dosis también será determinado por la existencia, naturaleza y extensión de cualquier efecto secundario adverso que pueda acompañar la administración de una composición particular. Las dosis adecuadas y los regímenes de dosificación para la prevención de la resistencia a los fármacos pueden determinarse mediante comparaciones con agentes quimioterapéuticos antirretrovirales que se sabe que inhiben la proliferación de un retrovirus en un individuo infectado. La dosis preferida es la cantidad que resulta en la inhibición de la aparición de retrovirus mutantes resistentes a los fármacos, en particular la aparición de VIH retroviral resistente a múltiples fármacos, sin efectos secundarios significativos. En dosis apropiadas y con la administración apropiada de ciertos compuestos, es posible una amplia gama de composiciones quimioterapéuticos antirretrovirales. Una dosis adecuada incluye una dosis o dosis que sería insuficiente para suprimir completamente el crecimiento de un virus de tipo silvestre o precursor, pero sería suficiente para inhibir o suprimir el crecimiento de un mutante con eficacia.

[0071] De acuerdo con la presente invención, el compuesto o composición es para ser administrado en combinación con otros compuestos antirretrovirales seleccionados entre ritonavir, saquinavir, indinavir y, en un vehículo farmacéuticamente aceptable. Las dosis diarias individuales para estas combinaciones pueden variar de aproximadamente una quinta parte de las dosis clínicas recomendadas mínimamente a los niveles máximos recomendados para las entidades cuando se dan por separado.

[0072] También se describe, pero no forma parte de la presente invención es un método para prevenir la aparición de los retrovirus multiresistentes en un mamífero infectado con VIH, método que comprende la administración al mamífero de una cantidad eficaz inhibidora a la resistencia de múltiples fármacos de un compuesto de la presente invención, para así inhibir la aparición de un retrovirus resistente a múltiples fármacos en el mamífero. La dosis administrada a un animal, particularmente un ser humano debería ser suficiente para efectuar una respuesta terapéutica en el animal durante un marco de tiempo razonable. La dosis será determinada por la fuerza de la composición particular empleada y la condición del animal, así como el peso corporal del animal a tratar. El tamaño de la dosis también será determinado por la existencia, naturaleza y extensión de cualquier efecto secundario adverso que pueda acompañar la administración de un compuesto particular. Otros factores que afectan la dosis específica incluyen, por ejemplo, la biodisponibilidad, el perfil metabólico, y la farmacodinámica asociada con el compuesto particular a administrar en un paciente particular. Un experto en la técnica reconocerá que el nivel de dosis específica para cualquier paciente particular dependerá de una variedad de factores que incluyen, por ejemplo, la actividad del compuesto específico empleado, edad, peso corporal, salud general, sexo, dieta, tiempo de administración, vía de administración, velocidad de excreción, combinación de fármacos, recuento de CD4, la potencia del compuesto activo con respecto a la cepa retroviral mutante particular a ser inhibida, y la gravedad de los síntomas presentados antes de o durante el curso de la terapia. Lo que constituye una cantidad eficaz inhibidora de la resistencia puede ser determinada, en parte, mediante el uso de uno o más de los ensayos descritos en el presente documento, particularmente el ensayo de aptitud.

[0073] Un experto en la técnica apreciará que métodos adecuados de administración de los compuestos y composiciones farmacéuticas están disponibles, y, aunque más de una ruta puede utilizarse para administrar una composición particular, una ruta particular puede proporcionar una reacción más inmediata y/o más eficaz que otra ruta.

[0074] Numerosos compuestos han sido identificados que presentan actividad antirretroviral de gran actividad, en particular, la actividad de la proteasa retroviral, contra el VIH de tipo silvestre. Sin embargo, entre los quince agentes antirretrovirales actualmente aprobados por la FDA que son todos inhibidores potentes conocidos de VIH de tipo silvestre, cinco de los cuales son inhibidores potentes de proteasa de VIH de tipo silvestre, ninguno de estos compuestos tienen la capacidad de prevenir la aparición de las drogas mutaciones de resistencia que se asocian

con resistencia cruzada de alto nivel. Por lo tanto, estos inhibidores no tienen la capacidad de suprimir los retrovirus mutantes suficientemente aptos que puede (y casi seguramente lo hará) surgir bajo la presión de selección de estos inhibidores.

[0075] Sorprendentemente, se ha descubierto que el compuesto 32 (que se muestra en la Figura 3A), el cual es un inhibidor de VIH de tipo silvestre potente, posee actividad inhibidora de amplio espectro notablemente potente y sin precedentes contra un panel de objetivos de proteasa de VIH recombinantes mutantes. Estas enzimas representan las mutaciones de resistencia clave o primarias, la mayoría de los cuales se producen en la región del sitio activo. Basándose en este hallazgo, el compuesto se ensayó frente a un panel de paciente mutante resistente a los medicamentos aislados de VIH y se encontró que poseen actividad antiviral de amplio espectro contra una amplia gama de virus de inmunodeficiencia humana resistentes a los medicamentos clínicamente aislados, multiplicados. Otros compuestos descritos en este documento mostraron actividad similar. Los virus mutantes se obtuvieron de los seres humanos infectados que habían recibido varios fármacos antivirales. Aunque los solicitantes no desean abundar por ninguna teoría particular, se cree que la combinación del ligando bicíclico (vii) con isósteros (vi) proporciona los compuestos antirretrovirales facilitado la capacidad única de unirse al sitio activo de las proteasas mutantes de multiplicar virus de la inmunodeficiencia humana resistentes a las drogas en general, que ha rasgo hasta ahora no se ha informado con respecto a cualquier quimioterapéutico conocido y/o un inhibidor de la proteasa del VIH experimental. Se utilizó una selección preliminar de tipo silvestre para determinar la actividad antirretroviral de análogos contra el VIH de tipo silvestre. Se predice que los compuestos de Fórmula (I), que tienen actividad antirretroviral o proteasa inhibidora potente contra VIH de tipo silvestre, también serán potentes inhibidores de la resistencia a las drogas, incluso múltiple de resistencia a fármacos, en VIH de tipo silvestre, o incluso un mutante de la misma.

[0076] Los compuestos de la resistencia de inhibición de la presente invención se pueden sintetizar por cualquier método adecuado conocido en la técnica. El método de síntesis preferido se ilustra generalmente en la figura 4, que es una representación de la aproximación sintética a la preparación de una serie preferida de compuestos, en donde un compuesto de Fórmula (I) se sintetiza en varios pasos a partir de azidoepóxido (i), en el que R¹-R¹⁷, m, n, p, Q, W, X, Y, y Z se definen como anteriormente. Haciendo referencia a la Figura 4, amina (ii) se añade a nucleófilo azidoepóxido (i), proporcionando aminoalcohol (III). El grupo funcional amina de aminoalcohol (III) se hace reaccionar después con el compuesto intermedio (IV), en la que L representa un grupo saliente (por ejemplo, halógeno, cinimide N-oxysuc-), que puede ser desplazado por la amina del aminoalcohol (III), a proporcionar azida (v). La reducción de la azida (V), o, cuando R⁵ no es hidrógeno, la aminación reductora con el aldehído R⁵CH = O, proporciona intermedio (vi), que posteriormente se acopla con activado ligando bicíclico (vii), para proporcionar compuestos de Fórmula I. Por supuesto, se apreciará por una persona de experiencia ordinaria en la técnica que existen combinaciones de sustituyentes, grupos funcionales, grupos R, y similares, que son reactivos bajo condiciones de reacción particulares, y requieren la utilización de un grupo protector apropiado o grupos, que son conocidos en la técnica, para asegurar que la transformación sintética deseada se llevará a cabo sin la ocurrencia de reacciones secundarias no deseadas. Por ejemplo, los posibles sustituyentes en R⁵ (por ejemplo, NH₂) pueden ser ophiles nucleación competitivos que requieren la unión de un grupo protector apropiado al respecto (por ejemplo, benciloxicarbonilo, terc-butoxicarbonilo) con el fin de obtener la selectividad adecuada en la apertura de anillo de epóxido (i) con la amina (II).

[0077] Las figuras 1-3B ilustran la síntesis de una serie preferida de compuestos para uso en el método de prevenir la aparición de resistencia. La Figura 1, que es un esquema de síntesis para la síntesis de una sulfonamida en particular, ilustra la síntesis de un núcleo isostérico preferido, en particular, el núcleo isostérico sulfonamida representado por aminosulfonamida 15. Con referencia a la figura 1, el núcleo aminosulfonamida 15 se puede sintetizar por inicialmente proporcionar azidoepóxido 11 y someterla a la adición nucleofílica con la amina 12 para dar aminoalcohol 13, que posteriormente se convierte en sulfonamida 14 mediante la reacción con cloruro de 4-metoxibencenosulfonilo. El grupo azida de 14 después se reduce a continuación para proporcionar aminosulfonamida 15, la cual puede ser utilizada como un núcleo para la síntesis de numerosos inhibidores de proteasa retroviral resistentes a fármacos múltiples.

[0078] La Figura 2, la cual es un esquema de reacción que detalla la preparación de alcoholes bicíclicos, ilustra la síntesis de una serie preferida de ligandos bicíclicos, en particular bis-tetrahidrofuranos 25 y 26. Con referencia a la Figura 2, dihidrofurano 21 se trata con N- yodosuccinimida en presencia de alcohol de propargilo para producir iodoeter 22, que se cicla a bis-tetrahidrofurano metileno-sustituido 23. La ozonólisis del residuo de exo-metileno de 23, seguido de la reducción, proporciona el alcohol racémico bicíclico 24, que se resuelve para producir, por separado, alcohol bicíclico 25 y su éster de acetato enantiomérico 26, cuyo grupo éster de 26 es posteriormente hidrolizado para proporcionar enantiómero 27.

[0079] Las Figuras 3A y 3B, las cuales son esquemas de reacción que describen la preparación de dos inhibidores de la proteasa, ilustran la preparación de dos inhibidores de proteasa de VIH resistentes a múltiples fármacos preferidos de la presente invención. Con referencia a la Figura 3A, el compuesto 32 fue sintetizado mediante el acoplamiento de succinimidocarbonato 31 con aminosulfonamida 15. Succinimidocarbonato 31 se preparó haciendo reaccionar el alcohol bicíclico ópticamente puro 25 con carbonato de disuccinimidilo en presencia de trietilamina. El inhibidor 34, el cual posee el ligando enantiomérico bis-tetrahidrofuranilo (en relación con el inhibidor 32), se preparó

de la misma manera, excepto que se utilizó el alcohol bicclico enantiomérico 27 en lugar de alcohol 25, como se ilustra en la Figura 3B.

[0080] Los siguientes ejemplos ilustran adicionalmente la presente invención pero, por supuesto, no deben interpretarse de ningún modo como limitantes de su alcance.

Ejemplo 1

[0081] Este ejemplo describe la síntesis de epóxido ejemplar 11 (Figura 1), que se usa como un intermedio en la síntesis de una serie particular de compuestos.

[0082] Anhídrido CuCN (4,86 g, 54 mmol) se añadió a una solución de monóxido de butadieno (38 g, 540 mmol) en tetrahidrofurano anhídrido (1,2 L) y la mezcla resultante se agitó a -78°C. Se añadió una solución comercial fenilo de bromuro de magnesio (Aldrich) en éter (65 mmol) gota a gota durante un período de 10 min. Se dejó que la mezcla de reacción resultante se calentara a 0°C y se continuó agitando hasta que la mezcla de reacción era homogénea. Después de este período, la mezcla de reacción se enfrió a -78°C y se añadió 0,58 mol de una solución de bromuro de fenilmagnesio en éter gota a gota durante 30 min. Se dejó que la mezcla de reacción se calentara a 23°C durante 1 hora. La reacción se inactivó mediante la adición lenta de NH₄Cl acuosa saturada (120 ml) seguida de NH₄OH (70 ml), NH₄Cl saturada (500 ml) y después H₂O (300 ml). La capa acuosa se extrajo a fondo con acetato de etilo (2 x 300 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhídrido, se filtraron, y se concentraron a presión reducida. El residuo se destiló bajo vacío (0,12 torr) a 95°C para producir trans-4-fenilo-2-buten-1-ol (75,6 g).

[0083] A una suspensión de 4Å tamices moleculares en polvo (6,6 g) en cloruro de metileno anhídrido (750 ml) se añadieron tetraisopropóxido de titanio (Aldrich, 3,2 ml) y después de dietilo D-tartrato (2,3 ml). La mezcla resultante se enfrió a -22°C y la solución de terc-butilo en isooctano (Aldrich, 430 mmol) se añadió durante un período de 10 min. La mezcla se agitó durante 30 minutos adicionales y luego una solución de trans-4-fenilo-2-buten-1-ol (32,6 g, 213 mmol), en cloruro de metileno anhídrido (120 ml), se añadió gota a gota durante un período de 40 min a -22°C. La mezcla de reacción se envejeció en un congelador a -22°C durante 24 h. Después de este período, se añadió agua (100 ml) a la mezcla de reacción a -22°C y la mezcla se dejó calentar a 0°C. Después de agitarse a 0°C durante 45 min, 20% de NaOH en salmuera (20 ml) se añadió. Se dejó que la mezcla resultante se calentara a 23°C y se agitó a esa temperatura durante 1 h. Después de este período, las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con cloruro de metileno (2 x 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhídrido y se concentraron a presión reducida. El residuo se diluyó con tolueno (800 ml) y después se evaporó a presión reducida. El residuo se sometió a cromatografía sobre gel de sílice (35% acetato de etilo en hexano como eluyente) para proporcionar (2R, 3R) epoxi-4-fenilbutano-1-ol (21,8 g).

[0084] A una solución de ispropóxido de titanio (12 ml) en benceno anhídrido (250 ml) se añadió azidotrimetilsilano (11 ml) y la mezcla resultante se calentó a reflujo durante 6 h. Se añadió una solución de (2R, 3R) epoxi-4-fenilbutano-1-ol (5,32 g) en benceno anhídrido (25 ml) a la mezcla a reflujo anteriormente. La mezcla resultante se calentó a reflujo durante 25 min adicionales. Después de este período, la mezcla de reacción se enfrió a 23°C y la reacción se inactivó con solución acuosa de 5% de H₂SO₄ (400 ml). La mezcla resultante se agitó durante 1 h y se separaron las capas y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 300 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con solución saturada de NaHCO₃ (200 ml), se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró bajo presión reducida para proporcionar el (2S, 3S)-2-hidroxi-3-azido-4-fenilo-butano-1-ol (5,1 g) como un sólido blanco (pf 81-82°C).

[0085] A una solución agitada de azidodiol (5,1 g) en cloroformo (100 ml) a 23°C, se añadió cloruro de 2-acetoxiisobutirilo (Aldrich, 5 ml). La mezcla de reacción resultante se agitó a 23°C durante 8 h. La reacción se inactivó mediante la adición de bicarbonato de sodio saturado (100 ml) y la mezcla resultante se agitó durante 30 minutos. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con cloroformo (2 x 200 ml). La capa orgánica combinada se extrajo con cloroformo (2 x 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y se evaporaron a presión reducida. El residuo resultante se disolvió en THF anhídrido (50 ml) y se añadió NaOMe sólido (2,1 g). La mezcla se agitó durante 4 horas a 23°C y después de este período, la reacción se inactivó con NH₄Cl saturado (50 ml). La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (2 x 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhídrido y se concentraron a presión reducida para producir un residuo, que se cromatografió sobre gel de sílice (10% acetato de etilo en hexanos) para producir el 3(S)-azido-(1,2R) epoxi-4-fenilbutano 11 (3,3 g) como un aceite: ¹H RMN (300 MHz): CDCl₃; 8 7,4 a 7,2 (m, 5H), 3,6 (m, 1H), 3,1 (m, 1H), 2,95 (dd, 1H, J = 4,6, 13,9 Hz), 2,8 (m, 3H).

Ejemplo 2

[0086] Este ejemplo ilustra la síntesis de azidoalcohol 13 (Figura 1), que puede ser usado como un intermedio en la síntesis de una serie preferida de los compuestos de la presente invención.

[0087] A una solución agitada de azidoepóxido 11 (700 mg, 3,7 mmol) en isopropanol (70 ml) se añadió amina de isobutilo (Aldrich, 0,74 ml 7,4 mmol) y la mezcla resultante se calentó a 80°C durante 12 h. Después de este período,

la mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el residuo se sometió a cromatografía sobre gel de sílice para proporcionar azidoalcohol 13 (800 mg) como un aceite.

Ejemplo 3

[0088] Este ejemplo ilustra la síntesis de azidosulfonamida 14, cuya estructura se muestra en la Figura 1.

[0089] A una solución agitada de 13 (600 mg, 2,28 mmol) en CH_2Cl_2 (20 ml) se añadió cloruro de 4-metoxibencenosulfonilo (Aldrich, 530 mg, 2,52 mmol) y NaHCO_3 acuoso saturado (6 ml). La mezcla heterogénea resultante se agitó a 23°C durante 12 h. La reacción se diluyó con CH_2Cl_2 y las capas se separaron. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a sequedad. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice (25% acetato de etilo/hexano) para proporcionar 900 mg de azidosulfonamida 14.

Ejemplo 4

[0090] Este ejemplo ilustra la preparación de aminosulfonamida 15 a través de la reducción de azidosulfonamida 14, como se muestra en la Figura 1.

[0091] Una solución de 14 (1,53 g) en THF (45 ml), MeOH (10 ml) y ácido acético (0,5 ml), se agitó con 10% de paladio sobre catalizador de carbón (200 mg) a presión de hidrógeno 50 psi durante 2 h. La eliminación del catalizador por filtración sobre celite y la concentración a presión reducida dio un residuo bruto, que se diluyó con CH_2Cl_2 (100 ml) y se lavó sucesivamente con NaHCO_3 acuoso saturado y salmuera. La capa orgánica se secó sobre MgSO_4 y se concentró para dar la correspondiente aminosulfonamida 15 (1,2 g).

Ejemplo 5

[0092] Este ejemplo demuestra la síntesis de trans-2-(propargiloxi)-3-yodotetrahidrofurano 22 (Figura 2).

[0093] A una suspensión agitada, enfriada con hielo de 15 g (66,6 mmol) de N-yodosuccinimida en 150 ml de CH_2Cl_2 se le añadió una mezcla de dihidrofurano 21 (66,6 mmol, 4,67 g, 5,1 ml) y alcohol propargílico (100 mmol, 5,0 g, 5,2 ml) de en 50 ml de CH_2Cl_2 durante 20 min. Después de calentarse a 24°C con agitación durante 2 h, se añadieron 200 ml de agua y se continuó la agitación durante 1 h. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con 2 x 100 ml de CH_2Cl_2 . Los extractos orgánicos combinados se lavaron con solución de salmuera que contiene una pequeña cantidad de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (70 mg), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró. La cromatografía sobre gel de sílice usando 30% de acetato de etilo en hexano dio (15,4 g, 92%) el título yodoeter 22 como un aceite.

Ejemplo 6

[0094] Este ejemplo ilustra la síntesis de ($\pm$)-(3aR, 6aS) y (3aS, 6aR)-3-metileno-4H-hexahidrofuro- [2,3-b]furano 23, como se muestra en la Figura 2.

[0095] A una solución a reflujo de (20,7 ml, 77 mmol) hidruro de tributilestaño que contiene AIBN (100 mg) en tolueno (200 ml) se añadió gota a gota una solución de 15,4 g (61 mmol) de yodotetrahidrofurano 22 en tolueno (50 ml) durante un período de 1 h. La mezcla resultante se agitó a reflujo durante 4 h adicionales (monitoreada por TLC). Después, la mezcla se enfrió a 23°C y se concentró a presión reducida. El residuo se repartió entre éter de petróleo y acetonitrilo (200 ml de cada uno) y la capa de acetonitrilo (inferior) se concentró. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, usando 10% acetato de etilo en hexano como eluyente para proporcionar el producto del título 23 (5,84 g, 76%) como un aceite.

Ejemplo 7

[0096] Este ejemplo demuestra la síntesis de ($\pm$)-(3SR, 3aRS, 6aS) y (3R, 3aS, 6aR)-3-hidroxi-4H-hexahidrofuro [2,3-b] furano 24, como se muestra en la Figura 2.

[0097] Una corriente de ozono se dispersó en una solución de 15 (5,84 g, 46,4 mmol) a -78°C en 150 ml de metanol y 150 ml de CH_2Cl_2 durante 30 minutos. La solución azul resultante se purgó con nitrógeno hasta incoloro, después se inactivó con 20 ml de sulfuro de dimetilo y se dejó que la mezcla resultante se calentara a 23°C. La mezcla se concentró a presión reducida para proporcionar la cetona en bruto. La cetona en bruto resultante se disolvió en etanol (50 ml) y la solución se enfrió a 0°C y se añadió borohidruro de sodio (2,1 g, 55,6 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 2 h adicionales a 0°C y después se inactivó con ácido cítrico acuoso al 10% (10 ml). La mezcla resultante se concentró a presión reducida y el residuo se repartió entre acetato de etilo y salmuera. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentraron cuidadosamente a presión reducida. El residuo resultante se cromatografió sobre gel de sílice usando 30% de etilo de acetato en hexano como eluyente para asignar (4,52 g, 75%) el título alcohol racémico 24 como un aceite.

Ejemplo 8

[0098] Este ejemplo ilustra la preparación de lipasa Amano 30 inmovilizada, que se utiliza para resolver aminoalcohol racémico 24 (Figura 2).

[0099] 4 g de Celite® 521 comercialmente disponible (Aldrich) se cargó en un embudo buchner y se lavó sucesivamente con 50 ml de agua desionizada y 50 ml de tampón fosfato 0,05 N (pH = 7,0; Fisher Scientific). Se añadió después la celita lavada a una suspensión de 1 g de lipasa Amano 30 en 20 ml de tampón fosfato 0,05 N. La suspensión resultante se extendió sobre un plato de vidrio y se deja secar en el aire a 23°C durante 48 h (peso 5,4 g; contenido de agua de aproximadamente 2% por el método de Fisher).

Ejemplo 9

[0100] Este ejemplo demuestra la síntesis de (3R, 3aS, 6aR) 3-hidroxihexahidrofuro [2,3-b] furano 25 por la acilación catalizada de lipasa inmovilizada, como se ilustra en la Figura 2.

[0101] A una solución agitada de alcohol racémico 24 (2 g, 15,4 mmol) y anhídrido acético (4 g, 42,4 mmol) en 100 ml de DME se añadió 2,7 g (aproximadamente 25% en peso de lipasa PS30) de lipasa de Amano inmovilizada y la suspensión resultante se agitó a 23°C. La reacción se controló mediante análisis por TLC y ¹H RMN hasta que se alcanzó 50% de conversión. La mezcla de reacción se filtró y la torta del filtro se lavó repetidamente con acetato de etilo. El filtrado combinado se concentró cuidadosamente en un evaporador rotatorio, manteniendo la temperatura del baño por debajo de 15°C. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice para proporcionar 843 mg (42%) de 25 (95% ee; α_D²³ -11,9°, MeOH); ¹H-RMN (CDCl₃) δ 1,85 (m, 2H), 2,3 (m, 1H), 2,9 (m, 1H), 3,65 (dd, J = 7,0, 9,1, 1H), 3,85 a 4,0 (m, 3H), 4,45 (dd, J = 6,8, 14,6, 1H), 5,7 (d, J = 5,1, 1H); también, 1,21 g de 26 tras el lavado con carbonato de sodio acuoso al 5% (45%, α_D²³ +31,8°, MeOH); ¹H-RMN (CDCl₃) δ 1,85 a 2,1 (m, 2H), 2,1 (s, 3H), 3,1 (m, 1H), 3,75 (dd, J = 6,6, 9,2, 1H), 3,8 a 4,1 (m, 3H), 5,2 (dd, J = 6,4, 14,5, 1H), 5,7 (d, J = 5,2, 1H). Acetato 26 se disolvió en THF (5 ml) y una solución 1 M acuosa de LiOH (20 ml) se añadió a la misma. La mezcla resultante se agitó a 23°C durante 3 h y la reacción se extrajo con cloroformo (3 x 25 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se evaporaron a presión reducida. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice para proporcionar 733 mg de 27 (97% ee; α_D²³ -12,5°, MeOH).

Ejemplo 10

[0102] Este ejemplo demuestra la síntesis de carbonatos activados 31 y 33, como se ilustra en las Figuras 3A y 3B.

[0103] A una solución agitada de [3R, 3aS, 6aS]-3-hidroxihexahidrofuro [2,3-b] furano 25 (65 mg, 0,5 mmol) en CH₃CN seco (5 ml) a 23°C se añadieron carbonato de disuccinimidilo (192 mg, 0,75 mmol) y trietilamina (0,25 ml). La mezcla resultante se agitó a 23°C durante 12 h. La reacción se inactivó con NaHCO₃ acuoso saturado (10 ml) y la mezcla se concentró a presión reducida. El residuo se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 25 ml) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (10 ml) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La evaporación del disolvente a presión reducida dio un residuo, que se cromatografió sobre gel de sílice (50% acetato de etilo/hexano) para proporcionar (3R, 3aS, 6aR) 3-hidroxihexahidrofuro [2,3-b] furanilo-carbonato de succinimidilo 31 (70 mg) como un aceite marrón. Carbonato de 33 (65 mg) se preparó a partir de 60 mg de alcohol 27 siguiendo un procedimiento similar.

Ejemplo 11

[0104] Este ejemplo ilustra la preparación de inhibidor de VIH resistente a múltiples fármacos 32, como se ilustra en la Figura 3A.

[0105] A una solución agitada de amina 15 (82 mg, 0,2 mmol) en CH₂Cl₂ seco (5 ml) se añadió carbonato de succinimidilo 31 (55 mg, 0,18 mmol). La solución resultante se agitó a 23°C durante 12 h. Después de este período, la reacción se inactivó con NaHCO₃ acuoso saturado (10 ml) y se diluyó con CH₂Cl₂ (25 ml). Las capas se separaron y la capa orgánica se lavó con salmuera (15 ml) y se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro. La evaporación del disolvente a presión reducida proporcionó un residuo, que se purificó por cromatografía en gel de sílice (75% acetato de etilo/hexano) para proporcionar el compuesto 32 (85 mg) como un sólido blanco (p.f 55-58°C). ¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz); δ 7,71 (d, 2H, J = 8,8 Hz), 7,29 a 7,20 (m, 5H), 6,99 (d, 2H, J = 7,0 Hz), 5,65 (d, 1H, J = 5,19), 5,01 (m, 2H), 3,95-3,82 (m, 7H), 3,69 (m, 2H), 3,0-2,7 (m, 6H), 1,85 (m, 1H), 1,64-1,45 (m, 3H), 0,90 (dos d, 6H, J = 6,5 Hz, 6,6 Hz).

Ejemplo 12

[0106] Este ejemplo ilustra la preparación de inhibidor de VIH resistente a múltiples fármacos 33, como se ilustra en la Figura 3B.

[0107] Carbonato 33 (55 mg) se hizo reaccionar con la amina 15 (82 mg, 0,2 mmol) de acuerdo con el procedimiento

mencionado de arriba para proporcionar el compuesto 34 (81 mg). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz); 8,7,69 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 7,28 a 7,21 (m, 5H), 6,87 (d, 2H, $J = 5,84$ Hz), 5,67 (d, 1H, $J = 5,46$ Hz), 5,0 (m, 2H), 3,86-3,81 (m, 7H), 3,58 (dd, 2H, $J = 6,6$ Hz, 3,6 Hz, 3,17-2,73 (m, 6H), 2,17-1,83 (m, 4H), 0,90 (dos d, 6H, $J = 6,5$ Hz, 6,6 Hz).

5 Ejemplo 13

[0108] Este ejemplo describe el protocolo para el ensayo fluorogénico continuo sensible para la proteasa de VIH de la presente invención y su aplicación. Utilizando este ensayo, la actividad inhibidora del compuesto 32 (Fig. 3A) se ensayó frente a las proteasas de VIH-1 de tipo silvestre (WT) y varias enzimas mutantes: D30N, V32I, I84V, V32I/I84V, M46F/V82A, G48V/L90M, V82F/I84V, V82T/I84V, V32I/K45I/F53L/A71V/I84V/L89M, V32I/L33F/K45I/F53L/A71V/I84V, y 20R/36I/54V/71V/82T, cuyas enzimas proteasas están disponibles de Dr. John W. Erickson, Structural Biochemistry Program, SAIC Frederick, P.O. Box B, Frederick, MD 21702-1201, previa solicitud por escrito. Se midió la constante inhibidora de tipo silvestre VIH-1, la relación $K_{\text{imnt}}/K_{\text{iwt}}$, y la vitalidad. (Véase Gulnik et al., Biochemistry 34, 9282-9287 (1995). La actividad de proteasa se midió usando el sustrato fluorogénico Lys-Ala-Arg-Val-Tyr-Phe(NO_2)-Glu-Ala-Nle- NH_2 (Bachem Bioscience, Inc.). (Véase Peranteau et al., DH (1995) Anal. Biochem.).

[0109] Típicamente, 490 μl de tampón de 0,125 M ACES-NaOH, pH 6,2, que contiene 1,25 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 6,25 mM DTT y 0,1% de PEG-8000 se mezclaron con 5 μl de proteasa titulada (concentración final 1-5 nM) y se incubaron 3 min a 37°C. La reacción se inició mediante la adición de 5 μl de solución de stock de sustrato en agua. Aumento en la intensidad de fluorescencia en el máximo de emisión de 306 nm (longitud de onda era de 277 nm) se monitoreó en función del tiempo usando espectrómetro de luminiscencia de Aminco Bowman-2 (SLM Instruments, Inc.). La velocidad inicial de hidrólisis se calculó por ajuste polinómico de segundo grado mediante el software operativo SLM AB2 2,0. Los parámetros cinéticos se determinaron mediante ajuste de regresión no lineal de la tasa inicial frente a los datos de concentración de sustrato a la ecuación de Michaelis-Menten usando la versión de programa Enzfiter 1,05.

[0110] Para los estudios de inhibición, los inhibidores se prepararon como soluciones madre a diferentes concentraciones en dimetilsulfóxido. En un experimento típico 485 ml de tampón de 0,125 M ACES-NaOH, pH 6,2, que contiene 1,25 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, DTT 6,25 mM y 0,1% de PEG-8000, se mezclaron con 5 ml de inhibidor de la solución madre y 5 ml de proteasa titulada (concentración final de 1 a 5 nM) y se preincubó 3 min a 37°C. La reacción se inició mediante la adición de 5 μl de solución de sustrato de stock en agua. Para el análisis de los datos, se utilizó el modelo matemático para los inhibidores de unión fuerte. (Véase Williams y Morrison (1979), En: Métodos de Enzymol. 63, (Ed. D. L. Purich), 437-467, Academic Press, Nueva York, Londres). Los datos se ajustaron por análisis de regresión no lineal a la ecuación: $V = V_0/2E_i \{ [K_i(1+S/K_M)+I_i-E_i]^2 + 4K_i(1+S/K_M)E_i \}^{1/2} - [K_i((1+S/K_M)+I_i-E_i)]$ con el programa Enzfiter (versión 1,05), donde V y V_0 son velocidades iniciales con y sin inhibidor, respectivamente, K_M es una constante de Michaelis-Menten, y S , E_i y I_i son las concentraciones de sustrato, la enzima activa, y el inhibidor, respectivamente. Aptitud bioquímica para cada mutante se determinó mediante la comparación de la vitalidad bioquímica de cada mutante ($\text{vitalidad}_{\text{mut}}$) con la vitalidad bioquímica de la referencia de tipo silvestre ($\text{vitalidad}_{\text{wt}}$), de acuerdo con la fórmula ($\text{vitalidad}_{\text{mut}}/(\text{vitalidad}_{\text{wt}})$), en el que la vitalidad es (K_i) (k_{cat}/K_M). Los resultados se muestran a continuación en la Tabla 1.

Tabla 1
Compuesto 32

Enzima	K_i (pM)	$K_{i\text{-mut}}/K_{i\text{-wt}}$	Aptitud bioquímica
WT	14	1	1
D30N	<5	0,33	0,3
V32I	8	0,57	0,5
I84V	40	2,85	1
V32I/I84V	70	5	0,7
M46F/V82A	<5	0,33	0,1
G48V/L90M	<5	0,33	0,1
V82F/I84V	7	0,5	0,1
V82T/I84V	22	1,57	0,1
V32I/K45I/F53L/A71V/I84V/L89M	31	2,2	0,1
V32I/L33F/K45I/F53L/A71V/I84V	46	3,3	0,1
20R/36I/54V/71V/82T	31	2,2	0,1

[0111] Los resultados anteriores demuestran que el compuesto 32 es un inhibidor potente de proteasa de VIH mutantes múltiples que contienen las mutaciones de resistencia a fármacos primarios o clave. Estos datos predicen que el compuesto 32 tendrá actividad antirretroviral potente y de espectro amplio resistente a fármacos múltiples. Por otra parte, la aptitud bioquímica de cada mutante con relación a tipo silvestre es igual o inferior a uno en

presencia del compuesto 32. Sobre la base de este perfil de la aptitud, se cree que los virus resistentes a los medicamentos que contienen las mutaciones características ensayadas en este documento no se desprenderán del tipo silvestre en presencia de compuesto 32.

5 Ejemplo 14

[0112] Este ejemplo ilustra la actividad antirretroviral resistente a múltiples fármacos potente y de amplio espectro de un compuesto ejemplar de la presente invención.

10 **[0113]** El Compuesto 32, mostrado en la Figura 3A, se puso a prueba de lado a lado con otros cuatro inhibidores conocidos de proteasa VIH-1 contra varias cepas de VIH-1 de tipo silvestre (VIH-1_{ERS104pre}, VIH-1_{LAI}, y el VIH-1_{BAL}) y cepas de VIH-1 mutantes resistentes a fármacos múltiples clínicamente aisladas de ocho pacientes diferentes que habían recibido numerosos medicamentos antivirales, ya sea individualmente o en combinación. Los pacientes de los que se aislaron las cepas mutantes tenían una historia de terapia anti-VIH con una variedad de diferentes
15 fármacos, tales como, por ejemplo, ritonavir, saquinavir, indinavir, amprenavir, AZT, ddl, ddC, d4T, 3TC, ABV (abacavir), DLV (delaviridina), y PFA (foscarnet). Los perfiles de paciente se muestran a continuación en la Tabla 2.

Tabla 2

Paciente/C ódigo aislado	CD4 ⁺ (/mm ³)	Nivel de ARN VIH-1 (copias/mL)	Meses de terapia antiviral	Terapias anti-VIH previo y presente
1	361	246.700	64	AZT, ddl, ddC, d4T, 3TC, ABV, IDV, RTV, SQV, AMV, DLV
2	3	553.700	46	AZT, ddl, ddC, d4T, 3TC, ABV, IDV, SQV, AMV
3	108	42.610	39	AZT, ddl, ddC, d4T, 3TC, ABV, IDV, SQV, AMV
4	560	60.000	81	AZT, ddl, ddC, U90, d4T, 3TC, ABV, IDV, SQV, AMV
5	-	-	32	AZT, ddl, ddC, d4T, 3TC, ABV, IDV, SQV, AMV
6	-	-	34	AZT, ddl, ddC, d4T, 3TC, ABV, IDV, SQV, AMV
7	-	-	83	AZT, ddl, ddC, d4T, 3TC, ABV, IDV, SQV, RTV, AMV
8	-	-	69	AZT, ddl, ddC, d4T, 3TC, PFA, ABV, IDV, SQV, AMV

40 **[0114]** Los cuatro inhibidores de proteasa de VIH quimioterapéuticos conocidos utilizados para fines comparativos en este ejemplo se han utilizado en la quimioterapia de VIH actual humana, y son: Ritonavir ("RTV", Abbott Laboratories); Indinavir ("IDV," Merck Research Laboratories); Amprenavir (AMV, véase Ghosh Et al., Bioorg Med Chem Lett, 8, 687-690 (1998)); y Saquinavir ("SAQ", Roche Research Centre). Los valores de IC₅₀ (μM) para los
45 cinco compuestos se determinaron con respecto a VIH-1 de tipo silvestre y resistente a fármacos múltiples.

[0115] Para determinar la actividad inhibidora de proteasa contra el VIH resistente a fármacos múltiples, los IC₅₀ se midieron frente a un panel de aislados de VIH mutantes clínicamente aislados. Las IC₅₀ se determinaron mediante la utilización de PHA-PBMC expuesta a VIH-1 (50 TCID₅₀ dosis/1x10⁶ PBMC) como células diana y el uso de la inhibición de la producción de la proteína p24 Gag como criterio de valoración.
50

[0116] Las IC₅₀ se determinaron utilizando el ensayo de PHA-PBMC en el que se dirigen las células se exponen al VIH-1 (50 TCID₅₀ dosis/1x10⁶ PBMC) y la inhibición de producción de proteínas Gag p24 se utiliza como criterio de valoración. Todas las sensibilidades de fármacos se realizaron por triplicado. Con el fin de determinar si los aislados
55 VIH fueron de inducción de sincitios (SI) o no de inducción de sincitios (NSI), una alícuota del virus stock sobrenadante, que contiene 100 TCID₅₀, se cultivó con células 1 X 10⁵ MT-2 en una placa de 12 pocillos. Los cultivos se mantuvieron durante cuatro semanas y se examinaron para la formación de sincitios dos veces a la semana. Los resultados se muestran a continuación en la Tabla 3.

60

65

Tabla 3
IC₅₀ (μM)

	Fenotipo	Paciente/código de aislados (véase Tabla 2)	RTV	IDV	AMV	SAQ	Compuesto 32
5	SI	VIH-1 _{ERS104pre}	0,055	0,013	0,021	0,01	<0,001
	SI	VIH-1 _{LAI}	0,0047	0,019	0,019	0,0054	0,0004
10	NSI	VIH-1 _{BAL}	0,018	0,0056	0,014	0,0037	0,0004
		1	>1	>1	0,29	0,29	0,002
		2	>1	0,24	0,24	0,035	<0,001
		3	>1	0,46	0,33	0,036	<0,001
		4	>1	0,24	0,4	0,033	0,001
15	NSL	5	>1	0,8	0,28	0,24	0,002
		6	>1	0,37	0,11	0,19	<0,001
		7	>1	>1	0,42	0,12	0,004
		8	>1	>1	0,22	0,009	0,001

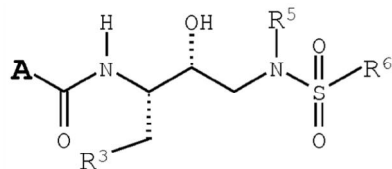
[0117] Las IC₅₀ anteriores demuestran claramente la actividad del compuesto 32 de amplio espectro y extraordinariamente potente contra VIH-1 de tipo silvestre y los ocho aislados clínicos ensayados resistentes a fármacos múltiples diferentes como se predijo a partir de los perfiles de aptitud bioquímica en el Ejemplo 13. Por ejemplo, el compuesto 32 exhibe potencia nanomolar y sub-nanomolar contra todas las cepas ensayadas resistentes a fármacos múltiples, mientras que el ritonavir, un inhibidor de tipo silvestre razonablemente potente, es prácticamente inactivo hacia los virus resistentes. Por otra parte, el compuesto 32 es de aproximadamente 9 a aproximadamente 150 veces más potente contra los virus resistentes a fármacos múltiples que Saquinavir, uno de los compuestos conocidos más potentes contra las cepas resistentes a fármacos múltiples conocidos de VIH-1. Los pacientes con cargas virales en plasma mayores de 10.000 copias de ARN/mm³ están en riesgo de desarrollar complicaciones fatales del SIDA. No hay opciones terapéuticas eficaces actualmente disponibles para estos pacientes infectados con estos virus resistentes a fármacos múltiples. El Compuesto 32 y análogos del mismo se prevén que sean potentes en la prevención de la selección de estas cepas virales *in vivo*.

Ejemplo 15

[0118] Este ejemplo demuestra la actividad antirretroviral de tipo silvestre de los compuestos de la presente invención.

[0119] Se prevé que la actividad de los presentes compuestos de la invención contra proteasa de VIH de tipo silvestre se correlaciona con la actividad antirretroviral contra VIH resistente a fármacos múltiples. Numerosos compuestos de la presente invención se ensayaron contra el VIH de tipo silvestre (véase Ghosh et al., J. Bioorg. Med. Chem. Lett., 8, 6870690 (1998)). Los compuestos ejemplares, los cuales demuestran actividad de proteasa de VIH de tipo silvestre potente, se muestran a continuación en la Tabla 4.

Tabla 4



	A	R ³	R ⁵	R ⁶	K _i (nM)	ID ₅₀ (nM)	Comentarios
15		Ph			2,1	4,5	
20		Ph			1,1	1,4	Compuesto 32 (Fig. 3A)
25		Ph					Compuesto 34 (Fig. 3B)
30		Ph			1,2	3,5	
35		Ph			2,2	4,5	
40							
		Ph					

[0120] Se cree que los compuestos anteriores de la Tabla 4 impedirán la aparición de resistencia en un ser humano infectado por VIH.

Ejemplo 16

[0121] Este ejemplo demuestra la absorción oral del compuesto 32 en un modelo experimental *in vivo*.

[0122] El compuesto 32 se administró por vía oral a una rata en una dosis de aproximadamente 40 mg por kg de masa corporal, usando un vehículo PEG 300 como vehículo. Los niveles en sangre de plasma de compuesto 32 se midieron en un periodo de 24 h después de la administración oral. Los resultados se muestran en la Tabla 5 a continuación.

5

Tabla 5

Tiempo después de administración		Concentración de plasma	
Horas	Minutos	(nM)	(ng/mL)
0,28	17	1598	898
1,00	60	878	493
2,07	124	626	352
4,01	240	670	377
6,01	360	594	334
8,05	483	1115	627
12,04	722	246	138
14,08	845	102	57
24,00	1440	82	46

10

15

20

25

30

[0123] Estos resultados demuestran que el compuesto 32 mantiene los niveles elevados en la sangre (por ejemplo, casi el 0,6 μ M después de 6 horas) mucho tiempo después de la administración oral. Aunque los solicitantes no desean estar vinculado por ninguna teoría particular, se cree que la estructura no peptídica de los compuestos de la presente invención los hace menos propensos a degradación biológica (por ejemplo, enzimática), y así contribuye a sus niveles en sangre prolongados después de la administración oral. A partir de estos datos, los compuestos de la presente invención se predice que tienen una excelente biodisponibilidad oral en seres humanos, y mantienen los niveles sanguíneos terapéuticamente significativos durante períodos prolongados después de la administración oral.

Ejemplo 17

35

40

[0124] Este ejemplo demuestra la influencia de la unión de proteína humana de la actividad antiviral del compuesto 32. Varios inhibidores de proteasa de VIH potentes y oralmente biodisponibles no tuvieron eficacia antiviral *in vivo*. Estos fallos se han atribuido, pero no se ha demostrado definitivamente, que se deben a una unión excesiva de proteínas plasmáticas humanas, en particular la albúmina sérica y AAG. La unión de proteína contra la glicoproteína ácida alfa humana (AAG, 10 μ M) y en contra de albúmina de suero humano (HAS, 300 μ M) se compararon para el compuesto 32 y amprenavir, un análogo estructuralmente relacionado que es un fármaco aprobado por la FDA. Los resultados se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6

45

Compuesto	IC ₅₀ (mM)		
	(-)	AAG	Alb
32	0,0015(1X)	0,0022(1,5X)	0,003(2X)
amprenavir	0,029(1X)	0,18(6X)	0,021(1X)

50

55

[0125] Estos datos demuestran que la presencia de AAG y HAS en cantidades fisiológicamente excesivas no afectará negativamente la actividad antiviral del compuesto 32. A partir de estos datos, la afinidad del compuesto 32 para AAG humana y HSA se prevé que sea realmente inferior que para amprenavir, un fármaco conocido. A partir de estos datos, se espera que los compuestos de la presente invención tengan una eficacia excelente *in vivo* en seres humanos, y mantiene los niveles terapéuticamente significativos durante períodos prolongados de tiempo.

Ejemplo 18

60

65

[0126] Este ejemplo describe la actividad inhibidora de los compuestos 35 (Fig. 5A), 36 (Fig. 5B), 37 (Fig. 5C) y 38 (Fig. 5D). De acuerdo con la técnica descrita en el Ejemplo 13 anterior, la actividad inhibidora de estos compuestos se ensayó frente a proteasas de VIH-1 de tipo silvestre. Compuesto 36, 37 y 38 también se ensayaron frente a proteasas que contienen mutaciones asociadas a resistencia a medicamentos perjudiciales V82F/I84V y

G48V/V82A. La aptitud se determinó de acuerdo con el Ejemplo 13. Los resultados de estos experimentos se muestra a continuación en la Tabla 7.

Tabla 7

COMPUESTO	ENZIMA	K _i (PM)	K _{i-peso} / K _{i-mut}	Aptitud
35	WT	81	1	
36	WT	5<		
	V82F/I84V	24,4	>4,9	>0,8
	G48V/V82A	15,3	>3,0	>0,8
37	WT	12	1	
	V82F/I84V	25,7	2,1	0,3
	G48V/V82A	64	5,3	1,4
38	WT	>5		
	V82F/I84V	66,8	>13	>2,1
	G84V/V82A	34	>6,8	>1,8

[0127] Estos resultados adicionalmente demuestran compuestos de la presente invención que son inhibidores potentes contra proteasas mutantes. Basándose en el perfil de la aptitud, se cree que los virus resistentes que contienen las mutaciones características ensayadas en este documento no se desprenderán del tipo silvestre en la presencia de compuesto 37.

Ejemplo 19

[0128] Este ejemplo demuestra aún más el amplio espectro y actividad potente de los compuestos ejemplares de la presente invención frente a aislados clínicos resistentes a fármacos múltiples.

[0129] Los valores de IC₅₀ (μM) para todos los compuestos 32, 35, 36, 37, y 38 se determinaron con respecto a aislados clínicos de tipo silvestre de VIH-L_{LAI} y VIH-1_{BaL}. Este último es una cepa monocitotrófica del VIH.

[0130] Los de IC₅₀ para los aislados de VIH-1_{LAI} y VIH-1_{BaL} se determinaron mediante la exposición de la PBMC simulada por PHA a VIH-1 (50 TCID₅₀ dosis/1X10⁶ PBMC), en la presencia de diversas concentraciones de los compuestos 32, 35, 36, 37 y 38, y el uso de la inhibición de la producción de la proteína Gag p24 como un punto final en el día 7 de cultivo ("ensayo de p24"). Todas las sensibilidades de fármacos se realizaron por triplicado. Las IC₅₀ para el aislado de VIH-1_{LAI} también se determinaron mediante la exposición de células MT-2 (2x10³) a 100 TCID₅₀S de VIH-1_{LAI} cultivadas en presencia de diversas concentraciones de los compuestos 32, 35, 36, 37 y 38. Las IC₅₀ se determinaron utilizando el ensayo de MTT en el día 7 de cultivo. Todas las sensibilidades se determinaron por duplicado. Los resultados se muestran a continuación en la Tabla 8.

Tabla 8

Virus	Tipo de célula/Ensayo	Comp. 32 IC ₅₀ (μM)	Comp. 35 IC ₅₀ (μM)	Comp. 36 IC ₅₀ (μM)	Comp. 37 IC ₅₀ (μM)	Comp. 38 IC ₅₀ (μM)
VIH-1 _{LAI}	MT-2/MTT	0,00022	0,028	0,017	0,0053	0,028
VIH-1 _{LAI}	PBMC/p24	0,00022	0,020	0,034	0,0027	0,0080
VIH-1 _{BaL}	PBMC/p24	0,00033	0,013	0,038	0,0030	0,0093

[0131] Estos resultados demuestran la actividad antirretroviral potente de compuestos particulares de la presente invención.

Ejemplo 20

[0132] Este ejemplo ilustra adicionalmente la actividad antirretroviral resistente a fármacos múltiples potente y de amplio espectro de un compuesto ejemplar de la presente invención.

[0133] El compuesto 32, que se muestra en la Figura 3A, se ensayó contra diversas cepas mutantes resistentes a fármacos múltiples de VIH-1 clínicamente aisladas de pacientes. Todos estos aislados fueron tomados de pacientes que fallaron terapia en uno o más inhibidores de proteasa de VIH debido a resistencia clínica de alto nivel. Todos estos aislados exhiben resistencia fenotípica de alto nivel en ensayos antivirales contra muchos de los fármacos inhibidores de proteasa de VIH. El Compuesto 32 se ensayó frente a estos aislados clínicos multirresistentes lado a lado con fármacos conocidos que se utilizan comúnmente en la terapia antiviral de VIH, incluyendo los inhibidores de transcriptasa inversa tales como AZT, 3TC, DDI, DDC y D4T, e inhibidores de proteasa tales como indinavir (Ind.), nelfinavir (Nel.), ritonavir (Rit.), y Saquinavir (Saq.). Los IC₅₀ para el compuesto 32 y los fármacos comparativos

contra los aislados clínicos de VIH-1 resistentes a fármacos múltiples, y en contra de VIH-1 (WT) de tipo silvestre, se muestran en la Tabla 9a.

[0134] Las cepas de VIH-1 mutantes resistentes a fármacos múltiples correspondientes a cada paciente, numeradas 9-35, se analizaron genéticamente en términos de las secuencias de ácidos nucleicos de la proteasa (PR) y una parte de genes de transcriptasa inversa (RT) de los cuales mutaciones se determinaron en estas enzimas. Las mutaciones en la proteasa y la transcriptasa inversa de los virus resistentes a fármacos múltiples aislados de cada paciente se muestran a continuación en la Tabla 9b.

Tabla 9a
IC₅₀ (μM)

Aislado paciente	AZT	3TC	DDI	DDC	D4T	Ind.	Nel.	Rit.	Saq.	Comp. 32
9	0,01	0,39	0,7	0,15	0,91	1,087	0,98	0,53	>0,3125	0,0003
10	0,02	1,35	1,7	0,37	1,29	>1,25	>1,25	2,03	>0,3125	0,0017
11	0,11	23,61	2,4	0,18	3,10	0,012	0,03	0,01	0,001	0,0004
12	0,07	0,78	0,9	0,20	1,23	>1,25	>1,25	2,47	>0,3125	0,0010
13	0,17	1,04	0,5	<0,1221	0,78	>1,25	0,47	1,64	>0,3125	0,0004
14	0,64		2,4	<0,1221	1,10	0,089	0,01	0,04	0,040	0,0003
15	0,20	>31,25	2,2	0,32	1,10	0,265	0,47	1,14	>0,3125	0,0011
16	0,97	27,98	3,5	0,57	1,81	0,384	0,86	1,34	>0,3125	0,0031
17	>1,25	28,05		0,63	4,28	0,502	0,52	0,87	0,107	0,0022
18	0,55	>31,25	2,2	0,48	2,08	0,369	0,60	3,02	0,039	0,0019
19	>1,25	>31,25	36,6	6,80	35,63	0,784	0,50	2,94	0,055	0,0005
20	1,25	3,21	7,1	0,57	22,54	0,591	0,58	1,90	0,032	
21	>1,25	1,69	1	0,38	3,28	1,250	>1,25	2,18	0,21	0,0023
22	1,02	>31,25	3,7	0,63	4,68	0,173	0,10	0,56	0,003	
23	0,19	>31,25	1,8	0,28	1,00	0,461	0,28	1,82	0,008	0,0004
24										0,0004
25										0,0019
26										0,0019
27	0,03	1,72	2,6	0,41	4,00	>1,25	2,97	2,97	>0,3125	0,0009
28	>1,25	2,08	2,8	0,36	5,44	1,040	2,66	2,66	>0,3125	
29	>1,25	2,24	3,8	0,34	5,29	0,569	0,36	0,36	0,050	0,0009
30	0,16	>31,25	2,8	0,24	2,52	0,270	1,03	1,03	0,191	0,0019
31		>31,25	2,6	<0,1221	3,11	0,251	0,85	0,85	0,074	0,0010
32	0,32	>31,25	8,4	0,91	2,41	0,233	0,37	0,37	>0,3125	
33	0,51	>31,25	2,0	0,28	2,73	0,133	0,18	0,18	0,059	0,0005
34	>1,25	>31,25	9,1	1,13	7,71	0,595	3,38	3,38	0,063	0,0024
35	0,88	>31,25	17,0	2,46	18,13	0,509	2,60	2,60	0,0616	0,0012
(WT)	0,022	0,264	0,895	0,243	1,059	0,02	0,019	0,019	0,007	0,0007

Tabla 9b

Aislado	Mutaciones													
	RT	K020R D128E	V035M K219Q	K064H	D067G	T069N	K070R	K102R/K	V1118I	E122K	I135T	S162A	M184V	T215S
19	PR	V003I	L010I	L019I	S037Q	M046L	I054V	R057K	L063P	A071V	V082A	L090M		
	RT	K020R Y181C	T058N M184V	A062V	S068G	T069T/I	V075I	F077L	A098S	K103N	F116Y	I135T	I142M	Q151M
20	PR	V003I	L010I	T012P	K014R	I015V/I	G016E	S037N	M046I	I054V	K055R	I062V	L063N	A071T
		V077I	V082A	I085V	L090M									
	RT	K020R	V035I	T039A	M041L	K043E	E044A	D067N	V075A	K103N	V118I	I135M	Y181C	H208Y
		L210W	R211K											
21	PR	V003I	L010I	T015V	K020R	E035D	M036I	S037K	R041N	K043T/K	M041I	L063P	H069K	A071V
		T074S	V082F	N088E	L084M	L090M	I093L							
	RT	K020R	V035T	T039R	M041L	K043E	E044D	V060I	I063M/I	D067N	T068D	A098G	V118I	D121H
		I135T/I	I142V											
22	PR	V003I	L010I	E034E/(	Q S037H	M046I	I054V	I062V	L063S	V082A	L089L/M			
	RT	K020R/K	T039A/T	M041L	K043E	E044D	D067N	V118I	M184V	E203E/K	Q207E	H208Y	L210W	R211K
		L214F	T215Y											
23	PR	V003I	L010I	T015V	K020I	L024I	M036I	S037N	I054V	R057K	L063P	A071V	V082A	
	RT	K011R	D067N	K070R	I135T	Y181V/D	M184V	D218E/D	K219Q	P272A	R277K	R284R/K	I293V	E297V
		M357T/M	G359G/S											
24	PR	V003I	I015V	D030N	E035D	S037D	L063P	V077I	N088D					
	RT	K064R	E122K	D123E	D177E	M184V	G198R	R211G	L214F	V245T/M	E297A	I326V	I329L	T338S
		N348I	R358K											
25	PR	V003I	K020I	T026T/I	I S037N	M046I	L063P	A071V	G073S	V077I	I084V	L090M	I093L	
	RT	V035M	D067N	T069D	K070R	E122P	D177E	M184V	I202V	Q207E	R211K	L214F	T215F	K219Q
		E224K	R277K											
26	PR	V003I	L010I	S037N	R041K	G048V	I054S	I062V	L063S	I064L	A071V	V082A	I093L	
	RT	P004S	V060I	V090I	E122K	I135Y	T135A/T	Q174K	Y181C	E194K	G196E	R211K	L214F	H221H/Y
		V245M	R277K											
27	PR	V003I	L010I	I015V	K020R	M036I	S037N	R041K	G048V	I054T/I	L063T	A071A/V	T074A	V082A
		I093L												

Tabla 9c

Aislado	Mutaciones															
	RT	M041L H208Y	K043Q L210W	E044D	V060I	D067N	T069D	L074L/I	K103N	F116F/L	D123E	I135T	Y181C	G196E		
28	PR	V003I L090M	L010I I093L	I015V M036I	M036I I093L	S037D	G048V	I054V	D060E	Q061E	I062V	I064V	A071V	V082A		
	RT	P004S L214F	M041L T215F	D067N	T069D	K070R	V090I	K103N	I135T	S162A	V179I	Y181C	G196E	Q207E		
29	PR	V003I	L010I	K020I	S037N	M048M/I	L063P	I072I/K	G073C	V077I	L090M					
	RT	V035I L214F	T039A/E T215Y	M041L	E044D	L074L/V	R083K	K102Q	S162C	I178L	E203K	H208Y	L210W	R211K		
30	PR	V003I	L010I	E035D	R041K	L063P	A071A/V	I072V/I	G073G/S	V077I	I084V/I	L090M	I093L			
	RT	D067N L283I	T069D I293V	I142V	E169D	Y181C	M184V	Q207E	R211K	L214F	T215Y	D250E	P272A	Q278E		
31	PR	V003I	L010L/I	E035D	M036M/I	S037N	M046X	I054V	L063P	I066F	A071V	V082A/T	I084V/I			
	RT	K032R/K T286A	K064R I293V	D067N	K070R	K103N/K	E122K	Y181F/C	M184V	R211K	L214F	D218E	K219Q	E248D		
32	PR	V003I	L010I	S037N	G048V	I054V	I062V/I	L063P	A071A/T	V077I	V082A	I093L				
	RT	K020R Q334L/Q	M041L T338S/T	D123N	I178L	M184V	T200A/T	E203D	Q207E	L210L/W	L214F	T215Y	R277K	T286A		
33	PR	V003I	L010I	E035D	M036I	S037D	D060E	L063P	I064V	I084V	L090M					
	RT	M041L/M V245T	D067N P272A	T063T/N	K070R	D177D/E	M184V	I202V	Q207E	L210W	R211K	L214F	T215Y	K219Q		
34	PR	V003I	L010V	S037N	K043T	I054V	L063P	A071V	V082A	L090M						
	RT	K020R D218E	V035M K219Q	K064H	D067G	T069N	K070R	K102R/K	V118I/I	E122K	I135T	S162A	M184V	T215S		
35	PR	V003I	L010I	L019I	S037Q	M046L	I054V	R057K	L063P	A071V	V082A	L090M				
	RT	K020R Y181C	T058N M184V	A062V	S068G	T069T/I	V075I	F077L	A098S	K103N	F116Y	I135T	I142M	Q151M		

[0135] Los resultados de este experimento muestran aún más la eficacia de un compuesto ejemplar de la presente invención frente a una amplia gama de virus mutantes en comparación con otros inhibidores conocidos. Estos virus mutantes representan un panel de los aislados clínicos resistentes más ampliamente transversales conocidos hasta la fecha sobre la base de su resistencia a inhibidores de proteasa VIH utilizada terapéuticamente. El Compuesto 32 era consistentemente potente contra todos los virus mutantes clínicamente aislados ensayados, y era significativamente más potente contra estos virus resistentes a fármacos múltiples que los fármacos comparativos que se utilizan actualmente en la terapia del VIH-1 humano. El Compuesto 32 era de diez a mil veces más potente contra estos virus que incluso saquinavir, uno de los compuestos más potentes que se conocen contra VIH-1 resistente a fármacos múltiples. Basándose en la alta potencia, se cree que estos mutantes no sólo serán inhibidos, pero también que estos mutantes no serían capaces de manifestarse si el compuesto se administra a un paciente infectado con un virus predecesor.

5

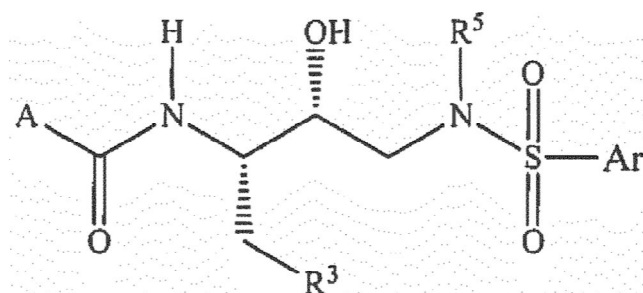
Reivindicaciones

1. Una cantidad eficaz inhibidora de la resistencia de un compuesto de fórmula:

10

15

20

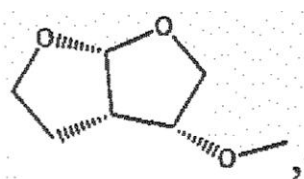


en el que:

25

(i) A es

30



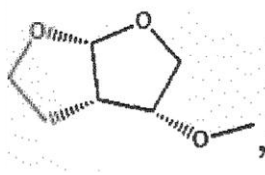
35

R³ es fenilo, R⁵ es isobutilo, y Ar es fenilo sustituido con un grupo m-hidroxilo, un grupo m- o p-hidroximetilo, o un grupo p-aminometilo; o

40

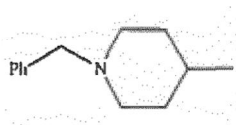
(ii) A es

45



R³ es

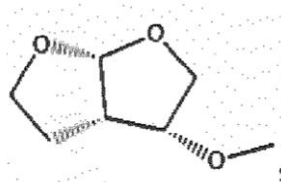
50



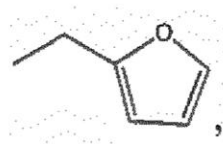
55

R⁵ es isobutilo, y Ar es p-metoxifenilo;
(iii) A es

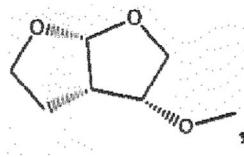
60



R³ es fenilo, R⁵ es



y Ar es m-metoxifenilo; o
(iv) A es



R³ es fenilo, R⁵ es isobutilo, y Ar es p-aminofenilo

para su uso en el tratamiento de un mamífero infectado por el VIH que está infectado con un VIH mutante, en combinación con un agente antiviral seleccionado del grupo que consiste en ritonavir, indinavir y saquinavir en un vehículo farmacéuticamente aceptable, en el que dicho tratamiento previene la aparición de resistencia a los medicamentos debido a mutaciones adicionales.

o

2. La cantidad efectiva inhibidora de la resistencia del compuesto de la reivindicación 1, que es un compuesto de selección (i).
3. La cantidad efectiva inhibidora de la resistencia del compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto es un compuesto de selección (ii),
4. La cantidad efectiva inhibidora de la resistencia del compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto es un compuesto de la selección (iii).
5. La cantidad efectiva inhibidora de la resistencia del compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto es un compuesto de selección (iv).
6. La cantidad efectiva inhibidora de la resistencia del compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que dicho mamífero infectado con el VIH es infectado por un VIH mutante con al menos una mutación de proteasa.
7. La cantidad efectiva inhibidora de la resistencia del compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que el agente antiviral es ritonavir.
8. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz inhibidora de la resistencia del compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-7 para su uso en el tratamiento de un mamífero infectado por el VIH que está infectado con un VIH mutante, en combinación con un agente antiviral seleccionado del grupo que consiste de ritonavir, indinavir y saquinavir en un vehículo farmacéuticamente aceptable.

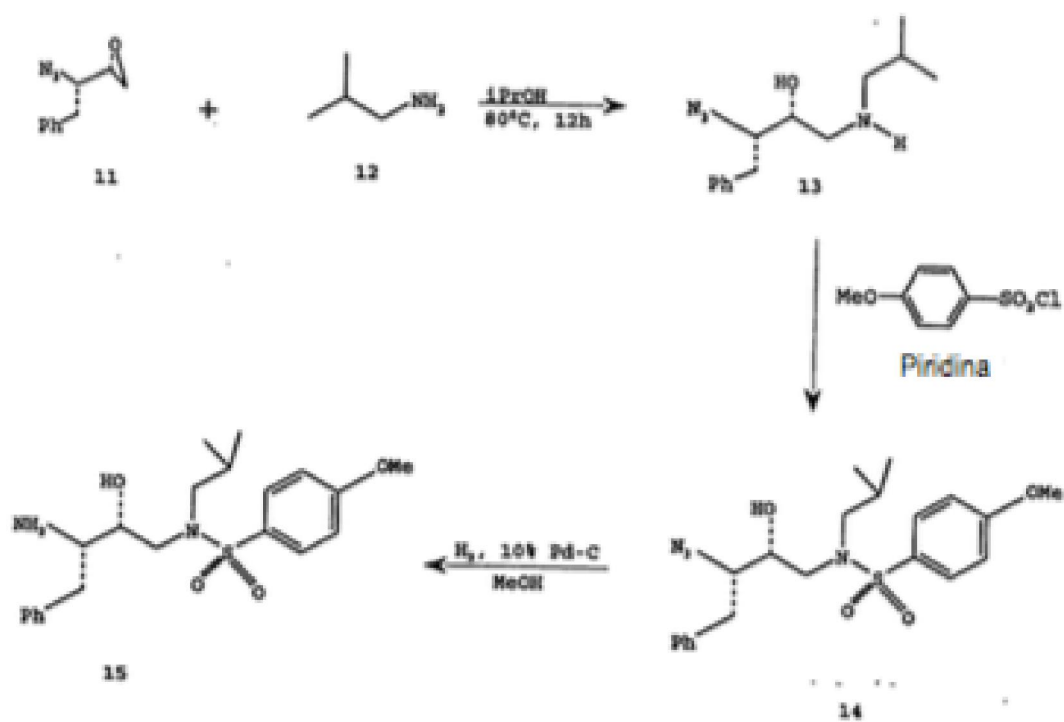


Fig. 1

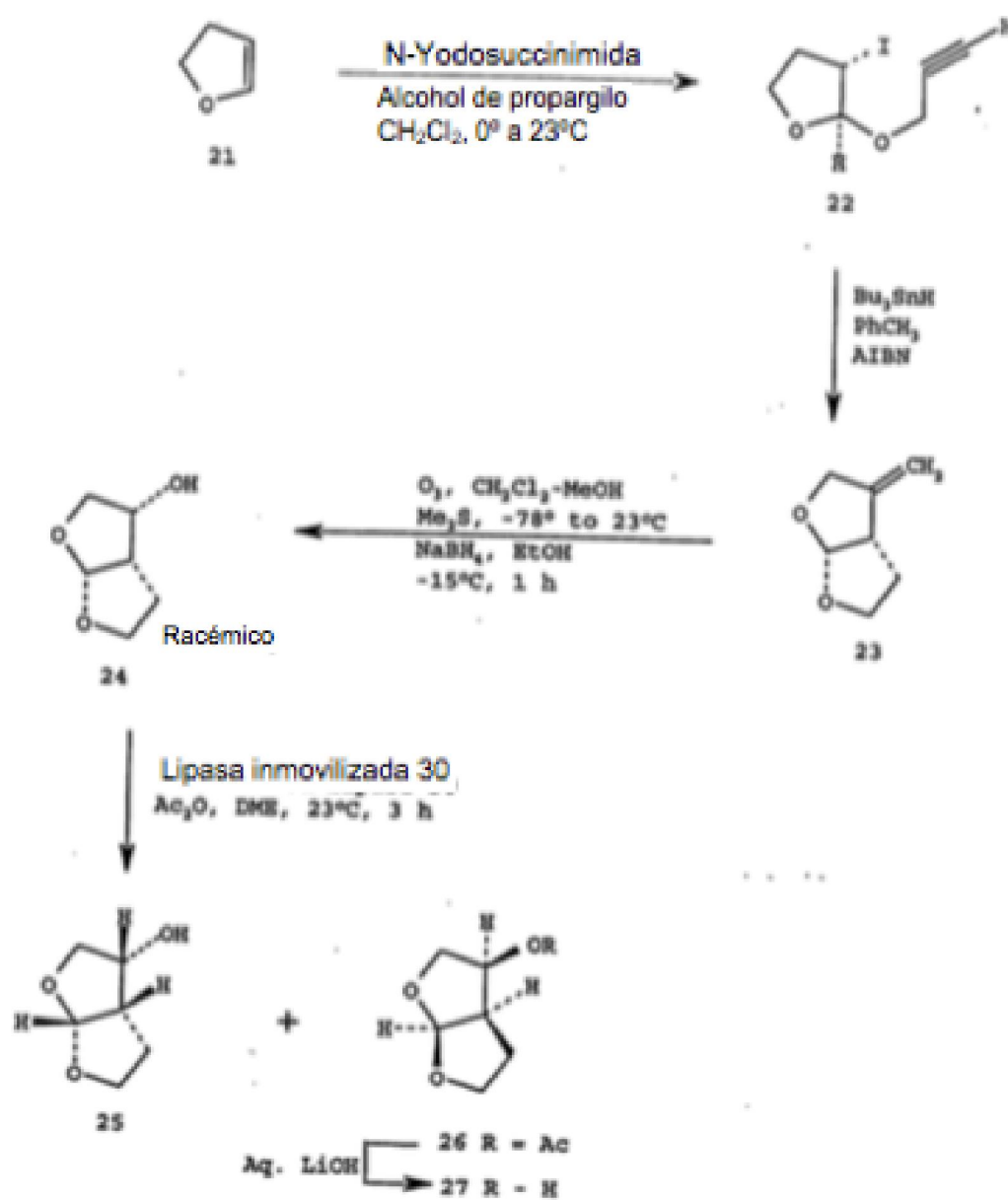


Fig. 2

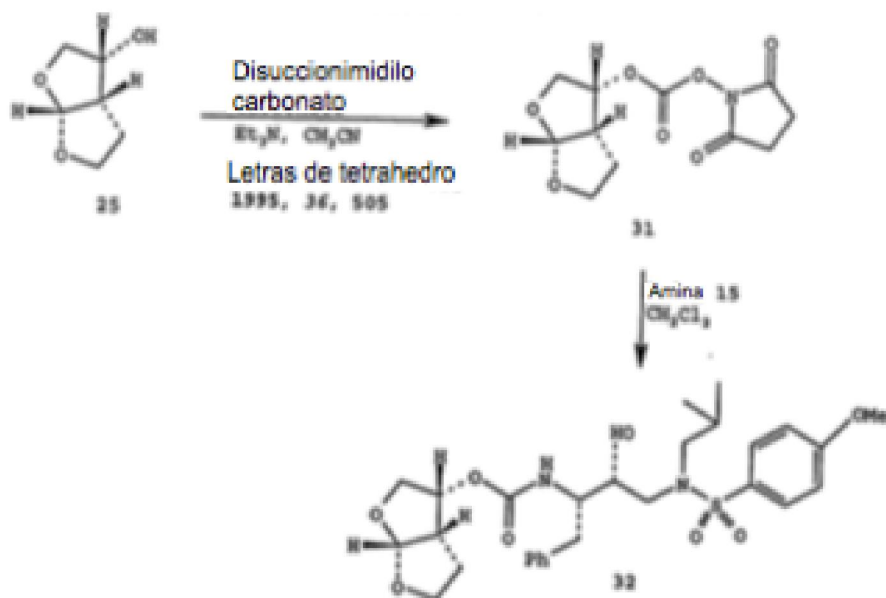


Fig. 3A

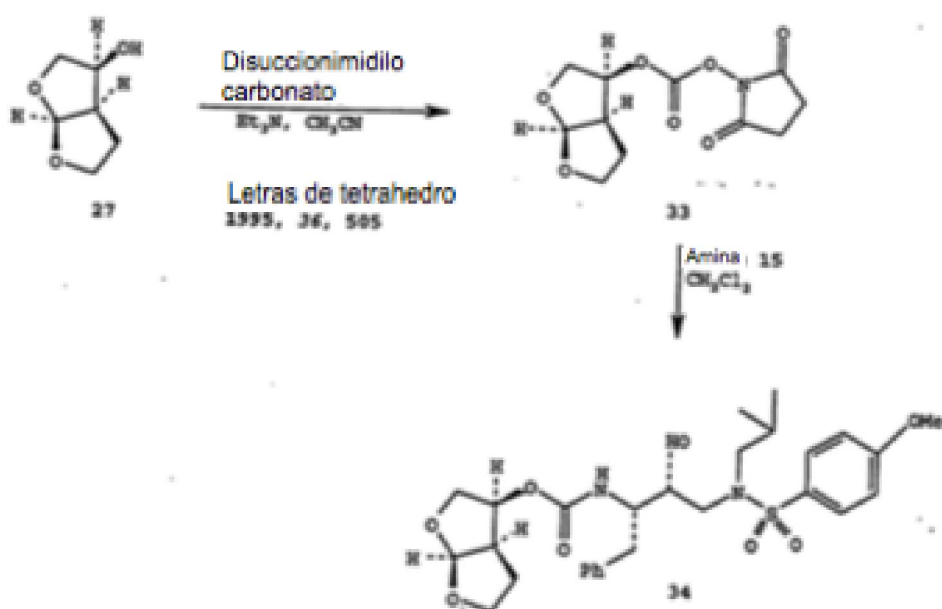


Fig. 3B

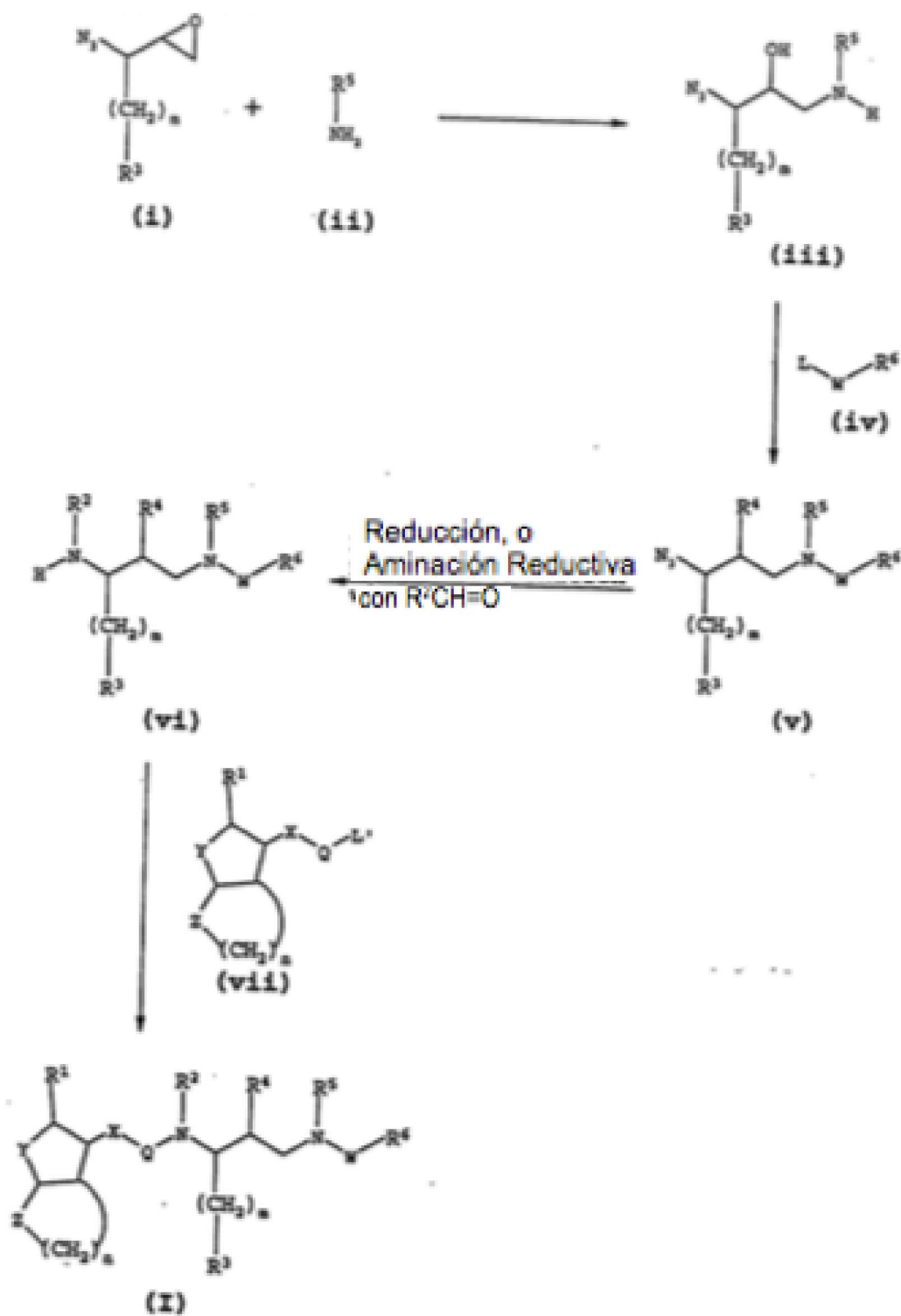
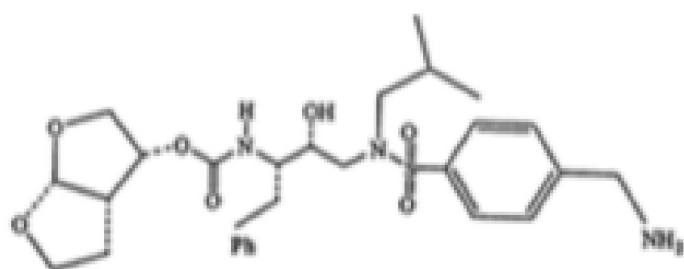
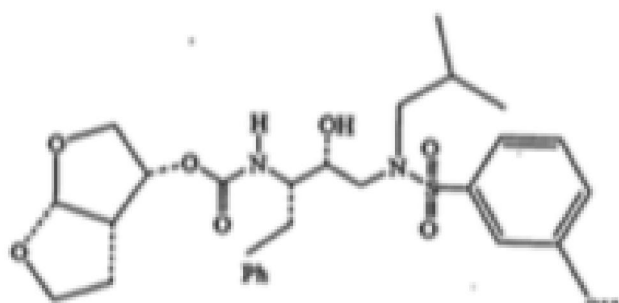


Fig. 4



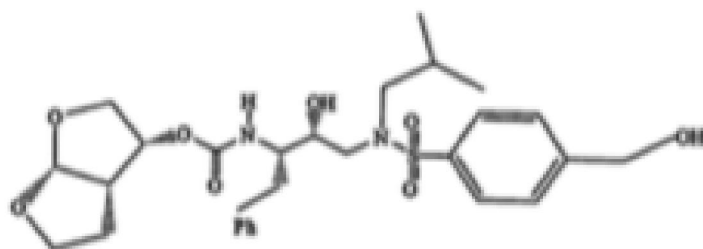
35

Fig. 5A



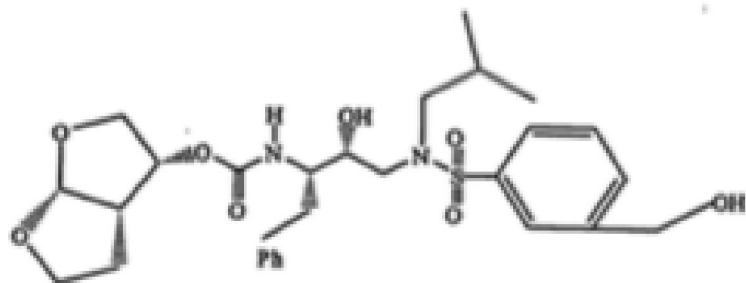
36

Fig. 5B



37

Fig. 5C



38

Fig. 5D