



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 969 969**

⑮ Int. Cl.:

A61K 31/513 (2006.01)
A61K 31/5365 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)
A61P 31/18 (2006.01)
A61P 37/04 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑯ Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.01.2011 E 19151897 (6)**

⑯ Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.12.2023 EP 3494972**

⑮ Título: **Combinaciones de dolutegravir y lamivudina para el tratamiento de la infección por VIH**

⑯ Prioridad:

27.01.2010 US 29858910 P

⑯ Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
23.05.2024

⑯ Titular/es:

VIIV HEALTHCARE COMPANY (100.0%)
251 Little Falls Drive
Wilmington, DE 19808, US

⑯ Inventor/es:

UNDERWOOD, MARK RICHARD

⑯ Agente/Representante:

ARIZTI ACHA, Monica

ES 2 969 969 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Combinaciones de dolutegravir y lamivudina para el tratamiento de la infección por VIH

5 **Antecedentes de la invención**

El virus de inmunodeficiencia humana ("VIH") es el agente causante del síndrome de inmunodeficiencia adquirida ("SIDA"), una enfermedad caracterizada por la destrucción del sistema inmunológico, en particular de las células-T CD4+, con una susceptibilidad concomitante con las infecciones oportunistas, y de su precursor, el complejo relacionado con SIDA ("ARC"), un síndrome caracterizado por síntomas tales como linfadenopatía generalizada persistente, fiebre y pérdida de peso. El VIH es un retrovirus; la conversión de su ARN en ADN se lleva a cabo a través de la acción de la enzima transcriptasa inversa. Los compuestos que inhiben la función de la transcriptasa inversa inhiben la replicación del VIH en las células infectadas. Estos compuestos son útiles en la prevención o el tratamiento de la infección por VIH en los seres humanos.

10 15 Además de CD4, el VIH requiere de un co-receptor para entrar en las células diana. Los receptores de quimiocina funcionan junto con CD4 como co-receptores para el VIH. Los receptores de quimiocina CXCR4 y CCR5 se han identificado como los co-receptores principales para el VIH-1. CCR5 actúa como un correceptor principal para la fusión y la entrada del VIH trófico en macrófagos en las células huésped. Se piensa que estos receptores de quimiocina tienen una función esencial en el establecimiento y en la diseminación de una infección por VIH. Por consiguiente, se piensa que los antagonistas de CCR5 son útiles como agentes terapéuticos activos contra el VIH.

20 25 Como en el caso de otros diversos retrovirus, el VIH codifica la producción de una proteasa que lleva a cabo la disociación posterior a la traducción de los polipéptidos precursores en un proceso necesario para la formación de viriones infecciosos. Estos productos genéticos incluyen pol, que codifica el virión de polimerasa de ADN dependiente del ARN (transcriptasa inversa), una endonucleasa, la proteasa de VIH y gag, que codifica las proteínas nucleares del virión.

30 35 Un enfoque del diseño de fármacos antivíricos ha sido el de crear compuestos que inhiban la formación de viriones infecciosos mediante la interferencia con el procesamiento de los precursores de poliproteína vírica. El procesamiento de estas proteínas precursoras requiere de la acción de las proteasas codificadas por el virus que son esenciales para la replicación. El potencial antivírico de inhibición de la proteasa de VIH se ha demostrado usando inhibidores de peptidilo.

40 45 Un paso requerido en la replicación del VIH en las células-T humanas es la inserción de ADN pro-vírico mediante la integrasa víricamente codificada en el genoma de la célula huésped. Se cree que la integración está mediada por la integrasa en un proceso que implica el ensamblaje de un complejo de nucleoproteína estable con secuencias de ADN vírico, la disociación de dos nucleótidos a partir de los extremos terminales 3' del ADN pro-vírico lineal, y la unión covalente de los extremos terminales 3' OH retirados del ADN pro-vírico en un corte escalonado hecho en el sitio diana del huésped. La síntesis de reparación del hueco resultante se puede llevar a cabo mediante las enzimas celulares. Los inhibidores de la integrasa de VIH pueden ser eficaces en el tratamiento de SIDA y en la inhibición de la replicación vírica.

50 55 La administración de combinaciones de compuestos terapéuticos en el tratamiento de la Infección por VIH y las condiciones relacionadas, pueden dar como resultado una actividad antivírica potenciada, una toxicidad reducida, una progresión retardada hasta la resistencia y un aumento en la eficacia del fármaco. Las combinaciones administradas en una sola unidad de dosificación pueden dar como resultado un aumento en el cumplimiento del paciente, a medida que se reduce la carga de la píldora y se simplifican los programas de dosificación. Sin embargo, no todos los compuestos son adecuados para su administración en combinaciones. Los factores que tienen influencia sobre la factibilidad de las combinaciones incluyen la inestabilidad química de los compuestos, el tamaño de la unidad de dosificación, el potencial de actividades antagonistas o meramente aditivas de los compuestos combinados y las dificultades para lograr una formulación adecuada.

El NCT 0951015 (<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00951015>) es un ensayo clínico de fase IIb sobre el uso de dolutegravir (GSK1349572) en el tratamiento del VIH-1.

Exp. Opin. Drug Metab. Toxicol. 2010, 6(1), 105 analiza la lamivudina para el tratamiento del VIH.

60 Continúa existiendo una necesidad de encontrar agentes terapéuticos adecuados para usarlos en composiciones farmacéuticas de combinación y factibles para tratar la infección por VIH. Debido a su alta potencia y perfil farmacocinético, algunos inhibidores de la integrasa de VIH son atractivos como componentes en la terapia de combinación.

Breve descripción de las figuras

Figura 1: Inhibición de HIV-1_{III}B por un compuesto de fórmula (I), GSK1349572A, en combinación con abacavir (ABC).

5 Figura 2: Inhibición de HIV-1_{III}B por un compuesto de fórmula (I), GSK1349572A, en combinación con efavirenz (EFV).

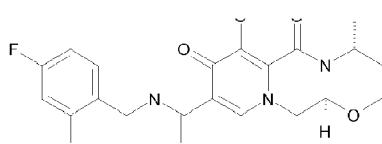
Figura 3: Inhibición de HIV-1_{III}B por un compuesto de fórmula (I), GSK1349572A, en combinación con lopinavir (LPV)

Sumario de la invención

10 La presente invención se refiere a combinaciones y composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y lamivudina. Dichas combinaciones son útiles en la inhibición de la replicación del VIH, la prevención y/o el tratamiento de Infección por VIH, y en el tratamiento de SIDA y/o ARC.

15 Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a combinaciones que comprenden un compuesto de la siguiente fórmula (I):



20 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y lamivudina.

25 La presente invención se refiere a tales combinaciones para su uso en métodos de tratamiento de la infección por VIH, SIDA y las afecciones relacionadas con el SIDA.

30 El compuesto de fórmula (I) también es conocido como GSK1349572. Un nombre químico del compuesto de fórmula (I) 4R, 12aS)-N-[(2,4-fluorofenil)metyl]-3,4,6,8,12,12a-hexahidro-7-hidroxi-4-metil-6,8-dioxo-2H-pirido [1',2':4,5]pirazino [2,1-b] [1,3] oxazina-9-carboxamida.

35 La expresión "portador o coadyuvante farmacéuticamente aceptable" se refiere a un portador o coadyuvante que se puede administrar a un paciente, junto con un compuesto de la presente invención, y que no destruye la actividad farmacológica del mismo, y no es tóxico cuando se administra en dosis suficientes para suministrar una cantidad terapéutica del agente antivírico.

40 35 El término "tratamiento", tal como se usa en el presente documento, se refiere al alivio de los síntomas de un trastorno particular en un paciente o a la mejora de una medición verificable asociada con un trastorno particular, y puede incluir la supresión de la recurrencia de los síntomas en un paciente asintomático, tal como un paciente en el que ha llegado a ser latente una infección vírica. El tratamiento puede incluir la profilaxis, que se refiere a la prevención una enfermedad o afección, o a la prevención de la aparición de los síntomas de esta enfermedad o afección, en un paciente. Como se usa en el presente documento, el término "paciente" se refiere a un mamífero, incluido un ser humano.

45 Tal como se usa en la presente, el término "sujeto" se refiere a un paciente, un animal o una muestra biológica.

50 45 Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de acuerdo con la invención incluyen aquellas derivadas a partir de ácidos y bases inorgánicos u orgánicos farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos de los ácidos adecuados incluyen los ácidos clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, nítrico, perclórico, fumárico, maleico, fosfórico, glicólico, láctico, salicílico, succínico, tolueno-p-sulfónico, tartárico, acético, cítrico, metano-sulfónico, etano-sulfónico, fórmico, benzoico, malónico, naftaleno-2-sulfónico y benceno-sulfónico. Se pueden usar otros ácidos, tales como el ácido oxálico, aunque por sí mismos no son farmacéuticamente aceptables, en la preparación de sales útiles como intermediarios en la obtención de los compuestos de la invención y sus sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables. Las sales derivadas a partir de las bases apropiadas incluyen las sales de metales alcalinos (por ejemplo, de sodio), de metales alcalinotérreos (por ejemplo, de magnesio), de amonio, NW₄⁺ (en donde W es alquilo C₁₋₄), y de otras aminas. Una sal ventajosa es la sal de sodio.

55 50 Las sales de los compuestos de la presente invención se pueden preparar mediante los procedimientos conocidos por una persona experta en la técnica. Por ejemplo, el tratamiento de un compuesto de la presente invención con una base o un ácido apropiados en un solvente apropiado puede proporcionar la sal correspondiente.

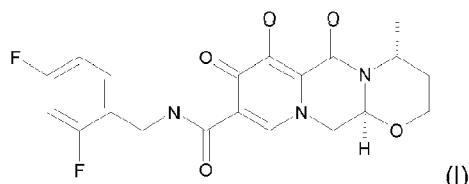
La presente invención se refiere a combinaciones de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y lamivudina para su uso en métodos de tratamiento o prevención de infecciones víricas, por ejemplo una infección por VIH, en un ser humano.

- 5 La combinación se puede administrar de una manera simultánea o en secuencia.

La combinación es particularmente adecuada para el tratamiento o la profilaxis de las infecciones por VIH y de las afecciones asociadas. La referencia en el presente documento al tratamiento puede extenderse hasta la profilaxis, así como al tratamiento de las Infecciones establecidas, los síntomas y las afecciones clínicas asociadas, tales como el complejo relacionado con SIDA (ARC), el sarcoma de Kaposi, y la demencia por SIDA.

15 El compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y lamivudina administrada simultáneamente (es decir, concurrentemente) en la misma o diferentes composiciones farmacéuticas o secuencialmente en cualquier orden. La(s) cantidad(es) del/los principio(s) activo(s) y del/los agente(s) farmacéutico(s) activo(s), así como los tiempos relativos de administración, se seleccionarán con el fin de lograr el efecto terapéutico combinado deseado.

La presente invención proporciona una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I)



- 20

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y lamivudina.

25 La presente invención presenta un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y lamivudina para su uso en terapia médica.

La presente invención también presenta un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y lamivudina para su uso en el tratamiento de la infección por VIH.

- 30 La presente invención presenta una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y lamivudina.

La presente invención proporciona combinaciones, composiciones farmacéuticas y sus usos tal como se ha descrito anteriormente, en donde una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de fórmula (I) es una sal de sodio.

- 35 La presente invención presenta combinaciones y composiciones farmacéuticas para el uso tal como se ha descrito anteriormente, en donde el sujeto es un ser humano.

La presente invención presenta combinaciones y composiciones farmacéuticas para el uso tal como se ha descrito anteriormente, en donde la combinación se administra secuencialmente.

- La presente invención presenta combinaciones y composiciones farmacéuticas para el uso tal como se ha descrito anteriormente, en donde la combinación se administra de forma simultánea o concurrente.

Los compuestos de fórmula (I) se pueden preparar mediante los procedimientos divulgados en los documentos WO 2006/116764, US 61/193,634 (WO2010/068253) o US 61/193,636 (WO2010/068262).

- La lamivudina se puede elaborar mediante procedimientos divulgados en las patentes estadounidenses N° 5.047.407; 5.119.292; 5.205.282; 5.262.254; 5.262.290; 5.262.787; 5.251.792 o 5.299.522.

Los agentes terapéuticos de las combinaciones se pueden elaborar de acuerdo con los procedimientos publicados o

- mediante cualquier procedimiento conocido por los expertos en la técnica.

La composición puede ser una composición farmacéutica, que comprende un compuesto de fórmula (I), lamivudina, un

- un portador, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable. En una realización, la composición comprende una cantidad de una combinación de la presente invención eficaz para tratar o prevenir una infección vírica, por ejemplo una infección por VIH, en una muestra biológica o en un paciente. En otra realización, las combinaciones de la invención y las composiciones farmacéuticas de las mismas, que comprenden una cantidad de una combinación de la presente invención eficaz para inhibir la replicación vírica o para tratar o prevenir una infección o enfermedad o trastorno vírico, por ejemplo, una infección por VIH, y un portador, coadyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable, se puede formular para su administración a un paciente, por ejemplo, para su administración oral.
- 5 La presente invención proporciona combinaciones de acuerdo con la invención para usarlas en terapia médica, por ejemplo, para el tratamiento o la profilaxis de una infección vírica, por ejemplo, de una infección por VIH y las afecciones asociadas. Los compuestos de acuerdo con la invención son especialmente útiles para el tratamiento de SIDA y las afecciones clínicas relacionadas, tales como complejo relacionado con SIDA (ARC), linfadenopatía generalizada progresiva (PGL), sarcoma de Kaposi, púrpura trombocitopénica, afecciones neurológicas relacionadas con SIDA, tales como complejo de demencia por SIDA, esclerosis múltiple o paraparesis tropical, afecciones positivas a anticuerpos anti-VIH y positivas a VIH, incluidas dichas afecciones en pacientes asintomáticos.
- 10 La presente invención Incluye además el uso de una combinación de acuerdo con la invención en la elaboración de un medicamento para su administración simultánea (concurrente) o secuencialmente a un sujeto, para el tratamiento de una infección vírica, en particular una infección por VIH.
- 15 La presente invención Incluye además el uso de una combinación de acuerdo con la invención en la elaboración de un medicamento para su administración simultánea (concurrente) o secuencialmente a un sujeto, para el tratamiento de una infección vírica, en particular una infección por VIH.
- 20 Las combinaciones la presente invención se pueden administrar con un agente que se sepa que inhibe o reduce el metabolismo de los compuestos, por ejemplo, ritonavir. En consecuencia, la presente invención proporciona un procedimiento para el tratamiento o la profilaxis de una enfermedad tal como se ha descrito anteriormente en el presente documento, mediante la administración de un compuesto de la presente invención en combinación con un inhibidor metabólico. Esta combinación se puede administrar de una manera simultánea o secuencial.
- 25 En general, una dosis adecuada para cada una de las afecciones anteriormente mencionadas estará en el intervalo de 0,01 a 250 miligramos por kilogramo de peso corporal del receptor (por ejemplo, un ser humano) al día, en el intervalo de 0,1 a 100 miligramos por kilogramo de peso corporal al día; en el intervalo 1 a 30 miligramos por kilogramo de peso corporal al día; en el intervalo de 0,5 a 20 miligramos por kilogramo de peso corporal al día. A menos que se indique lo contrario, todos los pesos de los principios activos se calculan como el compuesto progenitor de fórmula (I) y lamivudina.
- 30 Para las sales de los mismos, los pesos se aumentarían de una manera proporcional. La dosis deseada se puede presentar como una, dos, tres, cuatro, cinco, seis o más subdosis administradas a intervalos apropiados a lo largo del día. En algunos casos, la dosis deseada se puede dar en días alternos. Estas subdosis se pueden administrar en formas de dosificación unitaria, por ejemplo, que contengan de 1 a 2000 miligramos; de 5 a 500 miligramos; de 10 a 400 miligramos, de 20 a 300 miligramos de cada principio activo por forma de dosificación unitaria.
- 35 40 Las combinaciones se pueden administrar para alcanzar concentraciones máximas en plasma de cada principio activo.
- 45 Aunque es posible que los principios activos se administren solos, es preferible que estén presentes en forma de una composición farmacéutica. Las composiciones de la presente invención comprenden un principio activo, tal como se ha definido anteriormente, junto con uno o más portadores aceptables para el mismo, y uno o más agentes terapéuticos adicionales. Cada portador debe ser aceptable en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la composición y no perjudicial para el paciente.
- 50 Las composiciones farmacéuticas incluyen las adecuadas para su administración oral, rectal, nasal, tópica (Incluyendo transdérmica, bucal y sublingual), vaginal o parenteral (incluyendo subcutánea, Intramuscular, Intravenosa, intradérmica e intravítreo). Las composiciones se pueden presentar de una manera conveniente en una forma de dosificación unitaria, y se pueden preparar mediante cualesquiera procedimientos bien conocidos en la técnica de la farmacia. Tales métodos representan una característica adicional de la presente invención e incluyen la etapa de poner en asociación los principios activos con el soporte, que constituye uno o más ingredientes complementarios. En general, las composiciones se preparan poniendo en asociación, de una manera uniforme e íntima, los principios activos con portadores líquidos o con portadores sólidos finamente divididos, o ambos, y entonces, si es necesario, se conforma el producto.
- 55 60 La presente invención incluye además una composición farmacéutica tal como se ha definido anteriormente en el presente documento, en el que un compuesto de la presente invención o un derivado farmacéuticamente aceptable del mismo, y otro agente terapéutico, se presentan por separado unos de otros, como un kit de partes.
- 65 Las composiciones adecuadas para su administración transdérmica se pueden presentar como parches separados adaptados para permanecer en contacto íntimo con la epidermis del receptor durante un período de tiempo prolongado. Estos parches, de una manera adecuada, contienen el compuesto activo 1) en una solución acuosa

opcionalmente tamponada, o 2) disuelto y/o dispersado en un adhesivo o 3) dispersado en un polímero. Una concentración adecuada del compuesto activo es de aproximadamente el 1 % al 25 %, preferentemente de aproximadamente el 3 % al 15 %. Como una posibilidad particular, el compuesto activo se puede suministrar a partir del parche mediante electrotransporte o iontoporesis, como se describe en términos generales en *Pharmaceutical Research* 3(6), 318 (1986).

5 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención adecuadas para su administración oral se pueden presentar como unidades separadas, tales como cápsulas, comprimidos oblongos, sellos o comprimidos, que contienen cada una cantidad previamente determinada de los principios activos; como polvo o gránulos; como una 10 solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso; o como una emulsión líquida de aceite en agua o como una emulsión líquida de agua en aceite. El principio activo también se puede presentar como un bolo, electuario o pasta.

15 Un comprimido se puede elaborar mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes complementarios. Los comprimidos prensados se pueden preparar mediante compresión, en una máquina adecuada, de los principios activos en una forma de flujo libre, tal como un polvo o gránulos, opcionalmente mezclados con un aglutinante (por ejemplo, povidona, gelatina, hidroxi-propil-metil-celulosa), lubricante, diluyente inerte, conservante, 20 disgregante (por ejemplo, almidón-glicolato de sodio, povidona reticulada, carboxi-metil-celulosa sódica reticulada), un agente tensioactivo o de dispersión. Los comprimidos moldeados se pueden elaborar mediante el moldeo de una mezcla del compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte, en una máquina adecuada. Los comprimidos se pueden recubrir o marcar opcionalmente, y se pueden formular de tal manera que se proporcione una liberación lenta o controlada de los principios activos de las mismas, usando, por ejemplo, hidroxi-propil-metil-celulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado. Los comprimidos pueden estar provistos 25 opcionalmente con un recubrimiento entérico, para proporcionar la liberación en partes del intestino diferentes del estómago.

30 Las composiciones farmacéuticas adecuadas para su administración tópica en la boca incluyen grageas, que comprenden los principios activos en una base saborizada, habitualmente sacarosa y acacia o tragacanto; pastillas que comprenden el principio activo en una base inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y acacia; y enjuagues bucales que comprenden al principio activo en un portador líquido adecuado.

35 Las composiciones farmacéuticas adecuadas para administración vaginal se pueden presentar como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o aerosol. Las composiciones farmacéuticas pueden contener, además del principio activo, los portadores conocidos en la técnica como apropiados.

40 Las composiciones farmacéuticas para administración rectal se pueden presentar como un supositorio con un portador adecuado que comprende, por ejemplo, manteca de cacao o un salicilato, u otros materiales comúnmente usados en la técnica. Los supositorios se pueden formar de una manera conveniente mediante el mezclado de la combinación activa con los vehículos reblandecidos o fundidos, seguido por un enfriamiento y su conformación en los moldes.

45 Las composiciones farmacéuticas adecuadas para su administración parenteral incluyen soluciones para inyección isotónicas estériles acuosas y no acuosas, que pueden contener antioxidantes, reguladores del pH, bacteriostáticos y solutos que hagan que la composición farmacéutica sea isotónica con la sangre del receptor pretendido; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas, que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes; y liposomas u otros sistemas en micropartículas que se diseñen para dirigir el compuesto hacia los componentes de la sangre o hacia uno o más órganos. Las composiciones farmacéuticas se pueden presentar en recipientes sellados de dosis unitaria o de múltiples dosis, por ejemplo, ampollas y viales, y se pueden almacenar en una condición secada por congelación (lioofilizada) que requiera solamente la adición del portador líquido estéril, por ejemplo agua para inyecciones, inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y suspensiones para inyección extemporáneas se 50 pueden preparar a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos de la clase anteriormente descrita.

55 Las composiciones farmacéuticas de dosificación unitaria incluyen las que contienen una dosis diaria o una subdosis diaria de los principios activos, tal como se ha mencionado anteriormente en el presente documento, o una fracción apropiada de las mismas.

60 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden presentar como paquetes para los pacientes que contengan uno o más cursos de tratamiento en un solo paquete, por ejemplo, un paquete alveolado. Se entenderá que la administración de la combinación de la invención por medio de un solo paquete para el paciente, o paquetes de cada composición para el paciente, es una característica adicional de la invención.

65 Se debe entender que, además de los ingredientes particularmente mencionados anteriormente, las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden incluir otros agentes convencionales en la técnica, teniendo consideración con el tipo de composición farmacéutica en cuestión, por ejemplo, los adecuados para su administración oral pueden incluir agentes adicionales tales como edulcorantes, espesantes y agentes saborizantes.

Ejemplos**Ejemplo 1: Actividad Biológica**

5

Ensayos**Procedimiento**

- 10 La actividad antivírica de VIH se midió por medio de un procedimiento colorimétrico basado en tetrazolio en la línea celular MT-4 transformada con el virus de leucemia de células-T humanas (HTLV-1). Se diluyeron partes alícuotas del compuesto de ensayo de manera vertical a través de una placa de ensayo maestra de pocillos profundos (RPMI 1640, suero bovino fetal (FBS) al 10 por ciento en volumen/volumen y 10 u/ml de gentamicina), en concentraciones que fueron aproximadamente 40 veces más elevadas que la concentración del ensayo final. Las diluciones en serie se
- 15 realizaron en cualquier proporción de 1:2 o de 1:3,16. Se diluyeron inhibidores de VIH de manera horizontal a través de las placas de ensayo maestras, también en concentraciones que fueron aproximadamente 40 veces más altas que la concentración del ensayo final. Se combinaron partes alícuotas pequeñas de los compuestos de la dilución vertical y de la dilución horizontal en placas hijas usando un sistema automatizado de pipeteo de 96 pocillos (RapidPlate-96, Zymark Corp.). Las diluciones de estilo de tablero de ajedrez se configuraron de tal manera que cada concentración
- 20 del compuesto de ensayo se probó en presencia y en ausencia de cada concentración de los inhibidores de VIH. Los ensayos de actividad anti-VIH se llevaron a cabo en ensayos triplicados, o más, de cada combinación. Las células MT-4 en crecimiento exponencial se recogieron y se centrifugaron a 1.000 revoluciones por minuto durante 10 minutos en un centrifugador Jouan (Modelo CR 4 12). Los pellets celulares se volvieron a suspender en medio fresco (RPMI 1640, 20% vol./vol. FBS, 20% vol./vol. IL-2, y 10 µg/mL de gentamicina) hasta una densidad de $1,25 \times 10^6$ células/mL.
- 25 Se infectaron partes alícuotas de células mediante la adición de VIH-1 (cepa IIIB) diluido para dar una multiplicidad de infección vírica (MOI) de 73 ufp por 1×10^4 células. Una parte alícuota de células similar se diluyó con el medio para proporcionar un control falsamente infectado. La infección de las células se dejó proceder durante 1 hora a 37 °C en una incubadora de cultivo de tejidos con una atmósfera humidificada con CO₂ al 5 %. Después de 1 hora de incubación, se agregó la suspensión de virus/células a cada pocillo de las placas que contenía los compuestos previamente
- 30 diluidos. Después, las placas se pusieron en una incubadora de cultivo de tejidos humidificada con CO₂ al 5 % durante 5 días. Al final del periodo de incubación, se añadieron 40 µl del reactivo CellTiter 96 MTS (Promega N° G3581) a cada pocillo de la placa de incubación. Las placas se incubaron a 37 °C durante 2 a 3 horas para permitir el desarrollo de color. Se midió la D.O. a 492 nanómetros usando un lector de absorbancia de microplacas (Tecan N° 20-300).

35 Virus usado

VIH-1 cepa IIIB, cepa de laboratorio de tipo silvestre, valoración del virus = 6,896 E4 TCID₅₀/mL.

40 Análisis de datos

- 40 Aunque algunos formatos de ensayo, en teoría, podrían perder el antagonismo debido a una citotoxicidad de la combinación, el planteamiento descrito en la presente no debería perder el efecto antagonista. La lectura del ensayo de células MT-4 usa MTS, un reactivo de tinción basado en tetrazolio, en el que se usan cambios en la densidad óptica (D.O.) del reactivo para estimar el número de células restantes después del tratamiento. Los números de células MT-4 finales pueden reducirse debido a dos efectos. En primer lugar, se puede presentar una citotoxicidad inducida por VIH cuando el VIH destruye más del 75 % de las células MT-4 durante los 5 días siguientes a la infección. En segundo lugar, se puede presentar una citotoxicidad inducida por el compuesto, en la que el compuesto destruye directamente a las células MT-4 o bien impide el crecimiento celular (estasis) durante los 5 días en las células ya estén infectadas o no infectadas. En cualquiera de estas situaciones, la D.O. es baja en comparación con las células infectadas protegidas por compuestos anti-VIH-1 o en relación con las células de control no tratadas y no infectadas. Debido a que tanto los efectos citotóxicos como el antagonismo de la actividad anti-VIH conducirían a una D.O. más baja, no deberíamos perder un efecto antagonista debido a la citotoxicidad de la combinación, pero podríamos subestimar a las combinaciones sinérgicas.
- 55 Dentro del ensayo, se evaluó la citotoxicidad de la combinación mediante la comparación de los pocillos que contenían las células MT-4 no infectadas a partir de las placas de ensayo que contenían la concentración más alta del compuesto de prueba o el compuesto de comparación con los pocillos que contenían las células MT-4 infectadas por VIH-1 en las concentraciones de combinación más altas correspondientes. Para cada uno de estos valores, hay un pocillo por placa de ensayo, y por consiguiente, hay cuando menos 3 pocillos por ensayo de combinación. Aunque no comprenden un análisis formal de citotoxicidad de la combinación, la proporción del compuesto en combinaciones con el compuesto solo proporciona una medida de la citotoxicidad de la combinación del compuesto dentro de las concentraciones examinadas.

La interacción de cada par de combinaciones de compuestos se analizó por los métodos descritos por Selleseth, D.W.

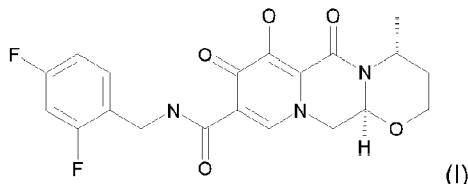
et al. (2003) *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 47:1468-71. El sinergismo y el antagonismo se definen como desviaciones de la aditividad por dosis que resulta cuando dos fármacos interactúan como si fueran el mismo fármaco. Los valores para la desviación promedio a partir de la aditividad en el intervalo de 0,1 a -0,2 indican un sinergismo débil, y los valores que se aproximan a 0,5 indicarían un sinergismo fuerte de la interacción. A la inversa, los valores positivos de 0,1 a 0,2 indicarían que existe un antagonismo débil entre los tratamientos.

5 Resultados (referencia)

10 Se encontró que un compuesto de fórmula (I) es aditivo con raltegravir, adefovir y maraviroc, y no estuvo afectado por la presencia de ribavirina. Se encontró que un compuesto de fórmula (I) es sinérgico con estavudina, abacavir, efavirenz, nevirapina, lopinavir, amprenavir y enfuvirtida.

REIVINDICACIONES

1. Una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I)



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y lamivudina.

- 10 2. Una combinación de acuerdo con la reivindicación 1 en donde la sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de fórmula (I) es la sal de sodio.
- 15 3. Una combinación de acuerdo con la reivindicación 1 para su uso en terapia médica.
4. Una combinación de acuerdo con la reivindicación 1 para su uso en el tratamiento de infección por VIH.
- 15 5. Una composición farmacéutica que comprende una combinación de acuerdo con la reivindicación 1 junto con un portador farmacéuticamente aceptable para la misma.
- 20 6. Una combinación para uso de acuerdo con la reivindicación 4 en donde la combinación es administrada simultáneamente.
7. Una combinación para uso de acuerdo con la reivindicación 4 en donde la combinación es administrada secuencialmente.
- 25 8. Uso de una combinación de acuerdo con la reivindicación 1 para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de la infección por VIH.

Figura 1: Inhibición de HIV-1_{BB} mediante un compuesto de fórmula (I) GSK1349572A, en combinación con abacavir (ABC).

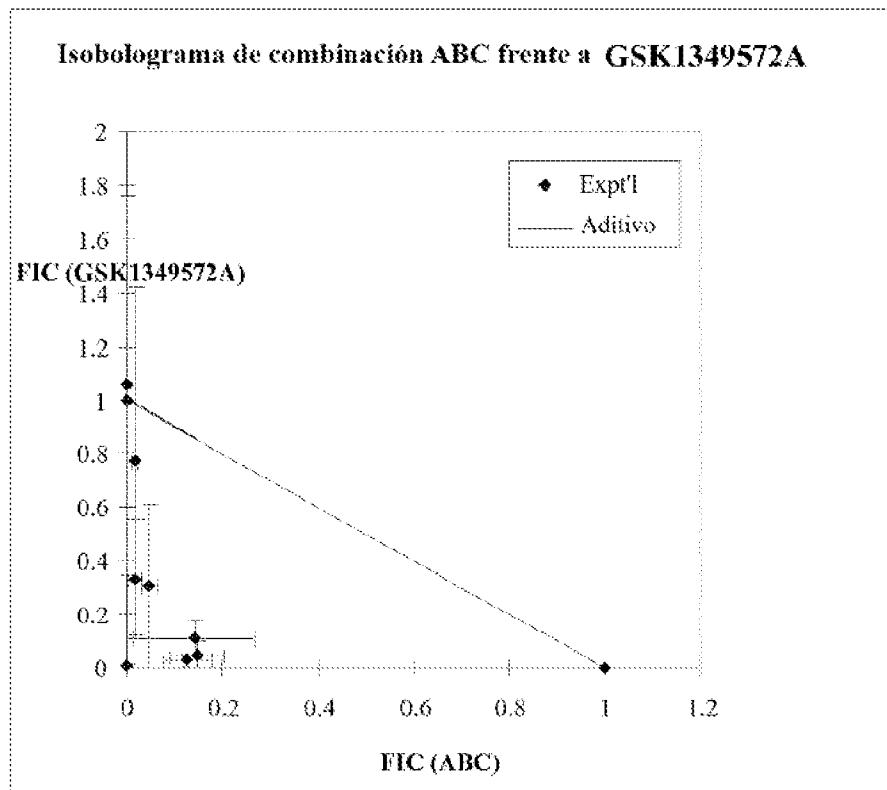


Figura 2: Inhibición de HIV-1_{BB} mediante un compuesto de fórmula (I) GSK1349572A, en combinación con efavirenz (EFV)

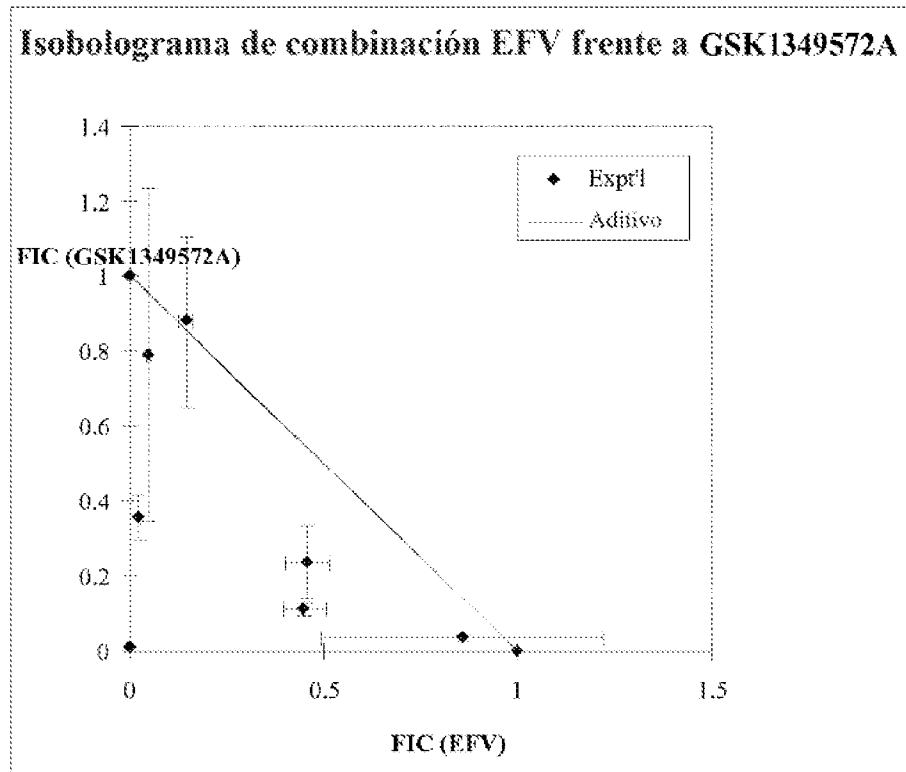


Figura 3: Inhibición de HIV-1_{IIIB} mediante un compuesto de fórmula (I) GSK1349572A, en combinación con lopinavir (LPV)

