

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 650 962**

51 Int. Cl.:

C07D 493/18 (2006.01)

A61K 31/547 (2006.01)

A61K 31/357 (2006.01)

A61P 31/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.04.2013** **PCT/IL2013/050335**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.10.2013** **WO13157005**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.04.2013** **E 13777543 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.09.2017** **EP 2838903**

54 Título: **Métodos y composiciones para el tratamiento de infecciones virales**

30 Prioridad:

18.04.2012 US 201261625701 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
23.01.2018

73 Titular/es:

**THE HONG KONG UNIVERSITY OF SCIENCE AND
TECHNOLOGY (50.0%)
Clear Water Bay Kowloon
Hong Kong, CN y
HADASIT MEDICAL RESEARCH SERVICES AND
DEVELOPMENT LTD. (50.0%)**

72 Inventor/es:

**HAYNES, RICHARD K. y
WOLF, DANA G.**

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 650 962 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).

Métodos y composiciones para el tratamiento de infecciones virales**Descripción****CAMPO DE LA INVENCIÓN**

[0001] La presente invención está dirigida a composiciones para uso en métodos para inhibir la replicación viral y el tratamiento de infecciones virales, enfermedades y trastornos, que comprende el uso de derivados de la artemisinina que tienen actividad anti-viral.

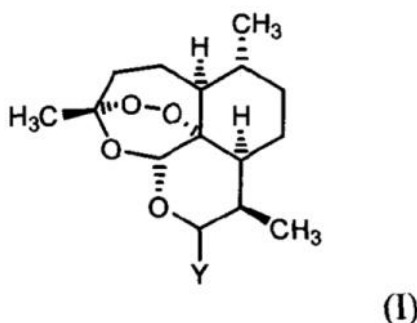
ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

[0002] El compuesto artemisinina, también conocido como qinghaosu (III), es un tetracíclico 1,2,4-trioxano que ocurre en *Artemisia annua* y se describe en la patente de Estados Unidos 4.920.147 a McChesney et al. La artemisinina y sus derivados dihidroartemisinina (DHA) (IV), arteméter (V) y artesunato (VI) (Figura 1) se han utilizado principalmente para el tratamiento de la malaria, como se describe en la patente de los Estados Unidos 6.306.896 de Scheiwe.

[0003] Los estudios químicos sobre la artemisinina y sus derivados sintéticos indican que una causa de la inestabilidad es la apertura fácil de la fracción de trioxano en la artemisinina, o en su derivado dihidroartemisinina. La apertura del anillo proporciona el hidróperóxido libre, que es susceptible de reducción. La eliminación de este grupo asegura la destrucción de la actividad del fármaco con los productos de reducción que se transforman en metabolitos desoxo. Para hacer que la apertura del anillo sea menos fácil, el átomo de oxígeno en C-10 puede eliminarse para proporcionar 10-deoxidihidroartemisinina o reemplazarse por otros grupos. Esto ha proporcionado la base para los denominados compuestos de "segunda generación" que generalmente son derivados de 10-desoxi artemisinina. Además, también se han preparado derivados de artemisinina con una variedad de sustituyentes en C-9.

[0004] Se han producido derivados de la artemisinina en los que el átomo de oxígeno en C-10 se sustituye por un grupo amina. Por ejemplo, Yang et al. (Biorg. Med. Chem. Lett., 1995, 5, 1791-1794) sintetizaron diez nuevos derivados de artemisinina en los que el átomo de oxígeno en C-10 se reemplazó por -NHAr, donde Ar representa un fenilo, 3-clorofenilo, 4-grupos clorofenilo, 3-bromofenilo, 4-bromofenilo, 4-yodofenilo, 4-metilfenilo, 4-metoxifenilo, 3-carboxifenilo o 4-carboxifenilo. Estos compuestos se probaron para la actividad in vivo contra la cepa K173 de *Plasmodium falciparum* y se encontraron activos.

[0005] La patente de los Estados Unidos 6.984.640 y la solicitud de patente de los Estados Unidos 2005/0119232 describen ciertos derivados sustituidos en C-10 de la artemisinina que se revelan eficaces en el tratamiento de enfermedades causadas por la infección con un parásito de los géneros *Plasmodium*, *Neospora* o *Eimeria*, especialmente *Plasmodium falciparum*, *Neospora caninum* y *Eimeria tenella*, que causan malaria, neosporosis y coccidiosis, respectivamente. Los compuestos descritos son de la fórmula general I:



o una sal del mismo, en la que Y representa un átomo de halógeno, un cicloalquilo opcionalmente sustituido, arilo, heteroarilo enlazado a C o grupo heterociclicilalquilo o un grupo -NR¹ R²; donde R¹ representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, alqueno o alquino opcionalmente sustituido; R² representa un grupo alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo o aralquilo opcionalmente sustituido; o R¹ y R² junto con el átomo de nitrógeno adyacente representan un grupo heterocíclico opcionalmente sustituido o un grupo amino derivado de un éster de ácido amino opcionalmente sustituido; para uso en el tratamiento y/o profilaxis de una enfermedad causada por infección con un parásito.

[0006] Los derivados de artemisinina, artemisona y especialmente artemisido han sido mostrados por Dunay et al. (Antimicrob Agents Chemother, 2009, 53 (10), 4450-4456) para mostrar una inhibición mejorada de *Toxoplasma gondii*, y por Guo et al. (Antimicrob Agents Chemother. 2012, 56 (1), 163-173) tiene un efecto pronunciado sobre

Plasmodium falciparum. La artemisina difiere de las artemisininas clínicas actualmente utilizadas en que no provoca neurotoxicidad en las exploraciones preclínicas in vitro e in vivo. En una prueba piloto de tolerabilidad, el tratamiento de ratas macho con artemisina a 50 mg/kg durante 14 días no tuvo ningún efecto en comparación con los controles. Los estudios que implican la proliferación de células endoteliales humanas y la generación de nuevos vasos, indican que la artemisina es significativamente menos antiangiogénica que la dihidroartemisinina, lo que sugiere que podría ser más seguro usar artemisina durante el embarazo (D'Alessandro et al., Toxicology, 2007, 241, 66-74). También se ha demostrado que los derivados polares más nuevos, incluido el derivado de urea RW177, tienen actividad subnanomolar contra el parásito de la malaria (véase la Figura 1 para las estructuras de los derivados).

[0007] La patente de los Estados Unidos 6.649.647 de uno de los inventores de la presente invención, describe compuestos que contienen un resto de trioxano, especialmente ciertos derivados de artemisinina, que tienen actividad citotóxica y antitumoral y su uso en el tratamiento del cáncer. Algunos de estos compuestos comprenden un ligando que es capaz de unirse a un ácido nucleico y a un grupo que contiene un resto de trioxano que es capaz de actuar como fuente de radicales libres que son capaces de interactuar químicamente con un ácido nucleico. También se proporcionan procesos para la preparación de dichos compuestos y composiciones farmacéuticas que contienen dichos compuestos.

[0008] Las infecciones virales representan una fracción muy grande de la mortalidad y la morbilidad de enfermedades infecciosas en todo el mundo. El citomegalovirus (CMV), por ejemplo, un virus de herpes beta, es una causa importante de morbilidad y mortalidad en individuos inmunocomprometidos, incluidos pacientes con SIDA y receptor es de trasplante de células madre hematopoyéticas (HSCT) o de órganos sólidos. El CMV es también la principal causa de infección congénita, que afecta a ~ 1% de los nacidos vivos, con el consiguiente daño neurológico y pérdida de audición. A pesar de la considerable carga de salud pública del CMV congénito, no existen tratamientos antivirales prenatales establecidos disponibles.

[0009] En un entorno del trasplante, el uso generalizado de terapia antiviral preventiva ha reducido la incidencia de la enfermedad por CMV temprano; sin embargo, el desarrollo de la enfermedad tardía se reconoce cada vez más. Las estrategias antivirales preventivas incluyen (a) terapia preventiva en pacientes que se vuelven positivos para el antígeno CMV o ADN CMV en la sangre después del trasplante y (b) la profilaxis universal iniciada en todos los pacientes en riesgo en el momento del injerto y continúa hasta 100 días después del trasplante

[0010] Todos los fármacos anti-CMV disponibles actualmente, incluidos ganciclovir, foscarnet y cidofovir, se orientan a la ADN polimerasa viral. Aunque estos medicamentos son efectivos, su uso está limitado por la toxicidad, la baja biodisponibilidad oral, el alto costo y la teratogenicidad. Además, el tratamiento antiviral prolongado o repetido puede conducir al desarrollo de resistencia a los medicamentos y ocasionalmente resistencia cruzada a múltiples medicamentos.

[0011] derivados de la artemisinina se han sugerido para el tratamiento de infecciones virales. La solicitud de patente de Estados Unidos 2008/0161324 sugiere que las artemisininas pueden ser útiles en combinación con otros agentes en el tratamiento de enfermedades víricas. Se ha demostrado que el artesunato inhibe la replicación de citomegalovirus (CMV) (Efferth y col., J. Mol. Med., 2002, 80 (4), 233-242) y se ha usado para tratar la infección por CMV (Shapira et al., Clin. Infect. Dis., 2008, 46 (9), 1455 - 1457).

[0012] Ninguna de las referencias anteriores describe o sugiere el uso de los derivados de 10-alkilamino de artemisinina en el tratamiento de infecciones virales o enfermedades resultantes de los mismos.

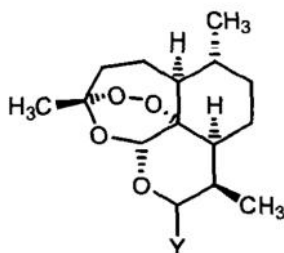
[0013] Por lo tanto, existe una clara necesidad de drogas contra el CMV eficaces y seguros con una alta biodisponibilidad oral. Además, sigue existiendo una necesidad médica crítica y no satisfecha de nuevos modos terapéuticos para tratar infecciones virales.

RESUMEN DE LA INVENCION

[0014] La presente invención proporciona composiciones y métodos para el tratamiento, atenuación, o inhibición de la replicación viral, infecciones virales, y enfermedades virales y trastornos, que comprende el uso de derivados de la artemisinina que tienen actividad anti-viral.

[0015] La presente invención se basa en parte en el descubrimiento inesperado de que varios derivados de la artemisinina proporcionan una eficacia mejorada en el tratamiento de CMV, ya sea solo o en combinación con otros fármacos anti-virales. Sin estar limitados por ninguna teoría o mecanismo de acción, los derivados de artemisinina de la presente invención son capaces de inhibir la expresión génica temprana temprana (IE) del virus CMV humano.

[0016] En una realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica para uso en un método para tratar una infección viral en un sujeto en necesidad del mismo, comprendiendo el método la etapa de administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto que tiene actividad antiviral de fórmula I:



(I)

o una sal o un solvato del mismo, en donde Y representa un grupo $-NR^1 R^2$; en donde cualquiera

(i) R^1 representa un grupo alquilo, alquenilo o alquinilo opcionalmente sustituido; y R^2 representa un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo opcionalmente sustituido;

(ii) R^1 representa un átomo de hidrógeno y R^2 representa un alquilo opcionalmente sustituido, alquenilo, alquinilo o cicloalquilo;

(iii) R^1 y R^2 junto con el átomo de nitrógeno interpuesto representan un grupo heterocíclico seleccionado del grupo que consiste en piperazinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo y morfolinosulfonilo o un grupo amino derivado de un éster de aminoácido opcionalmente sustituido; o

(iv) R^1 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo opcionalmente sustituido; y R^2 representa un grupo $-A-X (=Z)$, en donde

X representa un átomo de carbono, un átomo de azufre, un grupo sulfóxido $S=O$, o un grupo PR^3 , POR^3 o $PN(R^4)-R^3$, donde R^3 y R^4 representan cada uno independientemente un átomo de hidrógeno u opcionalmente grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo sustituido;

Z representa un átomo de oxígeno, un átomo de azufre o un grupo NR^5 , en donde R^5 representa un átomo de hidrógeno o un alquilo opcionalmente sustituido, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo I; y

A representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo opcionalmente sustituido, o un grupo seleccionado entre $N(R^6)_2$, $NHNH_2$, NR^6NHR^6 , $NR^6N(R^6)_2$, OR^6 , SR^6 , 10α -dihidroartemisnilo, OR^7 y $NR^6 R^7$, donde cada R^6 independientemente representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo opcionalmente sustituido, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo, y R^7 representa un enlace unido como un sustituyente para R^5 o R^1 que junto con los grupos adyacente representan un grupo heterocíclico opcionalmente sustituido.

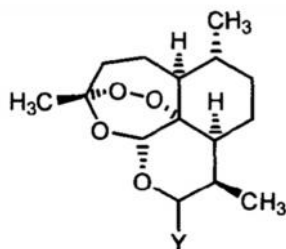
[0017] Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

[0018] En algunas realizaciones, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéutica eficaz de un compuesto que tiene actividad antivírica de fórmula I como se define aquí, para uso en el tratamiento de una infección viral.

[0019] En una realización, la actividad anti-viral del compuesto de fórmula I como se define en el presente documento es una actividad anti-citomegalovirus. En realizaciones específicas, el compuesto que tiene actividad anti-citomegalovirus de la presente invención inhibe la expresión de genes IE.

[0020] En ciertas realizaciones, la infección viral es una infección por virus de herpes. En realizaciones adicionales, el virus de herpes se selecciona entre el virus del herpes simple (HSV) y el virus de Epstein-Barr (EBV). Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención. En otras realizaciones, la infección viral es una infección por flavivirus. En realizaciones específicas, el flavivirus es el virus de la diarrea viral bovina (BVDV). En realizaciones adicionales, la infección viral es infección por el virus de la hepatitis B (VHB) o infección por el virus de la hepatitis C (VHC). Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención. En una realización ejemplar, la infección viral es una infección por citomegalovirus, en particular infección por citomegalovirus humano. En realizaciones específicas, el citomegalovirus es una cepa resistente a fármacos antivirales conocidos. En otras realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención es efectiva en casos de infección congénita. En ciertas realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención es eficaz para tratar, atenuar o suprimir la infección por CMV en pacientes inmunosuprimidos que incluyen, en particular, receptores de trasplante.

[0021] En algunas realizaciones, la presente invención proporciona una composición farmacéutica para uso en un método para la supresión de la replicación viral, comprendiendo el método la etapa de administrar a un sujeto en necesidad del mismo una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto que tiene actividad antiviral de fórmula I:



(I)

o una sal o un solvato del mismo, en donde Y representa un grupo $-NR^1 R^2$; en donde cualquiera

(i) R^1 representa un grupo alquilo, alquenilo o alquinilo opcionalmente sustituido; y R^2 representa un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo opcionalmente sustituido;

(ii) R^1 representa un átomo de hidrógeno y R^2 representa un alquilo opcionalmente sustituido, alquenilo, alquinilo o cicloalquilo; 10

(iii) R^1 y R^2 junto con el átomo de nitrógeno adyacente representan un grupo heterocíclico seleccionado de entre el grupo que consiste en piperazinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, y morfolinosulfonilo o un grupo amino derivado de un éster de ácido amino opcionalmente sustituido; o

(iv) R^1 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo opcionalmente sustituido; y R^2 representa un grupo $-A-X (=Z)$, en donde

X representa un átomo de carbono, un átomo de azufre, un grupo sulfóxido de $S=O$ o un grupo PR^3 , poR^3 o $PN(R^4) - R^3$, donde R^3 y R^4 representan cada uno independientemente un átomo de hidrógeno o un grupo opcionalmente sustituido de alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo;

Z representa un átomo de oxígeno, un átomo de azufre o un grupo NR^5 , en donde R^5 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo opcionalmente sustituido; y

A representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo opcionalmente sustituido, o un grupo seleccionado entre $N(R^6)_2$, $NHNH_2$, $NR^6 NHR^6$, $NR^6 N(R^6)_2$, OR^6 , SR^6 , 10α -dihidroartemisnilo, OR^7 y $NR^6 R^7$, donde cada R^6 representa independientemente un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo opcionalmente sustituido, y R^7 representa un enlace unido como un sustituyente para R^5 o R^1 que together con los grupos adyacente representan un grupo heterocíclico opcionalmente sustituido.

[0022] Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

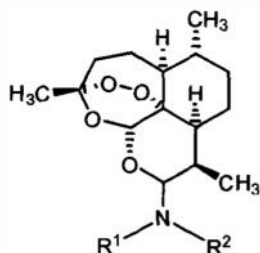
[0023] En realizaciones particulares, el método para suprimir la replicación viral es un método ex vivo que comprende la supresión de la replicación viral en una célula o en un cultivo de órganos.

[0024] En otras realizaciones, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz terapéuticamente de un compuesto que tiene actividad anti-viral representada por la estructura de fórmula I como se define en el presente documento, para su uso en la supresión de la replicación viral.

[0025] En una realización, la actividad anti-viral del compuesto de fórmula I como se define en el presente documento es una actividad anti-citomegalovirus. En realizaciones específicas, el compuesto que tiene actividad anti-citomegalovirus de la presente invención inhibe la expresión de genes IE.

[0026] En ciertas realizaciones, la replicación viral es una replicación de virus de herpes. En otras realizaciones, la replicación viral es una replicación de flavivirus. En una realización, la replicación viral es una replicación de citomegalovirus, en particular la replicación de citomegalovirus humano. En realizaciones específicas, el citomegalovirus es una cepa resistente a fármacos antivirales conocidos.

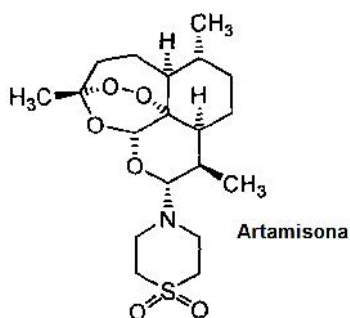
[0027] En algunas realizaciones, el compuesto que tiene actividad anti-viral de la presente invención está representado por la estructura de fórmula VII:



(VII)

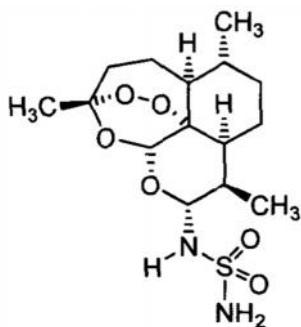
en donde R¹ y R² junto con el átomo de nitrógeno adyacente representan un grupo heterocíclico no aromático.

[0028] En algunas realizaciones, el compuesto que tiene actividad anti-viral de la presente invención es 10α-(4'-(S, S-dioxotiomorfolina-1'-ilo)-10-desoxo-10-dihidroartemisina, representada por la estructura de fórmula VIII:



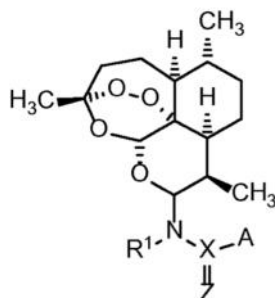
(VIII).

[0029] En realizaciones adicionales, el compuesto que tiene la actividad anti-viral de la presente invención está representado por la estructura de la fórmula IX:



(IX).

[0030] En otras realizaciones, el compuesto que tiene actividad anti-viral de la presente invención está representado por la estructura de la fórmula X:



(X),

en donde R^1 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo opcionalmente sustituido;

X representa un átomo de carbono, un átomo de azufre, un grupo sulfóxido $S = O$ o un grupo PR^3 , POR^3 o $PN(R^4) - R^3$ donde R^3 y R^4 representan cada uno independientemente un átomo de hidrógeno o un alquilo opcionalmente sustituido grupo alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo;

Z representa un átomo de oxígeno, un átomo de azufre o un grupo NR^5 donde R^5 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo opcionalmente sustituido; y

A representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralilo opcionalmente sustituido, o un grupo seleccionado entre $N(R^6)_2$, $NHNH_2$, NR^6NHR^6 , $NR^6N(R^6)_2$, OR^6 , SR^6 , 10α -dihidroartemisinilo, OR^7 y NR^6R^7 , donde cada R^6 representa independientemente un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo opcionalmente sustituido, y R^7 representa un enlace unido como un sustituyente para R^5 o R^1 que junto con los grupos adyacente representan un grupo heterocíclico opcionalmente sustituido.

[0031] En realizaciones adicionales, el compuesto que tiene actividad anti-viral de la presente invención está representado por la estructura de la fórmula X, en la que R^1 representa un átomo de hidrógeno o un alquilo opcionalmente sustituido, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo; X representa un átomo de carbono, un átomo de azufre o un grupo sulfóxido $S = O$; Z representa un átomo de oxígeno o un átomo de azufre; y A representa un $N(R^6)_2$, $NHNH_2$, NR^6NHR^6 , o $NR^6N(R^6)_2$ grupo, donde cada R^6 representa independientemente un átomo de hidrógeno o un alquilo opcionalmente sustituido, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, grupo arilo o aralquilo.

[0032] En otras realizaciones, el compuesto que tiene actividad anti-viral de la presente invención tiene una solubilidad acuosa a pH 7,2 mayor que 40 mg/L. En algunas realizaciones, el compuesto que tiene actividad antivírica de la presente invención tiene un log P en el intervalo de aproximadamente 2,0-3,0. En realizaciones particulares, el compuesto que tiene actividad antiviral de la presente invención es incapaz de convertirse sustancialmente in vivo en dihidroartemisinina.

[0033] En una realización, la composición farmacéutica de la presente invención comprende además un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

[0034] En diversas realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención es adecuada para la administración a través de una vía seleccionada del grupo que consiste en administración oral, rectal, intramuscular, subcutánea, intravenosa, intraperitoneal, intranasal, intraarterial, intravesicular, intraocular, transdérmica y tópica. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

[0035] De acuerdo con algunos aspectos y formas de realización, la composición farmacéutica de la presente invención es en la forma seleccionada del grupo que consiste en comprimidos, píldoras, cápsulas, pastillas, gránulos, polvos, pastillas, bolsitas, sellos, elixires, suspensiones, dispersiones, emulsiones, soluciones, jarabes, aerosoles, ungüentos, cápsulas de gelatina blandas y duras, supositorios, soluciones inyectables estériles y polvos estériles envasados. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

[0036] En realizaciones adicionales, el compuesto que tiene actividad anti-viral de la presente invención se co-administra en combinación con al menos otro fármaco anti-viral. Las realizaciones ejemplares y no limitantes incluyen la coadministración del compuesto que tiene actividad antivírica de la presente invención con un fármaco antiviral seleccionado del grupo que consiste en ganciclovir, valganciclovir, foscarnet, cidofovir, aciclovir y valaciclovir. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

[0037] En realizaciones particulares, el compuesto que tiene actividad anti-viral de la presente invención y el al menos otro fármaco anti-viral proporcionan juntos un efecto anti-viral terapéutica que es al menos aditivo.

[0038] En realizaciones adicionales, la co-administración del compuesto que tiene actividad anti-viral de la presente

invención y el al menos otro fármaco anti-viral que se lleva a cabo en un régimen seleccionado de una única composición combinada, las composiciones individuales separadas se administran sustancialmente al mismo tiempo, y composiciones individuales separadas se administran bajo horarios separados. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

[0039] En aún otras realizaciones, la presente invención proporciona las composiciones reivindicadas para uso en un método de tratamiento de una infección viral que tiene actividad oncomodulatoria asociada con el desarrollo de un tumor en un sujeto en necesidad del mismo, comprendiendo el método la etapa de administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto que tiene actividad antivírica de fórmula I como se define aquí.

[0040] En realizaciones adicionales, proporcionadas en este documento es una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto que tiene actividad anti-viral de fórmula I como se define aquí, para uso en el tratamiento de una infección viral que tiene actividad oncomodulatoria asociada con el desarrollo de un tumor

[0041] En realizaciones particulares, el tumor es glioblastoma asociada con la infección por citomegalovirus. En otra realización, el tumor es cáncer de colon o cáncer de próstata asociado con infección por citomegalovirus. En otras formas de presentación, el tumor es un linfoma de Burkitt asociado con la infección por el virus Epstein Barr (EBV). En otra realización, el tumor es linfoma de Hodgkin asociado con infección por EBV. En otra realización, el tumor es un trastorno linfoproliferativo post-trasplante (PTLD) asociado con la infección por EBV. En otra realización más, el tumor es carcinoma nasofaríngeo asociado con infección por EBV. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

[0042] Otros objetos, características y ventajas de la presente invención quedarán claras a partir de la siguiente descripción y los dibujos.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0043]

Figura 1: Estructuras moleculares de varios derivados de artemisinina.

Figuras 2A-2B: Figura 2A. La curva de respuesta a la dosis de artemisona, que muestra la inhibición de la formación de placa de CMV después de la incubación con artemisona. Valor de artemisona CI_{50} para este ensayo fue de 1,2 μ M. **Figura 2B.** La curva de respuesta a la dosis de artemisona, que muestra la inhibición de la acumulación de ADN del CMV después de la incubación con artemisona.

Figuras 3A-3B: Figura 3A. Curva de respuesta a la dosis de artesunato, que muestra la inhibición de la formación de placa de CMV después de la incubación con artesunato. El valor de CI_{50} de artesunato para este ensayo fue 15 μ M. **Figura 3B.** Curva de respuesta a la dosis de artesunato, que muestra la inhibición de la acumulación de ADN del CMV después de la incubación con artesunato.

Figura 4: Microscopía de inmunofluorescencia de la expresión de genes virales inmediatos (IE) y temprano-tardíos (pp65) del CMV 24 y 72 horas después de la infección (hpi).

Figuras 5A-5B: Figura 5A. Células positivas a antígeno HCMV IE en células no tratadas de control frente a células infectadas tratadas con fármaco. **Figura 5B.** Las células positivas al antígeno pp65 de HCMV en células de control no tratadas frente a células infectadas tratadas con fármaco. Las células positivas a antígeno en células infectadas no tratadas se presentan como 100% para comparación.

Figuras 6A-6F: análisis histopatológico de cultivos de órganos deciduales infectados y no infectados con HCMV. Figuras **6A-6B.** Secciones teñidas con H&E (5 micras) de cultivos deciduales no infectados preparadas al momento de la institución y a los 8 días de cultivo. Las flechas apuntan al epitelio de la superficie de la decidua. Figuras **6C-6D.** Dos secciones diferentes de cultivos infectados con la cepa PT30 de HCMV (10^4 PFU/pocillo), obtenidos a 6 ppp y sometidos a tinción de H&E. Las flechas negras indican células infectadas con cuerpos de inclusión "ojo de búho"; las flechas blancas indican inclusiones citoplasmáticas granulares; y las puntas de flecha negra indican núcleos hiper cromáticos irregulares. Figuras **6E-6F.** Secciones de cultivos infectados con la cepa PT30 de HCMV (10^4 PFU/pocillo), obtenidos a 6 ppp y sometidos a análisis inmunohistoquímico para proteínas virales inmediato-tempranas (IE) (que muestra tinción nuclear) y temprano-tardías (pp65) (que muestra principalmente tinción citoplásmica).

Figuras 7A-7D: Cinética de infección por HCMV en cultivos deciduales. Los cultivos de órganos deciduales se infectaron con HCMV (10^4 PFU/pocillo). Imágenes de cepa de células infectadas con PT30 en tejidos vivos según se detecta mediante microscopía confocal en: **Figura 7A.** Células infectadas simuladamente; **Figura 7B.** Día 2; **Figura 7C.** Día 3; y **Figura 7D.** Día 5.

Figura 8: Cinética de infección por HCMV en cultivos deciduos. Acumulación de ADN viral en lisados tisulares después de la infección con las cepas virales indicadas, normalizadas por copias de ADN del gen P de RNasa. PT30: ♦; TB40/E: ■; AD169: Δ; y CI851: X.

Figura 9: Tropismo celular de HCMV en cultivos deciduales infectados. A 10 ppp, se prepararon secciones congeladas de cultivos deciduales infectados con la cepa TB40/E de HCMV que expresan GFP fusionado con UL83 (pp65), se tiñeron con anticuerpos monoclonales contra los tipos celulares indicados y se contratiñeron con DAPI para visualizar los núcleos celulares. La colocalización del virus (marcada por GFP) con marcadores celulares específicos se analizó mediante microscopía confocal. Las flechas apuntan a células que exhiben colocalización, células infectadas sin colocalización con el marcador celular específico; y mancharon las células no infectadas. CK7, citoqueratina 7; vWF, factor von Willebrand; Vim, vimentina.

Figura 10: Inhibición de la infección por HCMV en cultivos de órganos deciduales por fármacos antivirales (GCV: ●; ACV: ■). Los resultados se expresan como un porcentaje de la cantidad de ADN de HCMV normalizado presente en los cultivos no tratados $\pm$ error estándar. Las barras de error no son fácilmente visibles debido a los bajos valores de error estándar. Se encontraron diferencias significativas entre los cultivos deciduales tratados y no tratados ($P < 0,05$ por la prueba t pareada de dos colas).

Figuras 11A-11B: Neutralización e inhibición posterior a la adsorción de infección por HCMV en cultivos de órganos deciduales por hiperinmunoglobulinas de HCMV (HIG). **Figura 11A.** Las diluciones indicadas de HCMV HIG se incubaron con 10^5 PFU de la cepa TB40/E de HCMV durante 1 hora antes de la infección, con el fin de examinar la neutralización viral. **Figura 11B.** Las diluciones indicadas de HCMV HIG se añadieron a los medios de cultivos deciduales infectados (10^5 UFP/pocillo) después del lavado extenso de los tejidos infectados a las 24 horas después de la adsorción. El ADN viral en lisados de tejido decidual se cuantificó a 8 ppp, y los valores se normalizaron mediante copias de ADN de RNasa P. Los resultados se expresan como un porcentaje de la cantidad de ADN de HCMV normalizado presente en cultivos no tratados. Los asteriscos indican diferencias significativas entre los cultivos deciduales tratados y no tratados ($P < 0,05$ por la prueba t pareada de dos colas).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

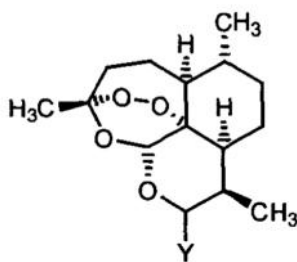
[0044] La presente invención proporciona composiciones y métodos para tratar, prevenir, atenuar, e inhibir la replicación viral, infecciones virales y enfermedades virales y trastornos, que comprende el uso de derivados de la artemisinina que tienen actividad anti-viral, particularmente la actividad anti-CMV.

[0045] La expresión génica de HCMV ocurre a través de una cascada altamente coordinada de eventos que involucran tres clases generales de genes virales: genes inmediatos tempranos (IE, principalmente IE1 e IE2), genes tardíos diferidos, que incluyen principalmente genes que desempeñan papeles en la síntesis de ADN viral, y genes virales tardíos que codifican los componentes estructurales del virión. Aunque el ciclo de replicación de HCMV es lento, requiriendo de 48 a 72 horas para iniciar la liberación de la progenie, la expresión de los productos del gen IE comienza inmediatamente después de la entrada del virus y puede detectarse claramente a las 24 horas después de la infección. Las funciones virales que se expresan temprano desempeñan papeles reguladores más adelante en la infección. El cambio de fase temprana a fase tardía se retrasa hasta 24 a 36 horas después de la infección, y ocurre tras la síntesis del ADN vírico, con niveles máximos de expresión génica tardía presente a las 72 a 96 horas después de la infección.

[0046] Todos los fármacos anti-HCMV actualmente aprobados, incluyendo ganciclovir, inhiben la polimerasa de ADN viral, y por lo tanto no inhiben la expresión del gen IE, sino más bien inhiben la expresión de genes tardíos.

[0047] La presente invención se basa en parte en el descubrimiento inesperado de que varios derivados de la artemisinina 10-aminoácidos son capaces de bloquear los pasos tempranos así como los pasos tardíos de la replicación de HCMV. Sorprendentemente, se demostró que los compuestos de la presente invención inhiben eficazmente la expresión de genes IE virales, que son los primeros genes que se expresan después de la infección. La capacidad para inhibir la expresión génica temprana proporciona ventajas significativas sobre los agentes antivirales hasta ahora conocidos que solo afectan la expresión génica viral tardía.

[0048] La presente invención proporciona así una composición farmacéutica para uso en un método para tratar una infección viral en un sujeto en necesidad del mismo, comprendiendo el método la etapa de administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto que tiene actividad antiviral de fórmula I:



(I)

o una sal o un solvato del mismo, en donde Y representa un grupo -NR¹ R², tratando de este modo una infección viral en un sujeto.

[0049] En algunos aspectos y formas de realización, R¹ representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, alquenilo o alquinilo opcionalmente sustituido; y R² representa un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo opcionalmente sustituido.

[0050] En otros aspectos y formas de realización, R¹ y R² junto con el átomo de nitrógeno adyacente representan un grupo heterocíclico o un grupo amino derivado de un éster de ácido amino opcionalmente sustituido.

[0051] En otros aspectos y formas de realización, R¹ representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo opcionalmente sustituido; y R² representa un grupo -A-X (= Z), en donde

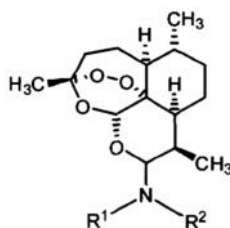
X representa un átomo de carbono, un átomo de azufre, un grupo sulfóxido S = O, o un grupo PR³, POR³ o PN(R⁴) - R³, donde R³ y R⁴ representan cada uno independientemente un átomo de hidrógeno u opcionalmente grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo sustituido;

Z representa un átomo de oxígeno, un átomo de azufre o un grupo NR⁵, en donde R⁵ representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo opcionalmente sustituido; y

A representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo opcionalmente sustituido, o un grupo seleccionado entre N(R⁶)₂, NHR⁶, NR⁶ N(R⁶)₂, OR⁶, SR⁶, 10α-dihidroartemisinilo, OR⁷ and NR⁶ R⁷, en donde cada R⁶ independientemente representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo opcionalmente sustituido, y R⁷ representa un enlace unido como un sustituyente a R⁵ o R¹ que junto con los grupos interyacentes representa un grupo heterocíclico opcionalmente sustituido.

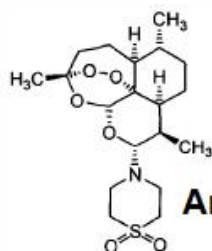
[0052] Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

[0053] En diversas realizaciones, el compuesto que tiene actividad anti-viral de la presente invención está representado por cualquiera de las fórmulas VII, VIII, IX o X como se define aquí a continuación:

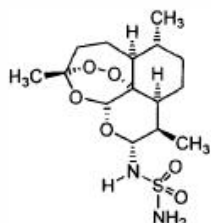


(VII),

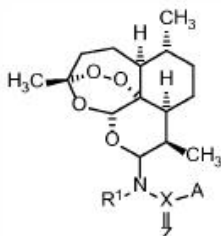
en la que R¹ y R² junto con el átomo de nitrógeno adyacente representan un grupo heterocíclico no aromático;

**Artamisona**

(VIII);



(IX); or



(X),

en la que R^1 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo opcionalmente sustituido;

X representa un átomo de carbono, un átomo de azufre, un grupo sulfóxido de $S = O$ o un grupo PR^3 , POR^3 o $PN(R^4) - R^3$ donde R^3 y R^4 representan cada uno independientemente un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo opcionalmente sustituido, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo;

Z representa un átomo de oxígeno, un átomo de azufre o un grupo NR^5 donde R^5 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo opcionalmente sustituido; y

A representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo opcionalmente sustituido, o un grupo $N(R^6)_2$, $NHNH_2$, NR^6 , NHR^6 o $NR^6 N(R^6)_2$, o un grupo OR^6 o SR^6 donde cada R^6 representa independientemente un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo opcionalmente sustituido, o un grupo dihidroartemisinilo 10α , o A representa un grupo OR^7 o NR^6R^7 , donde R^6 representa un grupo como se definió anteriormente y R^7 representa un enlace unido como un sustituyente para R^5 junto con el grupo interyacente $-X(=Z)$ -formando un grupo heterocíclico opcionalmente sustituido donde Z representa un grupo NR^5 , o R^7 representa un enlace unido como un sustituyente para R^1 junto con el grupo interyacente $-NX(=Z)$ - formando un grupo heterocíclico opcionalmente sustituido.

[0054] Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

[0055] La presente invención proporciona además el compuesto que tiene actividad anti-viral de cualquiera de las fórmulas I, VII, VIII, IX o X o una composición farmacéutica que comprende el mismo para el uso en el tratamiento de una infección viral.

[0056] El término "tratar" como se usa en este documento incluye la disminución, alivio o mejora de al menos un síntoma asociado o causado por el estado, trastorno o enfermedad que se está tratando. En algunas realizaciones, el término "tratar" como se usa aquí se refiere a la inhibición de la replicación viral con reducción de la carga viral. Por consiguiente, el término "tratar" abarca además la profilaxis o el tratamiento preventivo, es decir, la prevención de la infección y la enfermedad en pacientes asintomáticos todavía no infectados o infectados. En una realización, el tratamiento se efectúa ex-vivo. El término "una cantidad terapéuticamente eficaz" como se usa aquí se refiere a una cantidad de un agente que es eficaz, tras la administración única o múltiple de dosis al sujeto para proporcionar un beneficio terapéutico al sujeto. En una realización, el beneficio terapéutico es la inhibición de la actividad de virus. Tal como se utiliza aquí, el término "administrar" se refiere a poner en contacto con el compuesto o composición de la presente invención. La administración puede realizarse a las células o cultivos de tejidos, o para los organismos vivos, por ejemplo, mamíferos, en particular seres humanos.

[0057] Dentro del alcance de la presente invención se encuentra un compuesto para uso en un método para suprimir la replicación viral, comprendiendo el método la etapa de administrar un compuesto que tiene actividad anti-viral de cualquiera de las fórmulas I, VII, VIII, IX o X o una composición que comprende dicho compuesto y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. De acuerdo con algunos aspectos y realizaciones, la presente invención proporciona un compuesto que tiene actividad anti-viral de cualquiera de las fórmulas I, VII, VIII, IX o X o una composición farmacéutica que comprende el mismo para su uso en la supresión de la replicación viral. En una realización particular, los métodos y el uso proporcionados en este documento están dirigidos a la supresión de la replicación viral en una célula o en un cultivo de órganos que comprende la etapa de poner en contacto la célula o el cultivo de órganos con un compuesto que tiene actividad anti-viral de cualquiera de las fórmulas I, VII, VIII, IX o X, o una composición que comprende dicho compuesto y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

[0058] El grupo alquilo, alquenilo o alquinilo representado por R^1 en fórmula I, en algunas realizaciones, está sustituido. En otra realización, el grupo alquilo, alquenilo o alquinilo no está sustituido. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

[0059] El grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo representado por R^1 o R^2 en la fórmula I; o representado por R^1 , A o Z en la fórmula X, en algunas realizaciones, está sustituido. En otra realización, el grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo está sustituido. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

[0060] Tal como se establece en el presente documento, los derivados de 10-amino artemisinina exhiben eficacia anti-viral extremadamente alta. Esta propiedad, combinada con sus excelentes perfiles de seguridad y tolerabilidad, los hace una opción atractiva para el tratamiento de infecciones virales y enfermedades y trastornos generados de este modo.

[0061] En otra realización, Y de la fórmula I representa un grupo $-NR^1R^2$, en el que R^1 y R^2 junto con el átomo de nitrógeno adyacente forman un grupo heterocíclico no aromático. En otra realización, el grupo heterocíclico no aromático está sustituido. En otra realización, el grupo heterocíclico no aromático no está sustituido. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

[0062] En otra realización, el grupo heterocíclico no aromático está sustituido con un resto polar.

[0063] En otra realización, el grupo heterocíclico no aromático es piperazina. En ciertas realizaciones, el grupo no heterocíclico aromático es morfina. En otra realización, el grupo heterocíclico no aromático es tiomorfolina. En otra realización, el grupo heterocíclico no aromático es morfolino-sulfona. En otra realización, el grupo heterocíclico no aromático se selecciona del grupo que consiste en piperazinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, y morfolinosulfonilo. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

[0064] En realizaciones particulares, el compuesto de la presente invención es artemisona (fórmula VIII). Artemisona, también conocida como "10 α -(4'-(S, S-dioxotiomorfolina-1'-ilo)-10-desoxo-10-dihidroartemisinina" y "BAY 44-9585", está disponible de Bayer AG (Alemania).

[0065] En otra realización, el compuesto de la presente invención es 10 α -(4'-bencilo-1'-ilo)-10-desoxo-10-dihidroartemisinina.

[0066] En otra realización, el compuesto de la presente invención es 10 α -(morfolino) 10-desoxo-10-dihidroartemisinina.

[0067] En otra realización, el compuesto de la presente invención es 10 α -(1-(2-pirimidilo)piperazino)-10-deoxo-10-dihidroartemisinina.

[0068] En otra realización, el compuesto de la presente invención es 10 α -(sulfamino)-dihidroartemisinina.

[0069] En algunas realizaciones, el compuesto de la presente invención está representado por la estructura de la fórmula X, en la que R^1 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo opcionalmente sustituido; X representa un átomo de carbono, un átomo de azufre, o un grupo sulfóxido de $S = O$; Z representa un átomo de oxígeno o un átomo de azufre; y A representa un $N(R^6)_2$, $NHNH_2$, NR^6 NHR^6 , o $NR^6N(R^6)_2$ grupo, donde cada R^6 representa independientemente un átomo de hidrógeno o un alquilo opcionalmente sustituido, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo.

[0070] En realizaciones particulares, el compuesto de la presente invención está representado por la estructura de fórmula I, en donde Y representa un grupo $-NR^1R^2$, en donde R^1 representa un átomo de hidrógeno y R^2 representa un $-X (= Z)$ grupo $-A$ en la que, X representa un grupo sulfóxido de $S = O$, Z representa un átomo de oxígeno, y A representa un grupo NH_2 .

[0071] Cualquier grupo alquilo, alquenilo o alquinilo, a menos que se especifique lo contrario, puede ser lineal o

ramificado y puede contener hasta 12, hasta 6, o hasta 4 átomos de carbono. Los ejemplos no limitantes de grupos alquilo son metilo, etilo, propilo y butilo. En algunas realizaciones, el grupo alquenilo o alquinilo no es un grupo alqu-1-enilo o alqu-1-inilo. De acuerdo con estas formas de realización, hay al menos un grupo de metileno -CH₂- o centro hibridizado por sp³ similar entre un átomo de carbono que forma parte del doble o triple enlace C-C y el átomo de nitrógeno al que está unido el grupo. Los ejemplos no limitantes de grupos alquenilo y alquinilo incluyen propenilo, butenilo, propinilo y grupos butinilo. Cuando un resto alquilo forma parte de otro grupo, por ejemplo el resto alquilo de un grupo aralquilo, que puede contener hasta 6, o hasta 4 átomos de carbono. Restos de alquilo de ejemplo son metilo y etilo.

[0072] Un grupo arilo puede ser cualquier grupo hidrocarburo aromático y puede contener de 6 a 24, preferiblemente 6 a 18, más preferiblemente 6 a 16, y especialmente de 6 a 14 átomos de carbono. Los ejemplos no limitantes de grupos arilo incluyen fenilo, naftilo, antrilo, fenantrilo y grupos pirilo, especialmente un fenilo o naftilo, y particularmente un grupo fenilo. Cuando un resto arilo forma parte de otro grupo, por ejemplo, el resto arilo de un grupo aralquilo, que puede ser un fenilo, naftilo, antrilo, fenantrilo o pirilo, especialmente fenilo o naftilo, y particularmente un resto fenilo.

[0073] Un grupo aralquilo puede ser cualquier grupo alquilo sustituido por un grupo arilo. Grupo de aralquilo adecuado contiene de 7 a 30, particularmente 7 a 24 y especialmente de 7 a 18 átomos de carbono. Los ejemplos no limitantes de grupos aralquilo incluyen grupos de bencilo, naftilmetilo, antrilmetilo, fenantrilmetilo y pirilmetilo. Un grupo aralquilo de ejemplo es un grupo bencilo.

[0074] Un grupo cicloalquilo puede ser cualquier grupo hidrocarburo cíclico saturado y puede contener de 3 a 12, por ejemplo 3 a 8, y especialmente de 3 a 6 átomos de carbono. Los ejemplos no limitantes de grupos cicloalquilo son grupos ciclopropilo, ciclopentilo y ciclohexilo.

[0075] Un grupo heteroarilo puede ser cualquier sistema aromático monocíclico o policíclico que contiene al menos un heteroátomo. Típicamente, un grupo heteroarilo es un sistema de anillo aromático de 5-18 miembros, en particular de 5-14 miembros, y especialmente e 5-10 miembros que contiene al menos un heteroátomo seleccionado de un oxígeno, un azufre y un átomo de nitrógeno. Grupos no limitantes de heteroarilo incluyen grupos de piridilo, pirilio, tiopirilio, pirrolilo, furilo, tienilo, indolinilo, isoindolinilo, indoliznilo, imidazolilo, piridonilo, pironilo, pirimidinilo, pirazinilo, oxazolilo, tiazolilo, purinilo, quinolinilo, isoquinolinilo, quinoxalinilo, piridazinilo, benzofuranilo, benzoxazolilo y acridinilo. Un grupo heteroarilo unido a C que es un grupo heteroarilo como se ha definido anteriormente que está unido al resto 1,2,4-trioxano tetracíclico de un compuesto de la presente invención a través de un átomo de carbono en el sistema de anillo heteroaromático.

[0076] Un grupo heterocíclico puede ser cualquier sistema anular monocíclico o policíclico que contiene al menos un heteroátomo y puede estar insaturado o parcialmente o totalmente saturado. El término "heterocíclico" incluye por tanto grupos heteroarilo como se ha definido anteriormente, así como grupos heterocíclicos no aromáticos. Típicamente, un grupo heterocíclico es un 3-18 miembros, en particular un 3-14 miembros, especialmente un sistema de anillo de 5-10 miembros que contiene al menos un heteroátomo seleccionado de un oxígeno, un azufre y un átomo de nitrógeno. Los ejemplos no limitantes de grupos heterocíclicos incluyen los grupos heteroarilo específicos nombrados anteriormente así como los grupos piranilo, piperidinilo, pirrolidinilo, dioxanilo, piperazinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, morfolinosulfonilo, tetrahidroisoquinolinilo y tetrahidrofuranilo.

[0077] Un grupo heterociclalquilo puede ser cualquier grupo alquilo sustituido por un grupo heterocíclico. Típicamente, el resto heterocíclico es un grupo heterocíclico de 3-18 miembros, en particular de 3-14 miembros, y especialmente de 5-10 miembros tal como se define anteriormente y el resto alquilo es un grupo C₁₋₆ alquilo, o C₁₋₄ alquilo, por ejemplo un metilo.

[0078] Un aminoácido puede ser cualquier α-aminoácido, tal como glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, serina, treonina, cisteína, cistina, metionina, ácido aspártico, ácido glutámico, asparagina, glutamina, lisina, hidroxilisina, arginina, histidina, fenilalanina, tirosina, triptófano, prolina, hidroxiprolina o fenilglicina, e incluye configuraciones tanto D como L. Un éster de aminoácido puede ser cualquier éster de un ácido tal amino, por ejemplo ésteres de alquilo tales como ésteres de C₁₋₄ alquilo.

[0079] Cuando cualquiera de los sustituyentes anteriores son designados como opcionalmente sustituidos, los grupos sustituyentes que están opcionalmente presentes pueden ser uno cualquiera o más de los empleados habitualmente en el desarrollo de compuestos farmacéuticos y/o la modificación de tales compuestos para influir en su estructura/actividad, estabilidad, biodisponibilidad u otra propiedad. Los ejemplos específicos de tales sustituyentes incluyen, por ejemplo, átomos de halógeno, nitro, ciano, hidroxilo, cicloalquilo, alquilo, alquenilo, haloalquilo, alcoxi, haloalcoxi, amino, alquilamino, dialquilamino, formilo, alcóxicarbonilo, carboxilo, alcanóilo, alquiltio, alquilsulfonilo, alquilsulfonato, arilsulfonilo, arilsulfonato, carbamoilo, alquilamido, arilo, aralquilo, arilo opcionalmente sustituido, heterocíclico y grupos heterocíclicos de alquilo o arilo sustituidos. Cuando cualquiera de los sustituyentes anteriores representa o contiene un grupo sustituyente alquilo o alquenilo, puede ser lineal o ramificado y puede contener hasta 12, hasta 6, y especialmente hasta 4 átomos de carbono. Un grupo cicloalquilo puede contener de 3 a 8, por ejemplo de 3 a 6 átomos de carbono. Un grupo o resto arilo pueden

contener de 6 a 10 átomos de carbono, por ejemplo grupos fenilo. Un grupo heterocíclico o resto puede ser un sistema de anillo de 5-10 miembros como se definió anteriormente. Un átomo de halógeno puede ser un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo y cualquier grupo que contiene un resto halo, tal como un grupo haloalquilo que contiene de uno cualquiera o más de estos átomos de halógeno.

5 **[0080]** En un aspecto, Y puede representar un átomo de halógeno, particularmente un átomo de flúor o bromo, y especialmente un átomo de flúor.

10 **[0081]** En otro aspecto, Y puede representar un grupo C₃₋₈ cicloalquilo, un grupo C₆₋₁₈ arilo, un grupo heteroarilo de 5-10 miembros unido a un grupo de heterociclilo de C₁₋₆ alquilo de 5-10 miembros, cada grupo está opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en átomos de halógeno, hidroxilo, C₁₋₄ alquilo, C₂₋₄ alquenilo, C₁₋₄ haloalquilo, C₁₋₄ alcoxi, amino, C₁₋₄ alquilamino, di(C₁₋₄ alquilo)amino, carboxilo, C₆₋₁₀ arilo, heterocíclico de 5-10 miembros y grupos heterocíclicos C₁₋₄ alquilo de 5-10 miembros sustituidos con fenilo. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención. De acuerdo con algunos aspectos y formas de realización, Y puede representar un grupo C₆₋₁₈ arilo opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en átomos de halógeno, hidroxilo, C₁₋₄ alquilo, C₂₋₄ alquenilo, C₁₋₄ haloalquilo, C₁₋₄ alcoxi, C₁₋₄ haloalcoxi, amino, C₁₋₄ alquilamino, di(C₁₋₄ alquilo)amino y grupos de carboxilo. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención. En particular, Y puede representar un grupo fenilo, naftilo, antrilo o fenantrilo, siendo cada grupo opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en átomos de halógeno y grupos hidroxilo, metilo, vinilo, C₁₋₄ alcoxi y grupos carboxilo. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

25 **[0082]** En otro subgrupo de compuestos, Y puede representar un grupo fenilo, fluorofenilo, clorofenilo, bromofenilo, trietilfenilo, vinilfenilo, metoxifenilo, dimetoxifenilo, trimetoxifenilo, carboxilfenilo, naftilo, hidroxi-naftilo, metoxinaftilo, antrilo o fenantrilo. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención. Los compuestos en los que Y puede representar un grupo fenilo o trimetoxifenilo también se incluyen dentro del alcance de la presente invención.

30 **[0083]** En un aspecto adicional, Y puede representar un grupo -NR¹ R² donde R¹ representa un átomo de hidrógeno o un grupo C₁₋₆ alquilo y R² representa un grupo C₁₋₆ alquilo, C₃₋₄ cicloalquilo, C₆₋₁₀ arilo o C₇₋₁₆ aralquilo, o R¹ y R² junto con el átomo de nitrógeno adyacente representan un grupo heterocíclico de 5-10 miembros o un grupo amino derivado de un C₁₋₆ éster de alquilo de un amino ácido, estando cada grupo opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en átomos de halógeno, C₁₋₄ alquilo, C₁₋₄ haloalquilo, C₁₋₆ alcocixarbonilo, fenilo, halofenilo, C₃₋₄ alquilfenilo, C₁₋₄ haloalquilfenilo, C₁₋₄ alcóxifenilo, bencilo, piridilo y pirimidinilo grupos. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención. En particular, Y puede representar un grupo -NR¹ R² donde R¹ representa un átomo de hidrógeno o un C₁₋₄ grupo alquilo y R² representa un C₁₋₄ alquilo, C₃₋₆ cicloalquilo, fenilo o bencilo, o R¹ y R² junto con el átomo de nitrógeno adyacente representan un grupo heterocíclico de 6-10 miembros, o un grupo amino derivado de un C₁₋₄ éster de alquilo de un ácido amino, estando cada grupo opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados de entre el grupo que consiste en átomos de halógeno, C₁₋₄ haloalquilo, C₁₋₄ alcocixarbonilo, fenilo, halofenilo, C₁₋₄ alquilfenilo, C₁₋₄ fenilo haloalquilo, C₁₋₄ alcóxifenilo, bencilo, piridilo y grupos pirimidinilo. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

45 **[0084]** En otro subgrupo de estos compuestos, Y representa un propilamino, ciclopentilamino, ciclohexilamino, fenilamino, fluorofenilamino, clorofenilamino, bromofenilamino, yodofenilamino, metoxycarbonilfenilamino, bifenilamino, bencilamino, fluorobencilamino, bis(trifluorometilo)bencilamino, feniletilamina, metilamino de fenilmetoxycarbonilo, dietilamino, morfolinilo, tiomorfolinilo, morfolinisulfonilo, indolinilo, tetrahidroisoquinolinilo, fenilpiperazinilo, fluorofenilpiperazinilo, clorofenilpiperazinilo, metilfenilpiperazinilo, trifluorometilfenilpiperazinilo, metoxifenilpiperazinilo, bencilpiperazinilo, piridilpiperazinilo y grupo pirimidinilpiperazinilo. Los compuestos ejemplares incluyen, pero no se limitan a, compuestos en los que Y representa un propilamino, fenilamino, bromofenilamino, yodofenilamino, bifenilamino, bencilamino, bis(trifluorometilo)bencilamino, feniletilamino, amino fenil-metoxycarbonilmetilo o un grupo morfolinilo. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

55 **[0085]** En otra realización, un método de la presente invención utiliza un compuesto de la fórmula general I como se ha definido anteriormente, con la condición de que, cuando Y es un grupo -NR¹ R² y R² representa un grupo fenilo, 3-clorofenilo, 4-clorofenilo, 3-bromofenilo, 4-bromofenilo, 4-yodofenilo, 4-metilfenilo, 4-metoxifenilo, 3-carboxilfenilo o grupo 4-carboxilfenilo, entonces R¹ es un grupo alquilo opcionalmente sustituido.

60 **[0086]** Uno o más de los compuestos de la invención, puede estar presente como una sal. Las sales adecuadas de derivadas de la artemisinina de la presente invención incluyen tanto sales de adición básicas como ácidas. En realizaciones particulares, las sales de adición de ácidos, que se pueden formar por la reacción de un compuesto adecuado de fórmulas I, VII, VIII, IX o X con un ácido adecuado, tal como un ácido orgánico o un ácido mineral están abarcados por la presente invención. Sales de adición de ácido formadas por la reacción con un ácido mineral son adecuadas de acuerdo con los principios de la presente invención, especialmente las sales formadas por reacción con ácido clorhídrico o bromhídrico. Los compuestos de fórmula I en la que Y representa un grupo -NR¹ R², en el

que R¹ y R² son como se definen anteriormente, son particularmente adecuados para la formación de tales sales de adición de ácido.

[0087] También debe apreciarse que los compuestos de fórmulas generales I, VII, VIII, IX o X son capaces de existir como diferentes isómeros geométricos y ópticos. La presente invención incluye así tanto los isómeros individuales como mezclas de tales isómeros. La presente invención también incluye solvatos de los compuestos de la presente invención y solvatos de las sales como se describe en el presente documento. "Solvato" significa una asociación física de un compuesto de la invención con una o más moléculas de disolvente. Esta asociación física implica grados variables de unión iónica y covalente, incluyendo enlace de hidrógeno. "Solvato" abarca tanto la fase de solución como solvatos aislables. Los ejemplos no limitantes de solvatos adecuados incluyen etanolatos, metanolatos y similares. "Hidrato" es un solvato donde la molécula de disolvente es agua.

[0088] La presente invención también incluye los polimorfos de los compuestos de la presente invención y sales de los mismos. El término "polimorfo" se refiere a una cristalina particular o estado amorfo de una sustancia, que se pueden caracterizar por las propiedades físicas particulares tales como difracción de rayos X, espectros de IR o Raman, punto de fusión, y similares. Los métodos para producir los compuestos de la presente invención son conocidos en la técnica, y se describen, entre otras cosas en patente de Estados Unidos 6.984.640 y la solicitud de patente de Estados Unidos 2005/0119232.

[0089] En otra realización, los compuestos de la presente invención presenta una solubilidad acuosa a pH 7,2 mayor de 40 mg/L. En otras realizaciones, la solubilidad acuosa está dentro del intervalo de aproximadamente 40-1000 mg/L. En aún otras realizaciones, la solubilidad acuosa está dentro del intervalo de aproximadamente 30-1000 mg/L. En realizaciones adicionales, la solubilidad acuosa está dentro del intervalo de aproximadamente 50-1000 mg/L. En realizaciones adicionales, la solubilidad acuosa está dentro del intervalo de aproximadamente 60-1000 mg/L. En diversas realizaciones, la solubilidad acuosa está dentro del intervalo de aproximadamente 40-800 mg/L. En ciertas realizaciones, la solubilidad acuosa está dentro del intervalo de aproximadamente 40-600 mg/L. En algunas realizaciones, la solubilidad acuosa está dentro del intervalo de aproximadamente 40-400 mg/L. En otras realizaciones, la solubilidad acuosa está dentro del intervalo de aproximadamente 40-2000 mg/L. En realizaciones particulares, la solubilidad acuosa está dentro del intervalo de aproximadamente 20-1000 mg/L. En aún otra realización, la solubilidad acuosa está dentro del intervalo de aproximadamente 20-800 mg/L. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

[0090] De acuerdo con algunos aspectos y formas de realización, los compuestos de la presente invención presentan un log P entre aproximadamente 2,0-3,0, inclusive. log P, como se usa en el presente documento, se refiere al coeficiente de reparto octanol-agua. En ciertas realizaciones, el log P es de entre aproximadamente 2,1 a 2,9, ambos inclusive. En otra realización, el log P es de entre aproximadamente 2,2-2,8, ambos inclusive. En aún otra realización, el log P es de entre aproximadamente 2,3-2,7, ambos inclusive. En realizaciones adicionales, el log P es de entre aproximadamente 2,1-3,0, inclusive. En realizaciones adicionales, el log P es de entre aproximadamente 2,2-3,0, inclusive. En otras realizaciones, el log P es de entre aproximadamente 2,0-2,9, inclusive. En ciertas realizaciones, el log P es de entre aproximadamente 2,0-2,8, inclusive. En realizaciones particulares, el log P es de entre aproximadamente 2,4-2,8, ambos inclusive. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

[0091] De acuerdo con algunos aspectos y formas de realización, los compuestos de la presente invención no son capaces de ser convertidos sustancialmente in vivo a dihidroartemisinina. Se contempla que esta propiedad mejora la seguridad de estos compuestos mediante la reducción de la ya baja probabilidad de neurotoxicidad. "Sustancialmente convertido" tal como se utiliza aquí se refiere in vivo a la conversión a dihidroartemisinina en un grado detectable por ensayos de destino metabólico estándar. Ensayos de destino metabólico son bien conocidos en la técnica, e incluyen, por ejemplo, la administración de un compuesto de la presente invención marcado con ¹⁴C o ³H para microsomas de hígado humano, seguido de la identificación de los metabolitos producidos por resonancia magnética nuclear 1D y 2D (RMN) (Haynes et al., Angew. Chem. Int. Ed., 2006, 45, 2082-2088). En otra realización, cualquier otro ensayo de destino metabólico conocido en la técnica se utiliza. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

[0092] En ciertas realizaciones, la infección viral que se trata, inhibe, atenúa o suprime por un método de la presente invención es una infección por virus de herpes. En otra realización, el virus de herpes se selecciona del grupo constituido por virus de herpes simplex (HSV) tipo 1, HSV tipo 2, virus de la varicela-zoster, virus de citomegalovirus, virus de Epstein-Barr (EBV), virus de herpes humano 6, virus de herpes humano 7, y virus del herpes humano 8 (sarcoma asociado a virus de herpes de Kaposi). Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención. Virus de herpes humano 6, como se usa en el presente documento abarca las variantes tanto A como B. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención. En otra realización, la infección viral es una infección alfa virus de herpes. En ciertas realizaciones, la infección viral es una infección beta virus de herpes. En otra realización, la infección viral es una infección gamma virus de herpes. En aún otra realización, la infección viral es una infección por virus de citomegalovirus. En una realización ejemplar, la infección viral es una infección de virus de citomegalovirus humano. En otra realización, la infección viral es una infección por flavivirus. En realizaciones específicas, la infección por flavivirus es la infección del virus de la diarrea viral bovina (BVDV). En

otras realizaciones, la infección viral es una infección de virus de hepatitis B (VHB) infección o virus de hepatitis C (VHC). Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención. En realizaciones adicionales, la infección viral es cualquier otro tipo de infección viral conocida en la técnica.

[0093] Se entenderá por los expertos en la técnica que las composiciones y métodos de la presente invención tienen utilidad para el tratamiento no sólo de las infecciones virales en sí mismas, sino también enfermedades y trastornos generados por infecciones virales. Así, por ejemplo, la presente invención proporciona un método de tratamiento de una infección viral que tiene actividad oncomodulatoria en un tumor en un sujeto en necesidad del mismo que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto que tiene actividad anti-viral de cualquiera de las fórmulas I, VII, VIII, IX o X como se define en el presente documento o una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. Por ejemplo, existe alguna evidencia de que HCMV podría modular el fenotipo maligno en glioblastomas, donde existen secuencias de HCMV y la expresión del gen viral en la mayoría, si no todos, los gliomas malignos (Dziurzynski et al, 2012, Neuro-Oncology, doi: 10.1093/neuonc/nor227). Por lo tanto, de acuerdo con algunos aspectos y realizaciones, la presente invención proporciona un método de tratamiento de una infección viral que tiene actividad oncomodulatoria en un tumor, en particular, glioblastoma asociado con virus de citomegalo en un sujeto en necesidad del mismo, comprendiendo el método administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz cantidad de un compuesto que tiene actividad anti-viral de cualquiera de las fórmulas I, VII, VIII, IX o X como se define en el presente documento o una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. El método de la presente invención abarca la orientación directa de virus de citomegalo en pacientes de glioblastoma o, alternativamente, la modulación del fenotipo transformado en pacientes de glioblastoma. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención impiden o disminuyen la probabilidad de desarrollar glioblastoma en los sujetos que padecen de virus de citomegalo.

[0094] También abarcado por la presente invención es el tratamiento de la infección por CMV, en el que el CMV se asocia con un tumor tal como, pero no limitado a, cáncer de colon, cáncer de próstata y similares, y el tratamiento de EBV, en donde el EBV está asociado con un tumor, tales como, pero no limitado a, el linfoma de Burkitt, linfoma de Hodgkin, trastorno linfo-proliferativo post trasplante (PTLD), y el carcinoma nasofaríngeo. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

[0095] También será entendido por los expertos en la técnica que los compuestos de la presente invención son útiles para la prevención, atenuación o tratamiento y control de la infección viral y la enfermedad en seres humanos y animales. En algunas realizaciones, el tratamiento es eficaz en casos de infección congénita. En realizaciones adicionales, el tratamiento es eficaz en casos de infección por CMV en pacientes inmunodeprimidos, incluyendo los receptores de trasplante. En realizaciones particulares el tratamiento es eficaz ex-vivo. Dentro del ámbito de la presente invención es el tratamiento de los recién nacidos que están infectados con HCMV, las mujeres embarazadas que están infectadas con HCMV, y los receptores de trasplante. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

[0096] De acuerdo con ciertos aspectos y realizaciones, la presente invención proporciona la terapia de combinación formada por los compuestos de la presente invención y al menos otro fármaco antiviral. En una realización, el compuesto de la presente invención se usa en combinación con un inhibidor de la polimerasa viral de ADN. En otra realización, el inhibidor de la polimerasa viral de ADN se selecciona del grupo que consiste en ganciclovir, foscarnet y cidofovir. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención. En aún otra realización, el inhibidor de la polimerasa viral de ADN es cualquier otro inhibidor de la polimerasa de ADN viral conocido por los expertos en la técnica. En ciertas realizaciones, un compuesto de la presente invención se utiliza en combinación con un fármaco anti-viral, incluyendo, pero no limitado a ganciclovir, valganciclovir, foscarnet, cidofovir, aciclovir, valaciclovir, y cualquier otro fármaco anti-viral conocido en la técnica. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención. En realizaciones adicionales, un compuesto de la presente invención se usa en combinación con uno cualquiera de maribavir, letermovir (también conocido como AIC246), CMX-001, globulinas hiperinmunes CMV y anticuerpos monoclonales de CMV. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

[0097] En caso de que las composiciones de la presente invención se administren como una terapia de combinación con agentes terapéuticos adicionales (por ejemplo, otros agentes anti-virales), el tratamiento puede tener lugar secuencialmente en cualquier orden, simultáneamente o una combinación de los mismos. Por ejemplo, la administración de un compuesto de la invención puede tener lugar antes, después o al mismo tiempo que la administración del agente terapéutico adicional. Por ejemplo, un periodo de tratamiento total puede ser decidido por el compuesto de la invención. El agente adicional se puede administrar antes del inicio del tratamiento con el compuesto de la invención o después del tratamiento con el compuesto de la invención. Además, el agente adicional se puede administrar durante el periodo de administración del compuesto de la invención pero no necesita ocurrir durante todo el periodo de tratamiento. En otra realización, el régimen de tratamiento incluye el tratamiento previo con un agente, seguido de la adición del otro agente o agentes. Secuencias de administración alterna también se contemplan. Administración alterna incluye la administración de un compuesto de la invención, seguido por el agente adicional, seguido por un compuesto de la invención, etc. La eficacia terapéutica de la combinación de un

compuesto de la invención y el agente adicional es al menos aditivo. En algunas realizaciones, la eficacia terapéutica es sinérgica, es decir, la dosis total de cada uno de los componentes puede ser menor, lo que resulta en efectos secundarios significativamente menores experimentados por el sujeto, mientras que un efecto antiviral suficiente se logra no obstante.

[0098] En otra realización, la composición farmacéutica que comprende un compuesto que tiene actividad anti-viral de cualquiera de las fórmulas I, VII, VIII, IX o X como se define en el presente documento ingrediente activo, puede comprender además un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

[0099] Un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable puede ser cualquier material con el que el ingrediente activo se formula para facilitar la administración. Un portador o excipiente puede ser un sólido o un líquido, incluyendo un material que normalmente es gaseoso pero que se ha comprimido para formar un líquido, y cualquiera de los portadores o excipientes usados normalmente en la formulación de composiciones farmacéuticas. Típicamente, las composiciones según la invención contienen 0,5 a 95% en peso de ingrediente activo.

[0100] Los compuestos de la presente invención pueden formularse como, por ejemplo, comprimidos, píldoras, cápsulas, pastillas, gránulos, polvos, pastillas, bolsitas, sellos, elixires, suspensiones, dispersiones, emulsiones, soluciones, jarabes, aerosoles, ungüentos, cápsulas de gelatina blanda y dura, supositorios, soluciones inyectables estériles y polvos envasados estériles. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención. Estas formulaciones pueden producirse mediante procedimientos conocidos usando vehículos sólidos convencionales o excipientes tales como, por ejemplo, lactosa, almidón o talco o vehículos líquidos tales como, por ejemplo, agua, aceites grasos o parafinas líquidas. Otros vehículos o excipientes que pueden usarse incluyen, pero no se limitan a, materiales derivados de proteínas animales o vegetales, como las gelatinas, dextrinas y la soja, el trigo y proteínas de semilla de psilio; gomas tales como acacia, guar, agar, y xantano; polisacáridos; alginatos; carboximetilcelulosas; carrageninas; dextranos; pectinas; polímeros sintéticos tales como polivinilpirrolidona; polipéptido/proteína o polisacárido tales como complejos de gelatina-acacia; azúcares tales como manitol, dextrosa, galactosa y trehalosa; azúcares cíclicos tales como ciclodextrina; sales inorgánicas tales como fosfato de sodio, cloruro de sodio y silicatos de aluminio; y aminoácidos que tienen de 2 a 12 átomos de carbono y derivados de los mismos tales como, pero no limitado a, glicina, L-alanina, ácido L-aspártico, ácido L-glutámico, L-hidroxiprolina, L-isoleucina, L-leucina y L-fenilalanina. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

[0101] Componentes auxiliares tales como desintegrantes de comprimidos, solubilizantes, conservantes, antioxidantes, agentes tensioactivos, potenciadores de la viscosidad, agentes colorantes, agentes aromatizantes, modificadores del pH, edulcorantes o agentes enmascaradores del sabor también se pueden incorporar en la composición. Los agentes colorantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, óxidos de hierro rojo, negro y amarillo y colorantes FD & C tales como FD & C azul nº 2 y FD & C rojo nº 40 disponibles en Ellis & Everard. Agentes aromatizantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, menta, frambuesa, regaliz, naranja, limón, pomelo, caramelo, vainilla, sabores de cereza y uva y cualquiera de sus combinaciones. Modificadores de pH adecuados incluyen, pero no se limitan a, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido fosfórico, ácido clorhídrico y ácido maleico. Los edulcorantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, aspartamo, acesulfamo K y taumatina. Agentes enmascaradores del sabor adecuados incluyen, pero no se limitan a, bicarbonato sódico, resinas de intercambio iónico; compuestos de inclusión de ciclodextrina, adsorbatos o activos microencapsulados. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

[0102] En ciertas realizaciones, se utiliza un vehículo de suministro. Un vehículo de entrega a modo de ejemplo para las composiciones farmacéuticas de la presente invención es un liposoma. Un liposoma es capaz de permanecer estable en un sujeto durante una cantidad de tiempo suficiente para administrar un compuesto de la presente invención al sujeto. Un liposoma dentro del alcance de la presente invención es preferiblemente estable en el sujeto en los que se ha administrado durante al menos aproximadamente 30 minutos, más preferiblemente durante al menos aproximadamente 1 hora e incluso más preferiblemente durante al menos aproximadamente 24 horas.

[0103] Las vías adecuadas de administración de los compuestos y composiciones de la presente invención incluyen, por ejemplo, administración oral, rectal, transdérmica, tópica, transmucosa, especialmente transnasal, intestinal o parenteral, incluyendo intramuscular, subcutánea e inyecciones intramedulares, así como inyecciones intratecales, intraventricular directa, intravenosa, intraperitoneal, intranasal, intraarterial, intravesicular (en la vejiga) o intraoculares. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

[0104] De acuerdo con ciertos aspectos y realizaciones, los compuestos y composiciones de la presente invención son particularmente adecuadas para la administración oral. Se contempla que mediante la administración oral los compuestos y composiciones de la presente invención, un efecto sistémico se puede lograr. En una realización, los compuestos y composiciones de la presente invención se administran por vía respiratoria nasal. Las composiciones en disolventes farmacéuticamente aceptables se pueden nebulizar mediante el uso de gases inertes. Las soluciones nebulizadas pueden respirarse directamente desde el dispositivo de nebulización o el dispositivo de nebulización puede estar unido a una tienda de máscara de la cara, o máquina de respiración de presión positiva intermitente. Composiciones en solución, suspensión o polvo se pueden administrar, por vía oral o nasal, desde dispositivos que suministran la composición de una manera apropiada.

[0105] Las soluciones o suspensiones usadas para aplicación parenteral, intradérmica, o subcutánea incluyen típicamente los siguientes componentes: un diluyente estéril tal como agua para inyección, solución salina, aceites fijos, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol (u otros disolventes sintéticos), agentes antibacterianos (por ejemplo, alcohol bencílico, parabenos de metilo), antioxidantes (por ejemplo, ácido ascórbico, bisulfito de sodio), agentes quelantes (por ejemplo, ácido etilendiaminotetraacético), tampones (por ejemplo, acetatos, citratos, fosfatos), y agentes que ajustan la tonicidad (por ejemplo, cloruro de sodio, dextrosa). El pH se puede ajustar con ácidos o bases, tales como ácido clorhídrico o hidróxido de sodio, por ejemplo. La preparación parenteral puede encerrarse en ampollas, jeringas desechables o viales de múltiples dosis de vidrio o de plástico.

[0106] Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración parenteral incluyen, pero no se limitan a, soluciones acuosas y no acuosas estériles inyectables o suspensiones, que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hacen que las composiciones sustancialmente isotónicas con la sangre de un recipiente pretendido. Tales composiciones también pueden comprender aceites agua, alcoholes, polioles, glicerina y vegetales, por ejemplo. Las soluciones y suspensiones para inyección extemporánea pueden prepararse a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos. Tales composiciones comprenden preferiblemente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención y/u otro agente terapéutico, junto con una cantidad adecuada de portador a fin de proporcionar la forma para la administración apropiada al sujeto.

[0107] El régimen de administración se puede determinar por un experto en la técnica dependiendo de la infección y la gravedad de la condición, la población de pacientes, la edad, peso, etc. La cantidad de un compuesto de la invención que será eficaz en el tratamiento de un trastorno particular o condición, incluyendo HCMV, dependerá de la naturaleza del trastorno o condición, y puede determinarse por técnicas clínicas estándar. Además, in vitro, ensayos de animales (por ejemplo el modelo de transmisión trans-placentario de conejillo de indias y el modelo de ratón recién nacido) y el ensayo ex-vivo descrito en el presente documento a continuación, pueden opcionalmente ser empleados para ayudar a identificar intervalos de dosificación óptimos. La dosis precisa a emplear depende también de la vía de administración, y la progresión de la enfermedad o trastorno, y debe decidirse según el juicio del médico y las circunstancias de cada paciente. Típicamente dosificación en el intervalo de 0,01-1000 mg/kg de peso corporal, 0,1 mg/kg a 100 mg/kg, 1 mg/kg a 100 mg/kg, 10 mg/kg a 75 mg/kg, etc. puede emplearse. Ejemplos de cantidades no limitativas de los compuestos de la presente invención incluyen 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg, 0,5 mg/kg, 1 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg, 50 mg/kg, 60 mg/kg, 75 mg/kg y 100 mg/kg. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención. Alternativamente, la cantidad administrada se puede medir y se expresa como molaridad del compuesto administrado. A modo de ilustración y no de limitación, un compuesto de la presente invención (por ejemplo, un compuesto de cualquiera de las fórmulas I, VII, VIII, IX, o X) se pueden administrar en un intervalo de 0,1 μ M a 10 mM, por ejemplo, aproximadamente 0,1 μ M, 10 μ M, 100 μ M, 1 mM, y 10 mM. Alternativamente, la cantidad administrada se puede medir y se expresó como mg/ml, mg/ml, o ng/ml. A modo de ilustración y no de limitación, un agente anti-viral se puede administrar en una cantidad de 1 ng/ml a 1,000 mg/ml, por ejemplo 1-1000 ng/ml, 1-100 ng/ml, 1-1000 mg/ml, 1-100 mg/ml, 1-1000 mg/ml, 1-100 mg/ml, etc. Las dosis eficaces pueden extrapolarse a partir de curvas de dosis-respuesta derivadas de modelo in vitro, modelo animal o bioensayos o sistemas ex vivo de ensayo de modelo.

[0108] El programa de administración puede ser tomado una vez al día, dos veces al día, tres veces al día, una vez por semana, dos veces por semana, tres veces por semana, una vez al mes, dos veces al mes, tres veces al mes, o cualquier otro programa de administración conocido por los expertos en la técnica. Además, la administración puede ser continua, es decir, cada día, o de forma intermitente. Los términos "intermitente" o "de modo intermitente" como se usa en la presente memoria significa detener e iniciar a intervalos ya sea regular o irregular. Por ejemplo, la administración intermitente puede ser administración en uno a seis días por semana o puede significar la administración en ciclos (por ejemplo, administración diaria durante dos a ocho semanas consecutivas, a continuación, un periodo de descanso sin administración de hasta una semana) o puede significar la administración en días alternos.

SECCIÓN DE DETALLES EXPERIMENTALES

EJEMPLO 1: ACTIVIDAD MUY POTENTE ANTI-VIRAL DE ARTEMISONA Y COMPUESTO IX COMO DETERMINADO POR EL ENSAYO DE REDUCCIÓN DE PLACA

MATERIALES Y METODOS EXPERIMENTALES

Virus, células, y compuestos ensayados

[0109] Las cepas CMV utilizadas fueron: AD169 (obtenido de la American Type Culture Collection), y TB40/E. Además, aislados clínicos de bajo pasaje CI704 y CI893, recuperados en el Laboratorio de Virología Clínica de Hadassah de la orina de recién nacidos infectados congénitamente, y propagados por 3-5 pasajes, se utilizaron para algunos experimentos. Todas las cepas de CMV se propagaron y se titularon en células de fibroblastos de prepucio humano (HFF). Reservas de virus libres de células y aislados clínicos asociados por células se mantuvieron a -70°C. Las reservas virales se titularon por dilución seriada de 10 veces en placas de cultivo de tejido de 24 pocillos que contenían monocapas de HFF superpuestos con medio de agarosa. Después de la incubación durante 7 a 10 días,

las placas se enumeraron, y título de virus se determinó como unidades formadoras de placa (UFP) por mililitro (ml). Las existencias de artemisona, artemiside, RW177, el compuesto IX, y artesunato estaban recién preparados a una concentración 10 mM en DMSO. Ganciclovir, almacenado como 10 mM se usó en ensayos comparativos.

5 Ensayo de reducción de placa

[0110] Las monocapas celulares se inocularon en placas de cultivo de 24 pocillos con 0,2 ml de suspensión de virus que contiene de 60 a 100 PFU por pocillo. Después de la adsorción durante 60 min a 37°C, se retiró el inóculo y el medio de cultivo fue reemplazado con superposición de medio de agarosa que contiene el fármaco ensayado. Se utilizaron las siguientes concentraciones finales de drogas: Artemisona: 0, 0,1, 1, 5, 10, 25, y 50 µM; El artesunato: 0, 1, 5, 10, 25, 50, y 100 µM; Ganciclovir, artemiside, compuesto IX y RW177: 0, 0,1, 1, 5, 10, 25, y 50 µM. Las placas se incubaron durante 10 días a 37°C en un 5% de incubadora de CO₂. Las placas se contaron entonces microscópicamente. La concentración de fármaco requerida para reducir el número de placas a 50% del valor de control (IC 50), se calculó.

15 RESULTADOS

[0111] La actividad antiviral de Artemisona se determinó mediante la aplicación de diversas concentraciones de fármaco a un virus que crecen en cultivo celular, usando un ensayo estándar de reducción de placas. El artesunato, un compuesto conocido por tener actividad anti-viral significativa, se ensayó en paralelo. Ganciclovir fue utilizado como un control positivo adicional. Los valores CI₅₀ de al menos tres experimentos separados con cada fármaco y el virus se promediaron, y los resultados se presentan como media ± de desviación estándar. Curvas representativas de ensayo de reducción de placas para artemisona y artesunato se representan en las Figuras 2A y 3A, respectivamente. Artemisona exhibió actividad antiviral similar (0,9 ± 0,3 µM) a la de ganciclovir, al tiempo que demuestra no citotoxicidad. En comparación, el valor medio CI₅₀ de artesunato era 10,8 ± 4,2 µM. Por lo tanto, artemisona posee eficacia mejorada antiviral muy superior a la de artesunato. Es importante destacar que, artemisona demostró una amplia actividad antiviral CMV contra tanto cepas de CMV derivadas de laboratorio como aislados clínicos de CMV de bajo paso. Actividad antiviral superior de artemisona en comparación con artesunato también se demostró en un sistema de cultivo de células de tipo adicional de las células epiteliales de la retina (RPE). También se encontró que la actividad antiviral del CMV de compuesto IX era superior con valores CI₅₀ de 2,1 ± 0,6 µM. Por lo tanto, el compuesto IX de la presente invención puede también ser utilizado como un agente eficaz anti-CMV.

[0112] En contraste, los derivados de 10-alkilamino artemisinina artemiside y RW177 (Figura 1), que poseen una mayor actividad contra los parásitos, tenían actividad antiviral significativamente inferior (valores CI₅₀ > 40 µM), enfatizando la actividad antiviral mejorada y sorprendente de artemisona y el compuesto IX.

40 EJEMPLO 2: CONFIRMACIÓN DE ACTIVIDAD ANTI-VIRAL ALTAMENTE POTENTE DE ARTEMISONA POR CUANTIFICACIÓN DEL ADN VIRAL

40 MATERIALES Y METODOS EXPERIMENTALES

Cuantificación del ADN viral

[0113] Cantidad viral de ADN en las células infectadas con y sin fármacos añadidos (expresada como copias de genoma/pocillo) se determinó mediante ensayo de PCR en tiempo real, después de la extracción de ADN a partir de células, con el uso de cebadores y la sonda derivada del gen CMV gB. El ensayo se conoce para demostrar una cuantificación lineal en un intervalo de 6-log con una sensibilidad de 50 copias/ml.

50 RESULTADOS

[0114] Los resultados del Ejemplo 1 se confirmaron por cuantificación de ADN viral usando PCR en tiempo real. Estos ensayos confirmaron que artemisona posee eficacia mejorada antiviral, muy superior a la de artesunato. Curvas representativas de acumulación de ADN viral para artemisona y artesunato se representan en las Figuras 2B y 3B, respectivamente.

[0115] Por lo tanto, la susceptibilidad antiviral y ensayos de cuantificación de ADN viral revelaron que artemisona es un inhibidor muy eficaz de la replicación del CMV y la síntesis de ADN viral.

60 EJEMPLO 3: ARTEMISONA INHIBE EFICAZMENTE CMV EXPRESIÓN GENÉTICA INMEDIATAMENTE TEMPRANA (IE)

MATERIALES Y MÉTODOS EXPERIMENTALES

65 Análisis de la expresión génica viral

[0116] Fibroblastos de prepucio humano (HFF) se infectaron con cepa HCMV AD169. A 1 hora después de la

infección (hpi), artemisina (25 μ M) o ganciclovir (25 μ M) se añadieron al medio de crecimiento, y las células se incubaron adicionalmente en presencia del fármaco, hasta preparados para el análisis de inmunofluorescencia en 24 y 72 hpi - para analizar la expresión de IE y pp65, respectivamente. Las células infectadas no tratadas de control, y las células infectadas de forma simulada se analizaron en paralelo.

Ensayo de inmunofluorescencia

[0117] Las células cultivadas en portaobjetos de vidrio de 8 pocillos se infectaron a una multiplicidad de infección (moi) de 0,1 PFU/célula. Se eliminó el sobrenadante a las 24 y 72 hpi, y las células se lavaron 3 veces con PBS y se fijaron con 3,7% de formaldehído durante 30 minutos a temperatura ambiente. Las células se lavaron 5 veces con PBS + 1% de NH 4 Cl, permeabilizadas por 0,1% TX100 durante 5 minutos y se lavaron 5 veces con PBS + 1% de NH 4 Cl. Después de 1 hora de bloquear usando 1% de BSA en PBS, los anticuerpos monoclonales primarios indicados (IE1/2 o pp65) se añadieron a las células en dilución apropiada en 0,5% de BSA en PBS y se incubaron ya sea a temperatura ambiente durante 2 horas o durante la noche en 4°C. El anticuerpo secundario se añadió a las células en dilución apropiada en PBS que contenía 0,5% de BSA durante 30 minutos a temperatura ambiente y se lavó con PBS.

[0118] Después de montaje con medios de montaje comerciales, con la adición de 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) tinción nuclear (produciendo mancha azul nuclear en todas las células), las células se analizaron por microscopía de fluorescencia. Los resultados fueron monitoreados en al menos 3 experimentos independientes, anotando al menos 5 campos (de entre 500 y 800 células cada uno) para cada brazo de tratamiento.

RESULTADOS

[0119] Imágenes de fluorescencia inmune representativas obtenidas en artemisina y células infectadas ganciclovir tratadas se representan en la Figura 4. El tratamiento de artemisina dio lugar a una reducción significativa de la expresión génica IE viral a 24 hpi. Esto está en marcado contraste con los resultados obtenidos en el tratamiento con ganciclovir, que no inhiben la expresión del gen IE (Tabla 1; Figuras 5A).

[0120] De acuerdo con la reducción en la expresión génica IE, el tratamiento de artemisina, como ganciclovir, dio lugar a una reducción altamente eficiente de la expresión génica tardía (pp65) viral (Tabla 1; Figuras 4, 5B).

Tabla 1. Resultados de recuento celular de células totales y HCMV antígeno-positivas.

Tratamiento farmacológico/antígeno CMV analizado	Células totales contadas por campo (N)*	Células positivas por CMV antígeno por campo (N)*	Células positivas por antígeno CMV (%)
Control no tratado / IE1+IE2	664 $\pm$ 23	45 $\pm$ 20	6,78
Artemisina / IE1+IE2	765 $\pm$ 31	0	0
Ganciclovir / IE1+IE2	553 $\pm$ 42	33 $\pm$ 5	5,97
Control no tratado / pp65	647 $\pm$ 67	115 $\pm$ 23	17,77
Artemisina / pp65	798 $\pm$ 43	0	0
Ganciclovir / pp65	555 $\pm$ 22	1 $\pm$ 0,25	0,18

* Al menos 5 campos fueron contados en cada experimento.

[0121] Ya que ganciclovir no inhibe la expresión del gen HCMV temprano inmediato (IE), artemisina inhibe eficazmente la expresión del gen IE y tanto artemisina como ganciclovir inhibe eficazmente la expresión del gen HCMV tardío. Por lo tanto, sin estar limitado por ninguna teoría o mecanismo de acción se contempla que artemisina demuestre un nuevo mecanismo de acción, diferente del de ganciclovir, que implica la inhibición de una etapa muy temprana de la replicación viral precedente de síntesis de ADN viral.

EJEMPLO 4: TERAPIA DE COMBINACIÓN CON ARTEMISINA

[0122] Para investigar el efecto del tratamiento de artemisina en la eficacia de los fármacos anti-HCMV convencionales, por CMV humano, las células infectadas fueron tratadas con una combinación de artemisina y ganciclovir. El uso de concentraciones intermedias de ganciclovir (1 μ M), el tratamiento combinado con artemisina llevó a efectos inhibidores de aditivo sobre la replicación de HCMV.

EJEMPLO 5: EVALUACIÓN DE EFICIENCIA TERAPÉUTICA

[0123] Con el fin de evaluar la eficacia terapéutica de los compuestos anti-CMV de la presente invención, un modelo de infección ex-vivo por HCMV en decidua materna se utiliza como se describe en J. Virol, 2011; 85: 13204-13213, el contenido del cual se incorpora aquí en su totalidad. En particular, el estudio de la transmisión de HCMV y la

patogénesis está en gran medida limitada por la ausencia de modelos animales para la infección por HCMV. Mientras que el modelo de transmisión transplacentaria de conejillo de indias y el modelo de ratón recién nacido han demostrado ser muy valiosos para la evaluación experimental de las vacunas y la patología de cerebro inducida por el virus, la especificidad de especie de HCMV ha impedido el modelado experimental de infección humana congénita. Los cultivos deciduales ex-vivo infectados pueden servir como un modelo humano sustituto único para el cribado de tratamientos terapéuticos. Utilizando el modelo ex-vivo, los diversos procesos fisiológicos y patológicos que se producen en respuesta al tratamiento con los derivados de la artemisinina de la presente invención, se pueden monitorizar permitiendo de este modo la determinación de la eficacia del tratamiento.

MATERIALES Y METODOS EXPERIMENTALES

Células y virus

[0124] Fibroblastos primarios de prepucio humano (HFF) se utilizaron para propagar y aislar cepas de HCMV como se describe en Wolf et al, PNAS, 2001, 98, 1895-900.; y Wolf et al., J. Clin. Invest., 1995, 95, 257-63, el contenido de cada una de las cuales se incorpora en su totalidad. HFF se cultivaron en medio Dulbecco de Eagle modificado (DMEM) suplementado con 10% de suero bovino fetal, 2 mM de glutamina, 100 IU/ml de penicilina, 100 µg/ml de estreptomycin (Biological Industries, Beit Haemek, Israel) y 0,25 µg/ml de fungizona (Invitrogen, CA, EE.UU.). Las cepas HCMV utilizadas fueron AD169 (obtenidas de la American Type Culture Collection), cepa TB40/E que expresa GFP fusionado-UL32 (proporcionada por C. Sinzger, Alemania), TB40/E cepa que expresa GFP fusionado-UL83 (cepa RV1305; proporcionada por M. Winkler, Alemania), y CMVPT30-GFP, una cepa HCMV clínicamente derivada libre de células que expresa GFP (PT30). Estas cepas virales se mantuvieron como reservas virales libres de células. Además, el aislado clínico de bajo paso CI851, se recuperó en el Laboratorio de Virología Clínica de Hadassah de la orina de un recién nacido infectado congénitamente, y se propaga por 3-5 pasajes a medida que se utilizó virus asociado a células. Una reserva libre de célula de CI851 se preparó por sonicación de las células infectadas, seguido de la eliminación de los desechos celulares sedimentados. Los títulos de virus de los sobrenadantes despejados se determinaron por el ensayo de placa estándar en HFF.

Preparación e infección de cultivos de órganos deciduales

[0125] Tejidos deciduales de mujeres que se someten a terminaciones de embarazo electivas en el primer trimestre se obtuvieron por raspado profundo para obtener tejido maternal de la placa basal y lecho placentario que abarca la decidua con invasión trofoblástica intersticial. El estudio fue aprobado por el Centro Médico de la Junta de Revisión Institucional de Hadassah, y realizado de acuerdo con la Declaración de Helsinki, las directrices de Buena Práctica Clínica, y las Directrices de Experimentación sobre Humanos del Ministerio de Salud de Israel. Todos los donantes dieron su consentimiento informado por escrito. Los tejidos, entregados dentro de las 4 horas después de la cirugía, se mantuvieron en hielo hasta el corte. Para la preparación de cultivos de órganos deciduales, los tejidos se lavaron con solución salina tamponada con fosfato (PBS), cortado por un microtomo (Tissue Sectioner, TC-2, Sorvall Corp.) en rodajas finas (250 µm de espesor) que abarca ~ 10 capas de células, y se incubaron en DMEM con 25% de Ham F12, suero bovino fetal al 10%, 5 mM de HEPES, glutamina 2 mM, 100 IU/ml de penicilina, 100 µg/ml de estreptomycin (Biological Industries, Beit Haemek, Israel) , y 0,25 µg/ml fungizona en 37°C, 5% de CO₂.

[0126] Para infección de cultivos de órganos deciduales, los tejidos se colocaron en placas de 48 pocillos (~ 5 rodajas/pocillo para mantener la viabilidad óptima) inmediatamente después del seccionamiento y se inocularon con el virus indicado (10⁴ unidades formadoras de placas/pocillo, a menos que se indique lo contrario) durante 12 horas para permitir la adsorción viral eficaz. Después de la adsorción viral, los cultivos se lavaron extensivamente y se incubaron adicionalmente durante la duración del experimento con el reemplazo del medio de cultivo cada 2-3 días.

Control de la viabilidad del tejido

[0127] Ensayo de enzima de deshidrogenasa mitocondrial (MTT): Cortes de tejido se incubaron con el sustrato de MTT (3-[bromuro de 4,5-dimetiltiazol-2-ilo-2,5-difeniltetrazolio]) (Sigma, Israel) durante 1 hora a 37°C y después se lavaron en PBS, seguido de la adición de etanol al 100% para disolver los cristales de color de productos. La absorbancia de cuatro muestras replicadas se leyó usando un lector de placas ELISA (Organon Teknika, Países Bajos) a una longitud de onda de 540 nm con referencia a 650 nm. La viabilidad se determinó mediante la normalización de los valores de absorbancia para el contenido de proteína de cada extracto como probado mediante el ensayo de Bradford (Kolodkin-Gal et al., 2008, J. Virol., 82, 999-1010).

[0128] Ensayo de consumo de glucosa: Los niveles de glucosa en el medio de los tejidos incubados se controlaron después de 48 horas de cultivo por el dispositivo de detección del azúcar en sangre Accu-Check™ (Roche, Alemania).

Análisis histológico e inmunohistoquímica

[0129] tejidos deciduales se fijaron en formalina al 37%, embebidos en parafina, y se cortaron en secciones de 5 µm. Las secciones se desparafinaron en xileno, se rehidrataron, y se tiñeron con hematoxilina y eosina (H&E).

[0130] Para la detección inmunohistoquímica de antígenos de HCMV, las secciones de tejido se colocaron en 0,01 M de tampón de citrato y se calentó en un baño de agua a 90°C durante 15 minutos, se dejó enfriar a temperatura ambiente, seguido de incubación con anticuerpos monoclonales de ratón primario (mAbs) contra HCMV diluido en bloque CAS (Zimad Laboratories, CA, EE.UU.); inmediato temprano (IE), antígenos pp65, o gB (dilución 1: 1000; Virusys Corporation, Taneytown, Mariland, EE.UU.) o CAS-Block que contiene n° 1^{er} anticuerpo para servir como un control negativo. A continuación, las secciones se lavaron y se incubaron con cabra conjugada con HRP anti-ratón anticuerpo secundario (Biocare Médica, CA, EE.UU.). Las secciones se lavaron de nuevo, y los antígenos de HCMV se detectaron por el sustrato 3,3'Diaminobencidina HRP (DAB), seguido de contratinción con hematoxilina.

10 Inmunofluorescencia

[0131] Las muestras de tejido para tinción de inmunofluorescencia se fijaron en paraformaldehído al 4%, embebidas en OCT, se congelaron rápidamente en nitrógeno líquido y se cortaron en secciones de 10 µm. Las secciones congeladas se trataron con bloque CAS o bloque CAS que contiene los siguientes anticuerpos para los marcadores celulares específicos: mAbs contra citoqueratina 7 (dilución 1: 300, Dako Glostrup, Dinamarca) se utilizaron para la detección de CTBS; mAbs contra vimentina (dilución 1: 100, Dako) se utilizaron para la detección de células del estroma deciduo; mAbs contra CD11c (1:50 dilución, Biolegend, CA, EE.UU.) se utilizaron para la detección de células dendríticas; mAbs contra CD68 (dilución 1: 200, Abcam, Cambridge, Reino Unido) se utilizaron para la detección de los macrófagos, y los anticuerpos policlonales de conejo contra factor de von Willebrand: se utilizaron (1 dilución 800, Dako) para la detección de células endoteliales. Las secciones se lavaron y se incubaron con anticuerpos secundarios de cabra Cy5-conjugado anti-ratón o Cy5-conjugado de cabra anti-conejo (dilución 1: 200, Jackson ImmunoResearch, PA, EE.UU.), y se montaron en medio de montaje Vectashield con 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) tinción nuclear (vector Laboratories, Burlingame, CA). Los portaobjetos se visualizaron utilizando un microscopio Zeiss LSM710 Axio Observer.z1.confocal, y se analizaron usando el software Zen 2009.

Cuantificación de ADN y ARN de HCMV

[0132] Tejidos deciduales infectados y cultivos de células HFF se lavaron extensamente y se almacenaron a -70°C junto con sus sobrenadantes correspondientes (cosechados 2 días después de la última sustitución de medio).

[0133] ADN y ARN se extrajeron de las muestras usando el kit de extracción QIAamp DNA Mini Kit y RNeasy Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Alemania), respectivamente, de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las muestras de ADN purificadas se sometieron a una reacción cuantitativa en tiempo real PCR en un sistema de tiempo 7900HT real PCR (Applied Biosystems, Foster City, CA, EE.UU.), usando cebadores y sondas derivadas de la HCMV glicoproteína B (gB) como se describe en Boeckh et al., 2004, J. Clin. Microbiol., 42, 1142-1148. El ensayo demostró una cuantificación lineal en un intervalo de 6-log. Las muestras de ARN purificado se sometieron a transcripción inversa usando GoScript™ (Promega, Madison, EE.UU.), seguido por cuantitativa en tiempo real PCR de ARNm tardío empalmado por HCMV R160461 como se describe en White et al., 2004, J. Virol., 78, 1817-1830. Para los análisis comparativos y cinéticos, el número de copias de ADN viral en los tejidos y cultivos de células HFF se normalizó por el gen de una sola copia celular RNasa P. RNasa P se cuantificó usando el kit Taqman RNasa P (Applied Biosystems) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El número de copias de ARNm viral se normalizó por la casa celular manteniendo el gen G6PD.

45 Tratamientos antivirales y ensayos

[0134] Los fármacos antivirales ganciclovir y aciclovir (Sigma) se utilizaron a concentraciones de 25 µM, 50 µM, 250 µM y 500 µM. Los fármacos se añadieron al medio de cultivo después de la adsorción de virus.

[0135] Para medir la neutralización por anticuerpos, la cepa del virus indicada se pre-incubó con HCMV HIG (Mega-lotect; 100 mg de Proteína/50 UI por ml; Biotest, Alemania) a 1:10, 1: 100, y 1: 1000 diluciones de 1 hora a temperatura ambiente, seguido de la inoculación de la mezcla virus-anticuerpo pre-incubada en los tejidos.

[0136] En los experimentos de tratamiento de post-adsorción, se añadieron las mismas diluciones de HCMV HIG al medio de cultivo a las 24 horas después de la adsorción viral, después de un lavado extensivo para eliminar el virus débilmente unido.

[0137] Los tejidos se incubaron adicionalmente en presencia del fármaco o anticuerpos para la duración del experimento. Las drogas o anticuerpos fueron re-complementados sobre reemplazos medianos.

[0138] Sensibilidad a los medicamentos antivirales se ensayó mediante la determinación de la concentración de fármaco requerida para reducir el número de copias de ADN viral de tejido normalizado por 50% (CI₅₀), empleando al menos 5 experimentos replicados independientes por drogas.

65 RESULTADOS

Establecimiento de un cultivo de órganos decidual

[0139] Tejidos deciduales de primer trimestre frescos se seccionaron en rodajas finas (250 μ m de espesor), para asegurar accesibilidad de nutrientes. Se colocaron cultivos de órganos deciduales en placas de 48 pocillos (~ 5 rodajas/pocillo) inmediatamente después de la sección, se incubaron en DMEM enriquecido y se sometieron a cambios de medio frecuentes para mantener la viabilidad óptima. La viabilidad del tejido decidual, según se controló tanto por el MTT como los ensayos de consumo de glucosa, se mantuvo durante al menos 12 días de incubación ex-vivo. Además, el examen histológico de secciones obtenidas a institución (día 0) y a los 8 días de cultivo demostró preservación de las características morfológicas típicas deciduales sin signos visibles de la muerte celular (Figuras 6A-6B). Por lo tanto, los explantes deciduales permanecen viables y conservan la morfología natural durante el tiempo necesario para apoyar y controlar la infección por HCMV y la difusión que se produce normalmente dentro de 4-7 días.

Cinética de la infección por HCMV en la decidua

[0140] Para evaluar la susceptibilidad de los cultivos de órganos deciduales a HCMV, cultivos deciduales se infectaron con la cepa PT30 clínicamente derivada libre de célula, expresando GFP (Fox-Canale et al., 2007, Virology, 369, 55-68). Esta cepa, que se mostró mantener un amplio tropismo celular a HFF, las células endoteliales de la vena umbilical, y las células epiteliales de la retina, fue elegida para representar el tropismo celular ancho in vivo de HCMV y proporcionar control visual de la infección.

[0141] Para evaluar las características histopatológicas de la decidua infectada ex vivo, cortes histológicos de los tejidos infectados fueron examinados a las 6 dpi. Secciones de histología de los tejidos infectados ex vivo mostraron las características típicas histopatológicas de la infección natural HCMV, con la aparición de células citomegálicas con cuerpos de inclusión "ojo de lechuza", inclusiones citoplasmáticas granulares, y núcleos hiper cromáticos irregulares (Figuras 6C-6D).

[0142] El análisis inmunohistoquímico de las secciones infectadas reveló la expresión de genes virales tanto inmediato-tempranos, como temprano-tardíos pp65 (Figuras 6E-6F), así como gB (que se sabe que se expresan tarde después de la infección). Todos los tejidos de control, incluyendo secciones infectadas de forma simulada y secciones infectadas reaccionadas solamente con anticuerpos secundarios, fueron negativas por tinción inmunohistoquímica. Estos hallazgos indican que HCMV se somete a un ciclo de replicación completa en los tejidos deciduales infectados.

[0143] Para seguir la cinética de la difusión del virus en la decidua, tejidos vivos infectados con PT30 se controlaron diariamente para las células que expresan GFP mediante microscopía confocal. Como se muestra en las Figuras 7A-7D, expresión de GFP se detectó primero a los 2 días después de la infección (dpi), que aparece en las células individuales. Progresión gradual de la infección se observó por 3-7 dpi, junto con la formación de grupos de placas como de las células infectadas (Figuras 7A-7D). Esta cinética de patrón de infección de cultivo de órganos se observó consistentemente en más de 80 tejidos deciduales obtenidos a partir de diferentes materias, y podría ser monitoreado de manera similar después de la infección con la cepa endotelio trópica TB40/E, expresando GFP-fusionado a finales de pp150 de proteínas estructurales.

[0144] Para cuantificar la progresión de la infección con el tiempo, la acumulación de ADN viral en los cultivos deciduales infectados por PCR en tiempo real después de la infección (10^4 PFU/pocillo) con las cepas PT30, TB40/E, AD169, y la cepa clínica CI851 de paso bajo se midió. Como se muestra en la Figura 8, hubo un aumento constante en el ADN viral asociado de tejido con el tiempo (por encima del nivel de la entrada de ADN restante como se detectó en los primeros tiempos después de la infección) que se demostró para todas las cepas virales: Un incremento de 1,3 a 2-log se observó en la acumulación de ADN viral para todas las cepas entre 2-9 dpi, lo que refleja la síntesis de ADN activo dentro de los tejidos infectados. Por otra parte, un análisis cuantitativo de la ARN R160461 HCMV verdadera-tarde demostró un aumento de 1,9 log dentro de 7dpi tanto para TB40/E como AD169. Estos hallazgos, junto con el patrón de propagación de la expresión de GFP (demostrado de forma independiente para las 2 cepas virales que expresan GFP diferentes), y la expresión de proteínas virales tardías, apoyan la replicación viral activa en los cultivos de órganos deciduales.

HCMV infecta a una amplia gama de células en la decidua

[0145] Mientras que HCMV se caracteriza por un amplio tropismo celular in vivo, estudios in vitro se limitan generalmente a células de tipo de células individuales. Para definir el tropismo celular de HCMV dentro de la decidua, se identificaron los tipos de células infectadas. Se examinaron los tejidos deciduales infectados por las cepas clínicamente derivadas TB40/E y PT30 (caracterizadas por tropismo celular amplio) y las cepas mal endotelio trópicas AD169. Las secciones congeladas de los tejidos infectados por HCMV se analizaron por inmunofluorescencia confocal, utilizando marcadores celulares específicos. La Figura 9 muestra la colocalización viral de la cepa TB40/E con los marcadores de citotrofoblastos invasivos (citoqueratina 7), células endoteliales (factor von Willebrand), células deciduales (Vimentina), células dendríticas (CD11c), y macrófagos (CD68). Tropismo celular similar se muestra para PT30, indicando infección ex-vivo de todos los principales tipos de células deciduales

por HCMV. En experimentos paralelos después de la infección con la cepa AD169, colocalización viral solamente con las células del estroma-decidual vimentina-positivo puede ser demostrada.

Inhibición de la infección por HCMV de cultivos de órganos deciduales

[0146] Estudios recientes han sugerido la aplicabilidad potencial de las intervenciones antivirales prenatales para prevenir la transmisión fetal materna y la enfermedad congénita (Jacquemard et al, 2007 BJOG, 114, 1113-1121; y Nigro et al, 2005, N. Engl. J. Med., 353, 1350-1362). Mientras que todos los medicamentos anti-HCMV actualmente disponibles (es decir, ganciclovir, foscarnet y cidofovir) se consideran opciones antivirales teratogénicas, nuevas y alternativas, incluyendo aciclovir y HCMV HIG, han sido exploradas.

[0147] Para evaluar la eficacia del cultivo de órganos deciduales para evaluar la actividad antiviral, y para examinar el efecto ex-vivo de los fármacos antivirales en la replicación de HCMV en la decidua, cultivos deciduales infectados se incubaron con diferentes concentraciones de ganciclovir y aciclovir. Cultivos deciduales se infectaron con la cepa HCMV TB40/E (10^5 PFU/pocillo) y se incubaron con concentraciones crecientes de ganciclovir (GCV) o aciclovir (ACV). El ADN viral en los lisados de tejidos deciduales tratados y no tratados se cuantificaron a 8 dpi y los valores se normalizaron por copias P ADN RNasa.

[0148] La Figura 10 muestra que ambos fármacos antivirales inhibieron la replicación de HCMV en los cultivos deciduales, medida por reducción dependiente de la dosis de acumulación de ADN viral en los tejidos infectados. Ganciclovir exhibió una eficacia antiviral superior en comparación con aciclovir (CI_{50} de 1,5 μ M frente a 18,3 μ M). Estos hallazgos demuestran que cultivos ex-vivo deciduales infectados pueden servir para estudiar el efecto de las intervenciones antivirales y para evaluar la eficacia terapéutica de los compuestos de la presente invención.

[0149] Se examinó el efecto antiviral de HCMV HIG en los cultivos infectados deciduales. Estudios de la actividad de neutralización mostraron que la preparación de HCMV HIG, cuando se pre-incubó con el virus era capaz de neutralizar la infección por HCMV de la decidua (Figura 11A). La concentración de HIG calculada para la neutralización viral 50% fue de 36 μ g/ml. No se observó ningún efecto antiviral con suero IgG-negativo HCMV. Este hallazgo podría correlacionar con el efecto profiláctico de la HIG en la prevención de la transmisión materno-fetal in vivo. Cabe señalar que la actividad neutralizante de HCMV HIG en los cultivos deciduales fue mayor que la actividad neutralizante en el cultivo de fibroblastos. En experimentos comparativos, el título de neutralización de HCMV HIG era más de 10 veces menor en los cultivos deciduales que en cultivos de células de HFF. Para examinar adicionalmente el potencial efecto terapéutico de la HIG, su actividad antiviral cuando se añade después de la adsorción viral, se examinó. A las 24 horas post-adsorción, los tejidos se lavaron extensamente antes de la adición de diluciones crecientes HIG al medio de cultivo. Una inhibición significativa dependiente de la dosis de la replicación del HCMV se demostró claramente (Figura 11B) con un CI_{50} de 652 μ g/ml. El efecto inhibidor de HIG cuando se añade post-adsorción, también fue evidente por la reducción de la propagación de las agrupaciones de placas como en los últimos tiempos post-infección. En contraste, no se observó efecto inhibidor post-adsorción en cultivos de células de HFF. Estos estudios revelan una neutralización combinada y un efecto antiviral post-adsorción de HCMV HIG en la decidua.

[0150] Por lo tanto, la replicación viral activa en el tejido se demostró por 1) la progresión gradual de focos de células que expresan GFP tras la infección con cepas de HCMV que expresan GFP, junto con un aumento constante en el ADN viral en un intervalo de 2-9 días post infección; 2) la expresión de ARN viral tanto inmediato-temprana como verdadero-tardía y proteínas en los cultivos de órganos infectados; 3) aparición de características histopatológicas típicas de la infección natural; y 4) una inhibición dependiente de dosis de la propagación viral y la acumulación de ADN por el inhibidor de la polimerasa de ADN antiviral ganciclovir. Estos resultados combinados demuestran la capacidad del cultivo de órganos decidual ex-vivo infectado para abordar los aspectos dinámicos de tropismo viral y la propagación.

[0151] Se identificó una amplia gama de células que están infectadas por cepas HCMV clínicamente derivadas en la decidua, incluyendo CTBS invasivos, células endoteliales, macrófagos, decidual del estroma y células dendríticas. Este hallazgo refleja la naturaleza única de tipo de múltiples células de la decidua. Las células infectadas en la decidua representan las dos vías distintas de la entrada viral, es decir, la fusión (en la superficie celular) y la endocitosis mediada, como se caracteriza en fibroblastos y en células epiteliales/endoteliales, respectivamente. Mientras que la entrada mediada por endocitosis de HCMV se ha demostrado que requiere de complejos de GH/gL/UL128-131 virales, las proteínas UL128-131 no son esenciales para la entrada de la fusión mediada por HCMV.

[0152] La neutralización del virus combinada y el efecto post-infección de HCMV HIG, demuestra la capacidad del modelo ex-vivo en los cultivos de órganos deciduales para evaluar el efecto de nuevas intervenciones antivirales en la interfase materno-fetal. Por ejemplo, los cultivos de órganos deciduales infectados podrían ser la base mecanicista para los ensayos clínicos que acceden al uso profiláctico y terapéutico prenatal de fármacos anti-HCMV. El modelado ex-vivo de la infección por HCMV en una novela de cultivo de órganos decidual reveló una gama amplia de células diana con el modo consistente de célula a célula de propagación de cepas virales tanto clínicas como derivadas de laboratorio. Este modelo puede ser utilizado para evaluar la eficacia de los compuestos de la presente

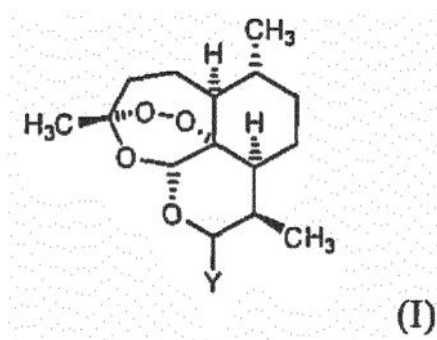
invención como nuevos, eficaces y fármacos anti-HCMV no teratogénicos.

[0153] La descripción anterior de las realizaciones específicas revelará tan completamente la naturaleza general de la invención que otros pueden, mediante la aplicación del conocimiento actual, modificar fácilmente y/o adaptar para diversas aplicaciones tales realizaciones específicas sin experimentación excesiva y sin apartarse del concepto genérico, y, por lo tanto, tales adaptaciones y modificaciones deberían y están destinadas a ser comprendidas dentro del significado y rango de equivalentes de las realizaciones descritas. Es de entenderse que la fraseología o terminología empleada en el presente documento es para el propósito de descripción y no de limitación. Los medios, materiales, y pasos para llevar a cabo diversas funciones descritas pueden tomar una variedad de formas alternativas sin apartarse de la invención.

[0154] Debe entenderse que la descripción detallada y los ejemplos específicos, aunque indican realizaciones preferidas de la invención, se dan a modo de ilustración solamente, ya que diversos cambios y modificaciones dentro del espíritu y alcance de la invención serán evidentes para los expertos en la técnica a partir de esta descripción detallada.

Reivindicaciones

1. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto que tiene actividad anti-viral representada por la estructura de fórmula I:



o una sal o un solvato del mismo, en donde Y representa un grupo -NR¹R²; en donde cualquiera

(i) R¹ representa un grupo alquilo, alquenilo o alquinilo opcionalmente sustituido; y R² representa un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo opcionalmente sustituido;

(ii) R¹ representa un átomo de hidrógeno y R² representa un alquilo opcionalmente sustituido, alquenilo, alquinilo o cicloalquilo;

(iii) R¹ y R² junto con el átomo de nitrógeno adyacente representan un grupo heterocíclico no aromático seleccionado del grupo que consiste en piperazinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, y morfolinosulfonilo o un grupo amino derivado de un éster de ácido amino opcionalmente sustituido; o

(iv) R¹ representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo opcionalmente sustituido; y R² representa un grupo -A-X (= Z), en donde X representa un átomo de carbono, un átomo de azufre, un grupo sulfóxido de S = O, o un grupo PR³, POR³ o PN(R⁴) - R³, donde R³ y R⁴ representan cada uno independientemente un átomo de hidrógeno o un opcionalmente alquilo sustituido, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo;

Z representa un átomo de oxígeno, un átomo de azufre o un grupo NR⁵, donde R⁵ representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo opcionalmente sustituido; y

A representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo opcionalmente sustituido, o un grupo seleccionado de N(R⁶)₂, NHNH₂, NR⁶NHR⁶, NR⁶N(R⁶)₂, OR⁶, SR⁶, 10 α -dihidroartemisnilo, OR⁷ y NR⁶R⁷, donde cada R⁶ representa independientemente un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo opcionalmente sustituido, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo, y R⁷ representa un enlace unido como un sustituyente para R⁵ o R¹ que juntos con los grupos adyacente representan un grupo heterocíclico opcionalmente sustituido,

para uso en el tratamiento de una infección viral o supresión de la replicación viral.

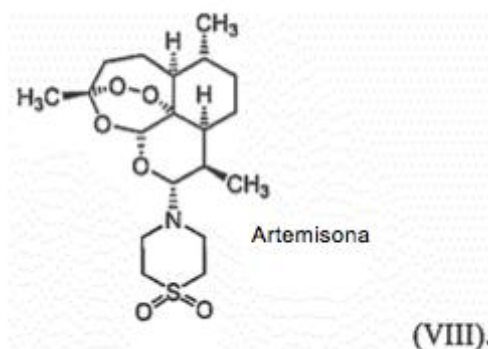
2. La composición farmacéutica para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la infección viral tiene actividad oncomodulatoria en el desarrollo de un tumor.

3. La composición farmacéutica para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que Y representa un grupo -NR¹R², en el que R¹ y R² junto con el átomo de nitrógeno adyacente representan un grupo heterocíclico no aromático seleccionado del grupo que consiste en piperazinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo y morfolinosulfonilo.

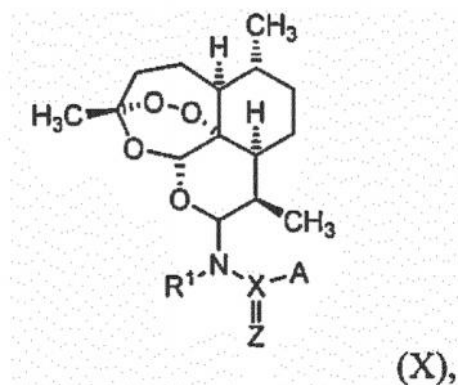
4. La composición farmacéutica para uso de acuerdo con la reivindicación 3, en el que dicho grupo heterocíclico no aromático está sustituido.

5. La composición farmacéutica para uso de acuerdo con la reivindicación 4, en el que dicho compuesto está

representado por la estructura de fórmula VIII:



6. La composición farmacéutica para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que dicho compuesto está representado por la estructura de la fórmula X:



en la que R¹ representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, alqueniilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo opcionalmente sustituido;

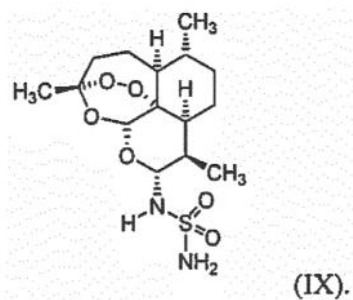
X representa un átomo de carbono, un átomo de azufre, un grupo sulfóxido de S = O o un grupo PR³, POR³ o PN(R⁴) - R³ donde R³ y R⁴ representan cada uno independientemente un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo opcionalmente sustituido, alqueniilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo;

Z representa un átomo de oxígeno, un átomo de azufre o un grupo NR⁵ donde R⁵ representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, alqueniilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo opcionalmente sustituido; y

A representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, alqueniilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo opcionalmente sustituido, o un grupo seleccionado de N(R⁶)₂, NHR⁶, NR⁶ NHR⁶, NR⁶ N(R⁶)₂, OR⁶, SR⁶, 10α-dihidroartemisnilo, OR⁷ y NR⁶ R⁷, donde cada R⁶ representa independientemente un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo opcionalmente sustituido, alqueniilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo, y R⁷ representa un enlace unido como un sustituyente para R⁵ o R¹ que juntos con los grupos adyacente representan un grupo heterocíclico opcionalmente sustituido.

7. La composición farmacéutica para uso de acuerdo con la reivindicación 6, en el que R¹ representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, alqueniilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo opcionalmente sustituido; X representa un átomo de carbono, un átomo de azufre, o un grupo sulfóxido de S = O; Z representa un átomo de oxígeno o un átomo de azufre; y A representa un grupo N(R⁶)₂, NHR⁶, NR⁶ NHR⁶, o NR⁶ N(R⁶)₂, donde cada R⁶ representa independientemente un átomo de hidrógeno o un alquilo opcionalmente sustituido, alqueniilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo.

8. La composición farmacéutica para uso de acuerdo con la reivindicación 7, en el que dicho compuesto está representado por la estructura de fórmula IX:



9. La composición farmacéutica para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha infección viral o la replicación es una infección por virus de herpes o la replicación.

10. La composición farmacéutica para uso de acuerdo con la reivindicación 9, en la que dicha infección viral o la replicación es una infección por virus de citomegalo o la replicación, preferiblemente en la que dicha infección viral o la replicación es una infección de virus de citomegalo humano o replicación.

11. La composición farmacéutica para uso de acuerdo con la reivindicación 2, en la que dicho tumor es glioblastoma asociado con virus de citomegalo.

12. La composición farmacéutica para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, comprendiendo además portador o excipiente farmacéuticamente aceptable.

13. La composición farmacéutica para uso según la reivindicación 12,

en la forma seleccionada del grupo que consiste en comprimidos, píldoras, cápsulas, pastillas, gránulos, polvos, pastillas, bolsitas, sellos, elixires, suspensiones, dispersiones, emulsiones, soluciones, jarabes, aerosoles, ungüentos, cápsulas de gelatina blandas y duras, supositorios, soluciones inyectables estériles y polvos envasados estériles; o adecuada para la administración a través de una vía seleccionada del grupo que consiste en administración oral, rectal, intramuscular, subcutáneos, intravenosa, intraperitoneal, intranasal, intraarterial, intravesicular, intraocular, transdérmica y tópica.

14. La composición farmacéutica para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el compuesto es adecuado para la co-administración en combinación con al menos otro fármaco anti-viral; preferiblemente

en la que al menos otro fármaco anti-viral se selecciona del grupo que consiste en ganciclovir, valganciclovir, foscarnet, cidofovir, aciclovir y valaciclovir; o

en la que la co-administración de los agentes terapéuticos se lleva a cabo en un régimen seleccionado de una única composición combinada, administrándose las composiciones individuales separadas sustancialmente al mismo tiempo, y composiciones individuales separadas bajo horarios separados.

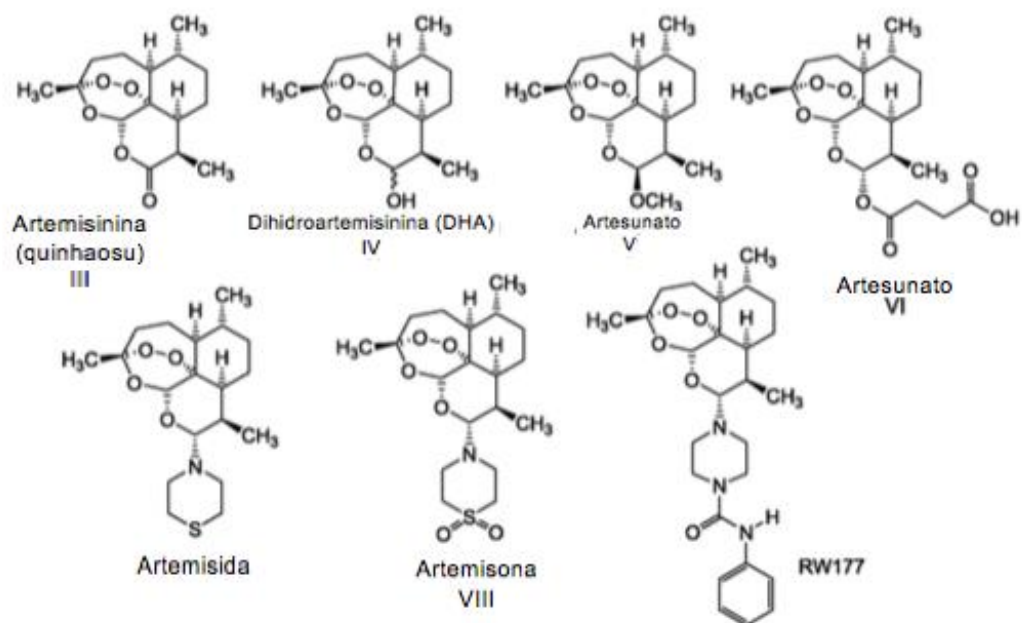


Figura 1

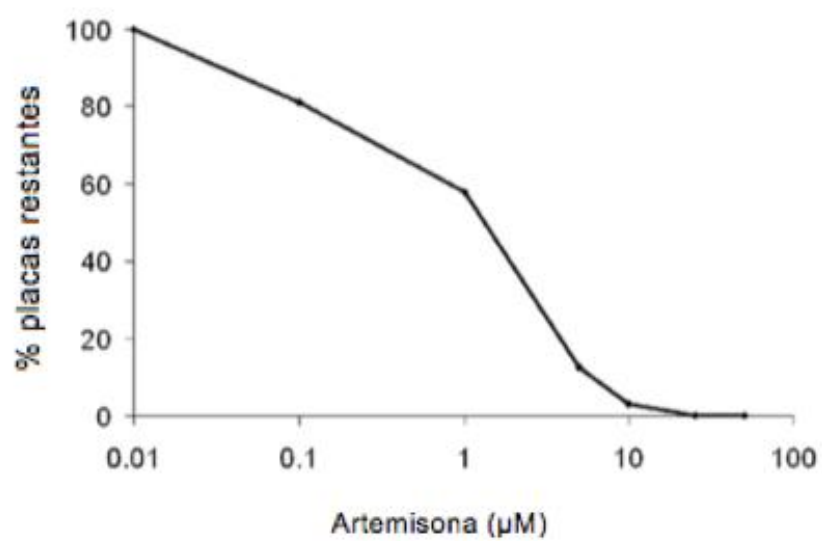


Figura 2A

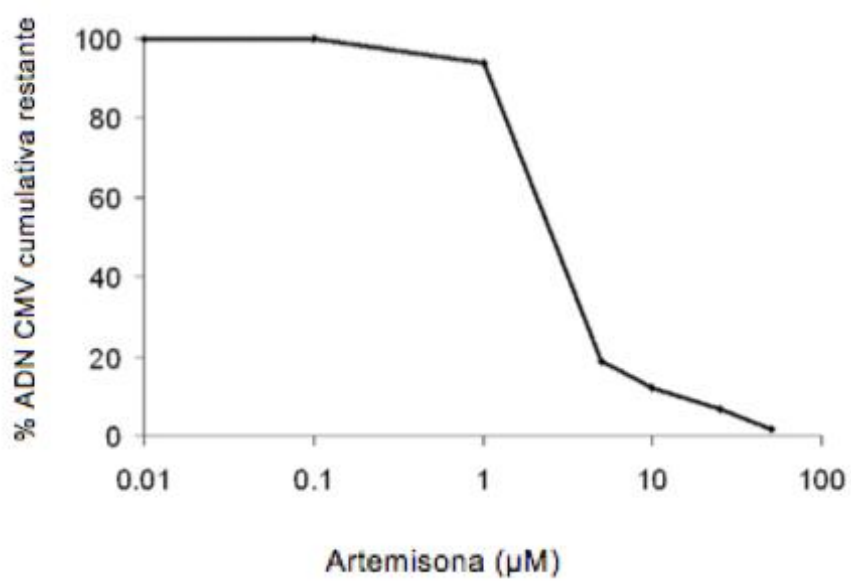


Figura 2B

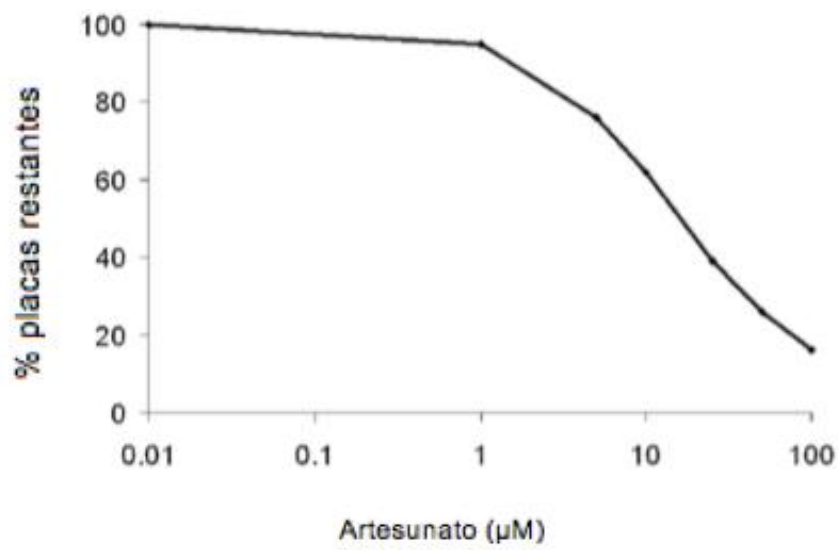


Figura 3A

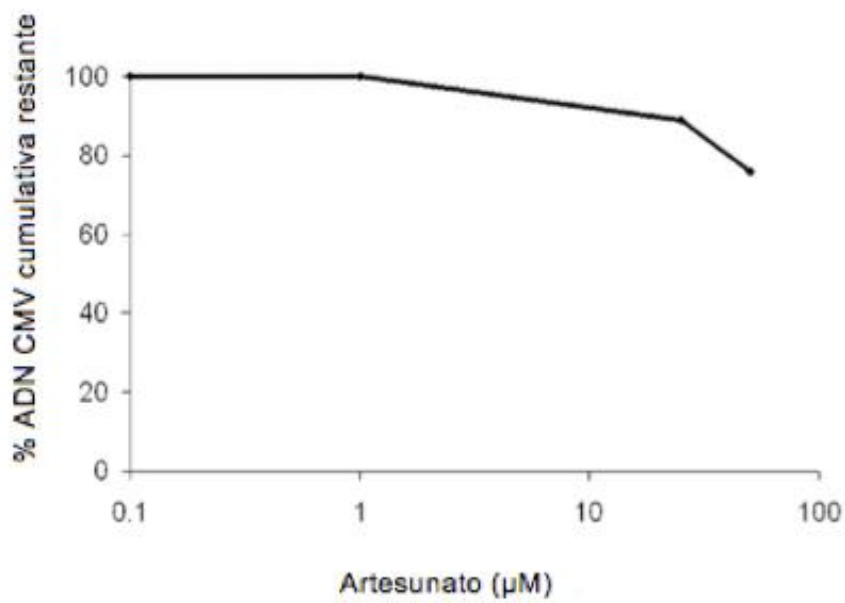


Figura 3B

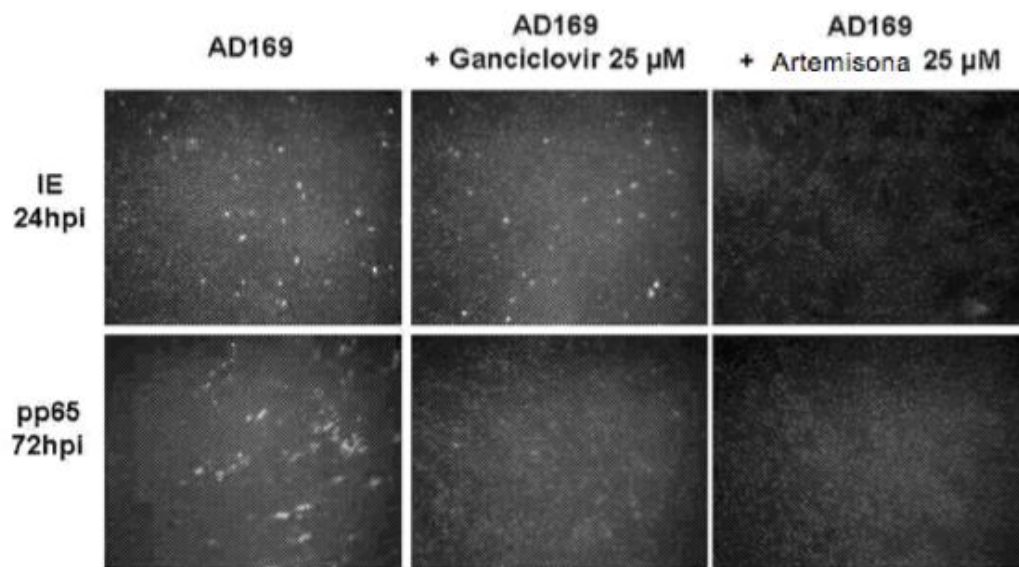


Figura 4

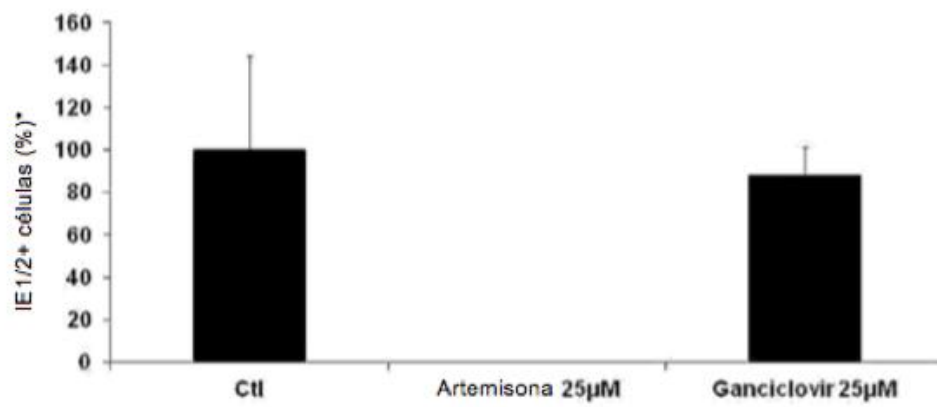


Figura 5A

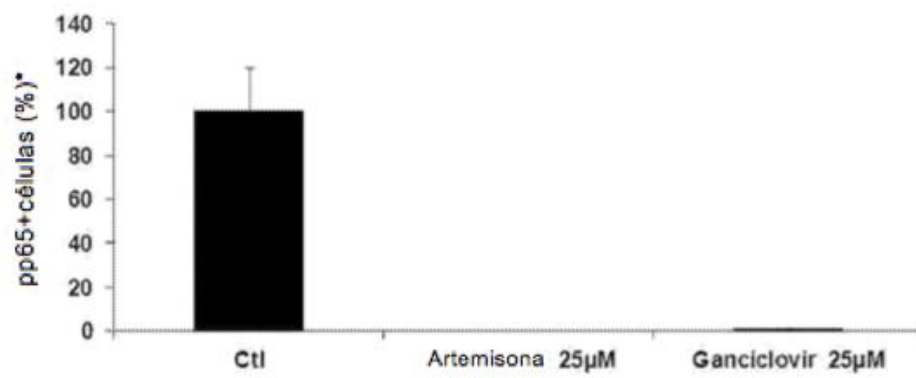


Figura 5B

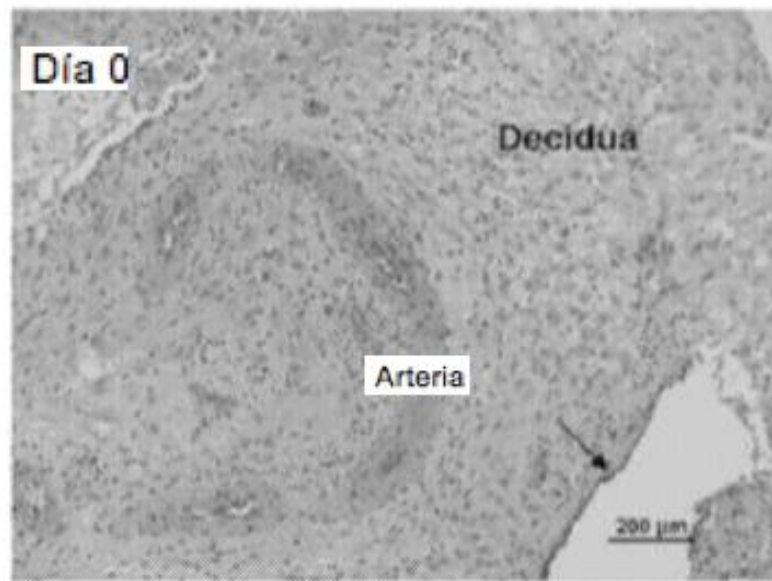


Figura 6A

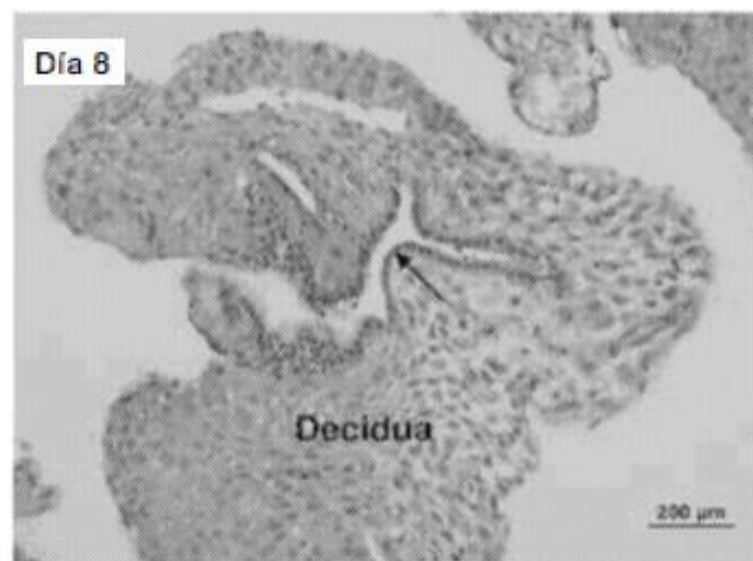


Figura 6B

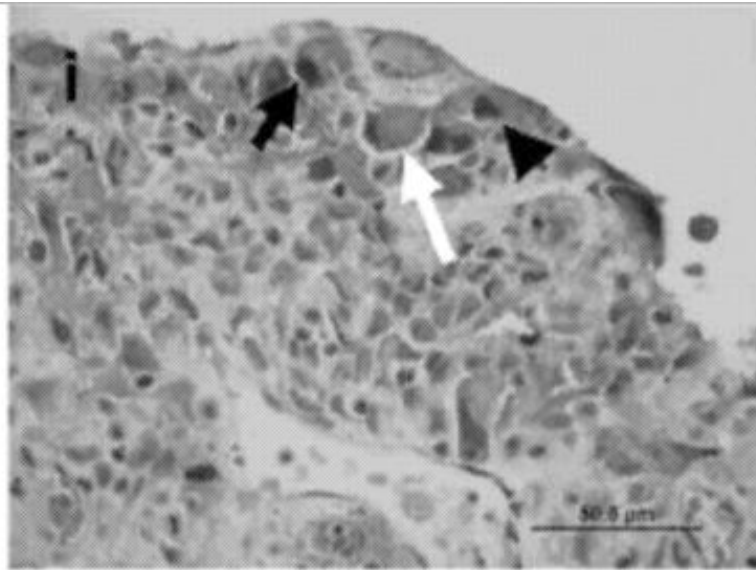


Figura 6C

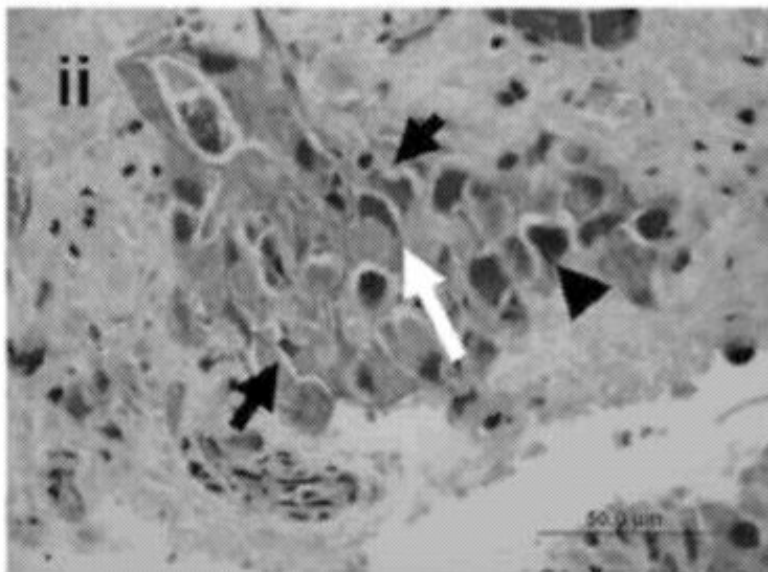


Figura 6D

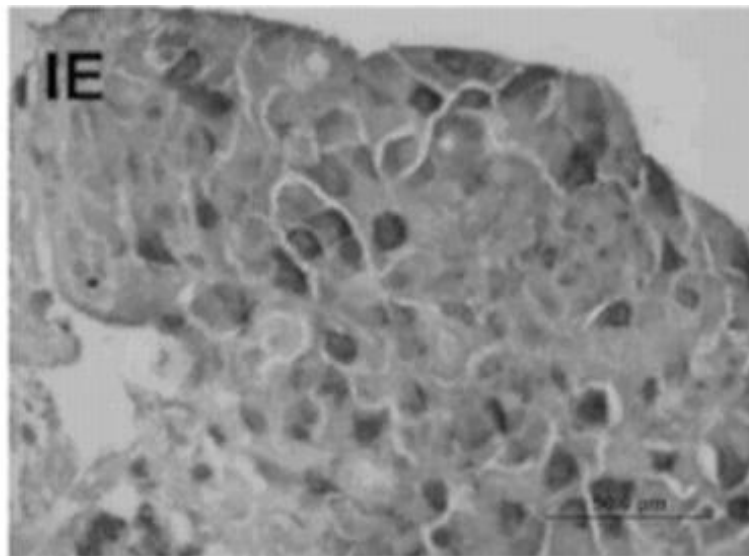


Figura 6E

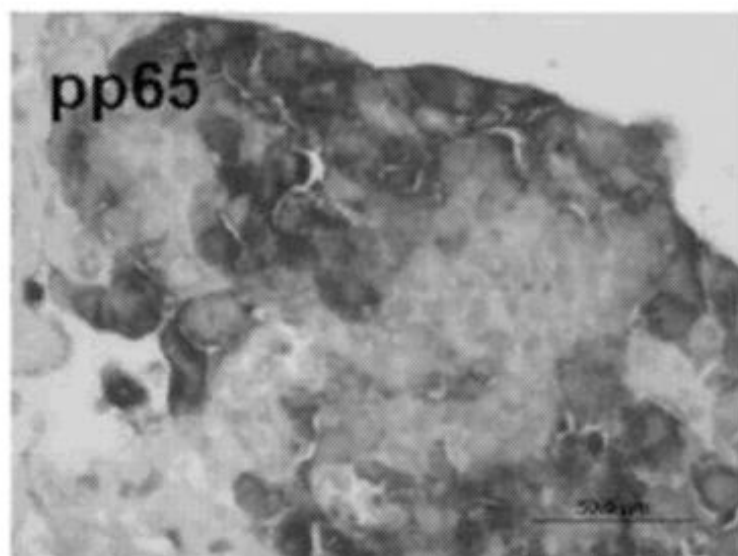


Figura 6F

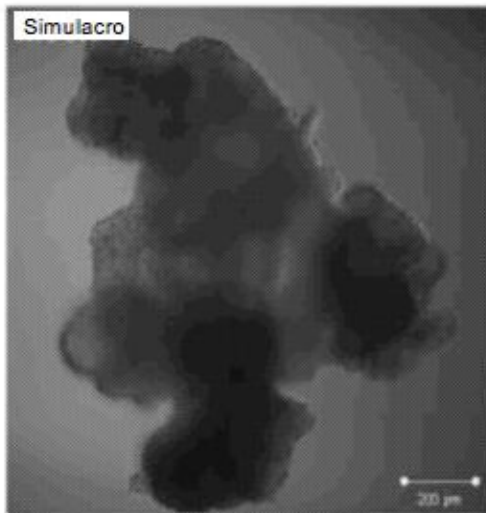


Figura 7A

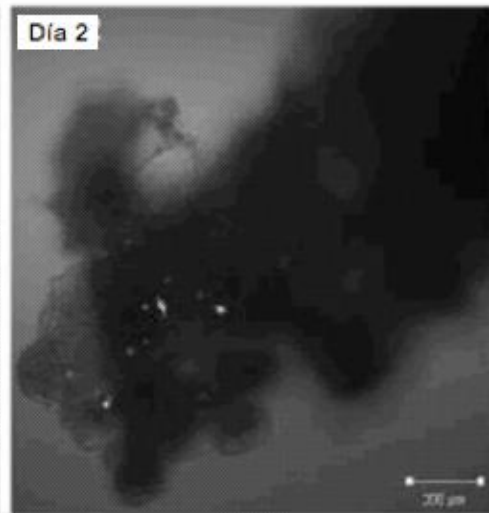


Figura 7B

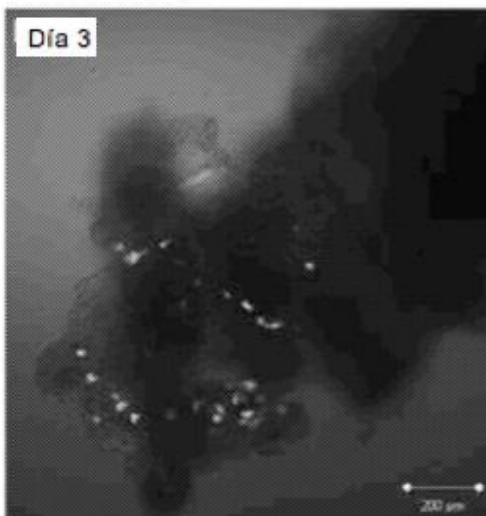


Figura 7C

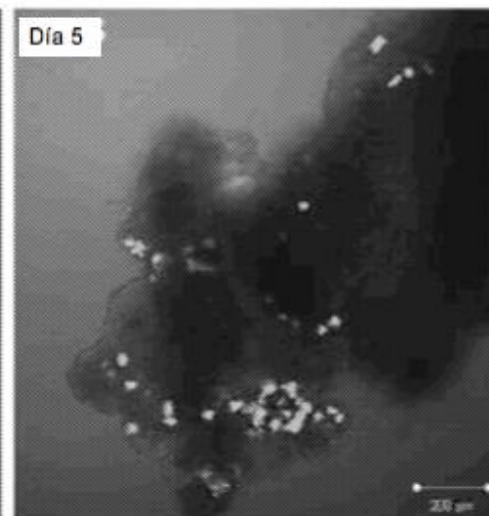


Figura 7D

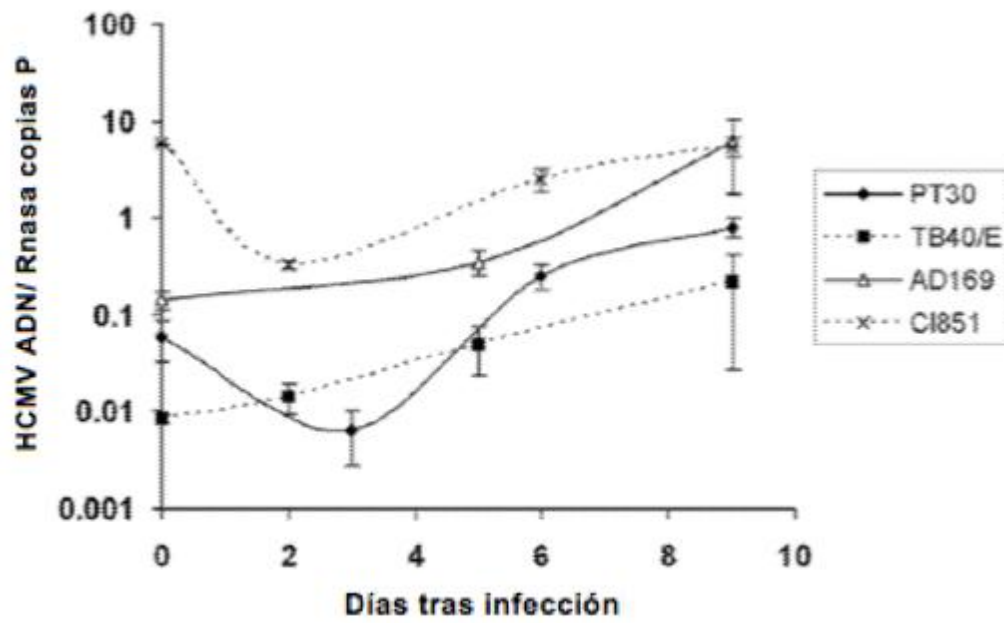


Figura 8

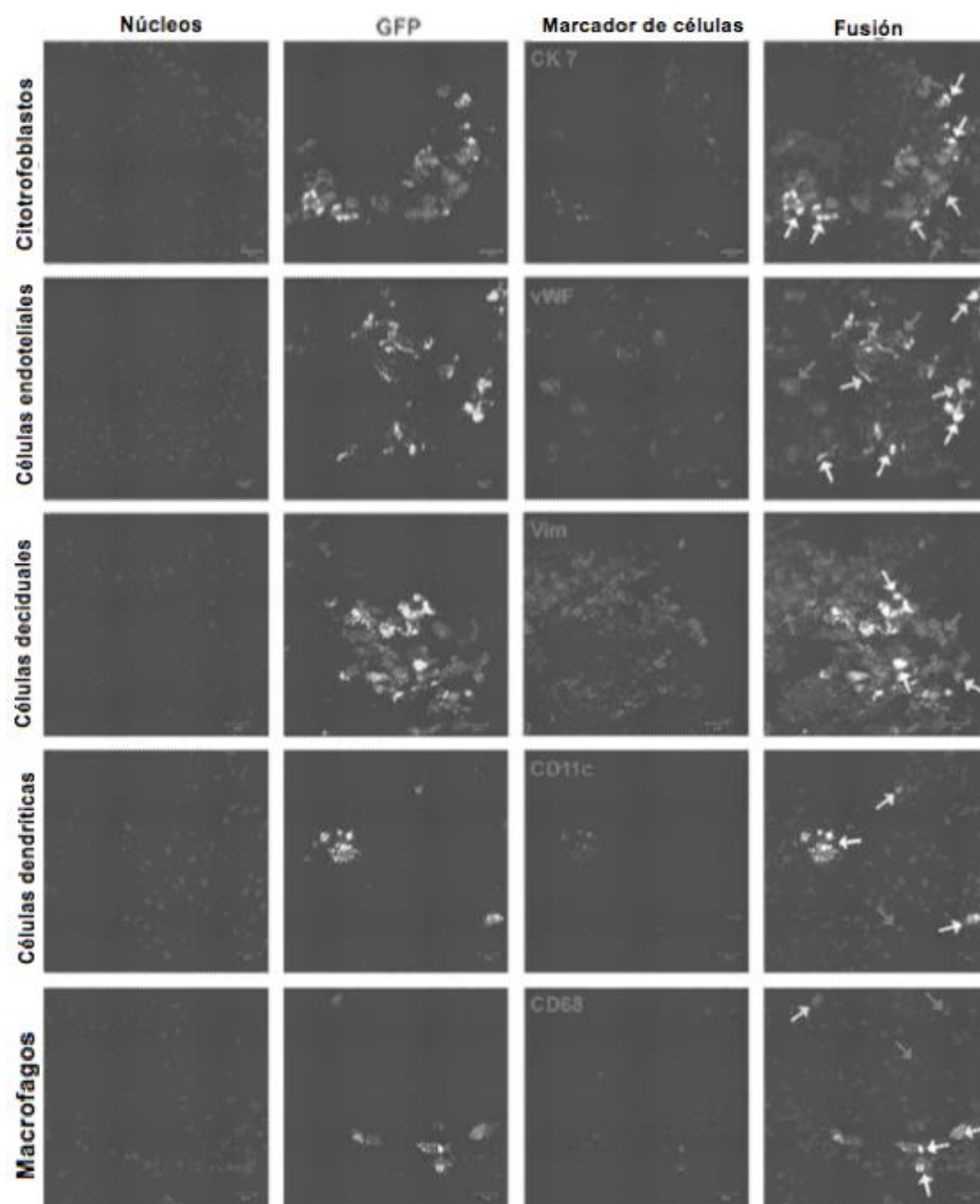


Figura 9

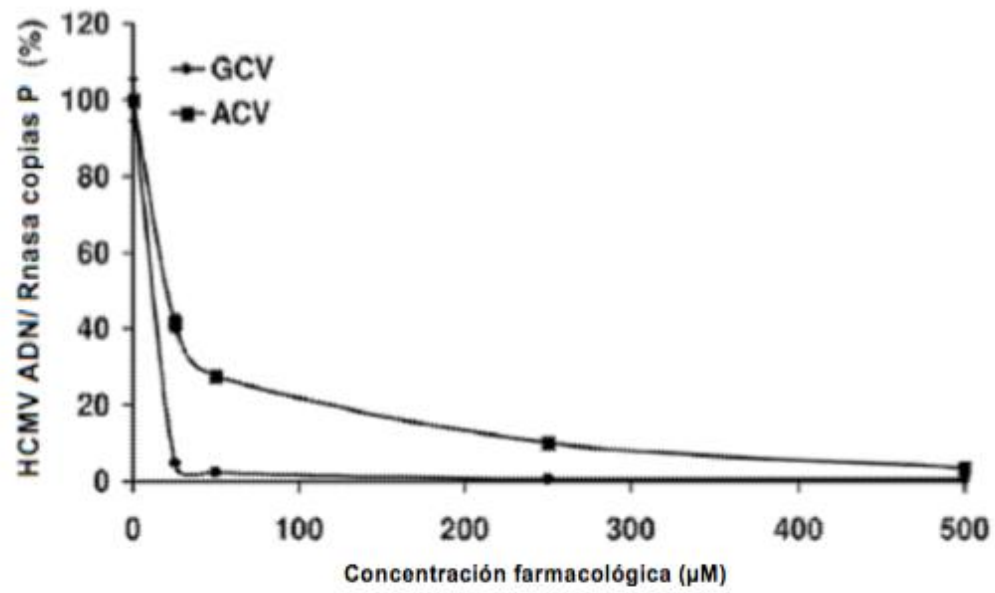


Figura 10

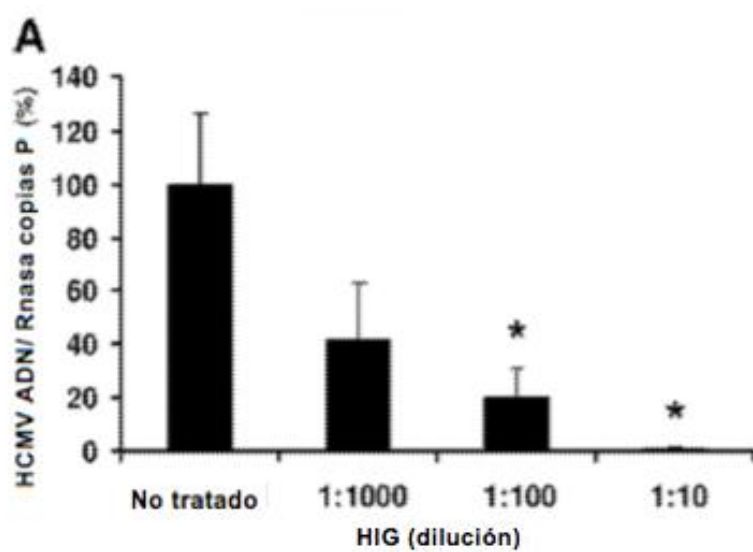


Figura 11A

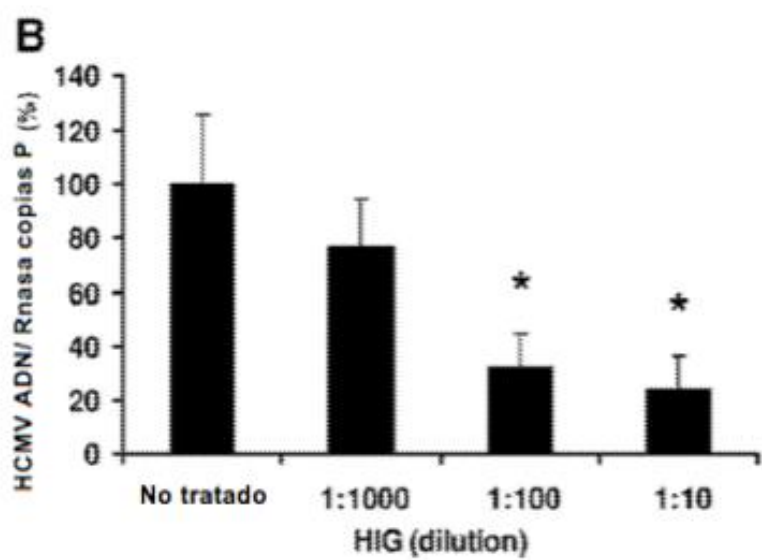


Figura 11B