



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102670628 B

(45) 授权公告日 2015. 11. 25

(21) 申请号 201210080173. X

(22) 申请日 2009. 01. 23

(30) 优先权数据

61/023, 633 2008. 01. 25 US

61/101, 810 2008. 10. 01 US

(62) 分案原申请数据

200980109790. 4 2009. 01. 23

(73) 专利权人 奇默里克斯公司

地址 美国北卡罗来纳州

(72) 发明人 E·R·拉尼尔 M·R·阿尔蒙德

G·R·佩因特

(74) 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

72002

代理人 过晓东

(51) Int. Cl.

A61K 31/675(2006. 01)

A61P 31/18(2006. 01)

A61P 31/20(2006. 01)

A61P 1/16(2006. 01)

(续)

(56) 对比文件

F. Myrick et al..The Triple Combination of Tenofovir, Emtricitabine and Efavirenz Shows Synergistic Anti-HIV-1 Activity In Vitro. 《Program and Abstracts / Antiviral Research》. 2007, 第 74 卷 p. 83.

Fung et al..Tenofovir Disoproxil Fumarate: A Nucleotide Reverse Transcriptase Inhibitor for the Treatment of HIV Infection.

《CLINICALTHERAPEUTICSV》. 2002, 第 24 卷 (第 10 期), p. 1515-1548.

George R. Painter et al..Evaluation of Hexadecyloxypropyl-9-R-[2-(Phosphonmethoxy)Propyl]- Hexadecyloxypropyl-9-R-[2-(Phosphonmethoxy)Propyl]-Adenine, CMX157, as a Potential Treatment for Human Immunodeficiency Virus Type 1 and Hepatitis B Virus Infections. 《ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY》. 2007, 第 51 卷 (第 10 期), p. 3505 - 3509.

Tomas Cihlar et al..Design and Profiling of GS-9148, a Novel Nucleotide Analog Active against Nucleoside-Resistant Variants of Human Immunodeficiency Virus Type 1, and Its Orally Bioavailable Phosphonoamidate Virus Type 1, and Its Orally Bioavailable Phosphonoamidate. 《ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY》. 2007, 第 52 卷 (第 2 期), p. 655 - 665.

William E. Delaney IV et al.. Combinations of Adefovir with Nucleoside Analogs Produce Additive Antiviral Effects against Hepatitis B Virus In Vitro. 《ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY》. 2004, 第 48 卷 (第 10 期), p. 3702 - 3710.

审查员 王芳菲

权利要求书1页 说明书38页 附图3页

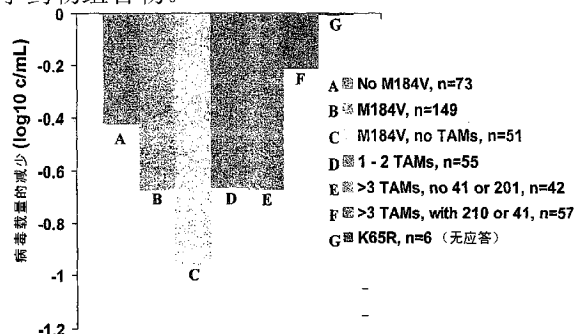
(54) 发明名称

治疗病毒感染的方法

(57) 摘要

本发明提供了治疗人免疫缺陷病毒 (HIV) 和 / 或乙型肝炎病毒 (HBV) 感染的方法, 其包括以治疗个体的所述 HIV 和 / 或 HBV 感染, 以及至少基本抑制个体对所述抗病毒化合物的耐药性的产生的有效量给药本发明所述的化合物。本发明还提供

了药物组合物。



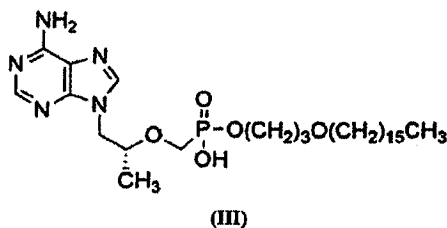
[转续页]

[接上页]

(51) Int. Cl.

A61M 31/00(2006.01)

1. 一种包含式 III 所示化合物



或其药学上可接受的盐以及扎西他滨的组合物在制备用于治疗患有免疫缺陷性病毒 (HIV) 传染病的患者并且至少基本上抑制对式 III 化合物产生与在所述患者体内免疫缺陷性病毒 (HIV) 中的 K65R、E404D 和 / 或 G436E 突变有关的耐药性的药物中的应用, 所述药物是适于口服、直肠、鼻、局部、阴道或胃肠外给药的制剂形式, 其中, 所述患者在此之前并未使用过针对 HIV 传染病的抗病毒活性剂。

2. 根据权利要求 1 所述的应用, 其中, 所述患者具有受损的免疫能力。

3. 根据权利要求 1 所述的应用, 其中, 所述患者进一步感染有乙型肝炎病毒 (HBV)。

4. 根据权利要求 3 所述的应用, 其中, 在这里所说的式 III 化合物以有效治疗 HBV 和 HIV 的量使用。

5. 根据权利要求 1 所述的应用, 其中, 所述的患者还位于子宫内并且, 所述的式 III 化合物对在子宫内携带这一患者的母亲使用。

6. 根据权利要求 1-5 任意其中一项所述的应用, 其中, 所述的患者是灵长类患者。

7. 根据权利要求 6 所述的应用, 其中, 所述的患者是人类患者。

治疗病毒感染的方法

[0001] 本申请是 2009 年 1 月 23 日递交的申请号为 200980109790.4, 发明名称为“治疗病毒感染的方法”的分案申请。

[0002] 相关申请

[0003] 本申请根据 35U.S.C. § 119(e) 要求于 2008 年 1 月 25 日提交的序列号为 61/023,633 的美国临时专利申请, 和于 2008 年 10 月 1 日提交的序列号为 61/101,810 的美国临时申请的优先权, 每一申请的公开内容整体援引加入本文。

[0004] 发明背景

[0005] 1 型人免疫缺陷病毒 (HIV-1) 编码病毒复制所需的 3 种酶: 逆转录酶、蛋白酶和整合酶。用蛋白酶抑制剂和逆转录酶抑制剂的联合疗法长期用于有效治疗 HIV, 而整合酶抑制剂正开始起到显著的作用 (参见 Palella 等人, N. Engl. J. Med., 338, 853-860 (1998); Richman, Nature, 410, 995-1001 (2001))。然而, 经常由于耐药性的产生、对复杂给药方案的不顺应性、药代动力学相互作用、毒性和 / 或缺乏疗效而导致治疗失败。因此, 亟需具有抗 HIV 突变株活性、具有较少的副作用并且允许简单的给药时间的新的疗法。

[0006] 发明概述

[0007] 本发明的第一方面在于治疗个体的人免疫缺陷病毒 (HIV) 和 / 或乙型肝炎病毒 (HBV) 感染的方法 (在本发明的某些实施方案中, 所述个体以前未被给药用于所述 HIV 或 HBV 感染的抗病毒活性剂), 所述方法包括: 以治疗所述个体的所述病毒感染以及基本抑制所述个体对抗病毒化合物的耐药性的产生的有效量向所述个体给药本文所述式 (I)-(III) 和 (V)-(X) 的抗病毒化合物, 或其药学可接受的盐、立体异构体、非对映异构体、对映异构体或外消旋物。

[0008] 本发明的另一方面在于治疗个体的人免疫缺陷病毒 (HIV) 和 / 或乙型肝炎病毒 (HBV) 感染的方法, 其中作为以前向所述个体给药用于所述 HIV 或 HBV 感染的至少一种抗病毒化合物的反应, 所述个体已对至少一种抗病毒化合物产生耐药性或毒性反应, 所述方法包括: 以治疗所述个体的所述病毒感染以及抑制所述个体对抗病毒化合物的耐药性的进一步发展的有效量向所述个体给药本文所述式 (I)-(III) 和 (V)-(X) 的抗病毒化合物, 或者其药学可接受的盐或立体异构体、非对映异构体、对映异构体或外消旋物。

[0009] 上述方法还可以包括与所述抗病毒化合物同时向所述个体给药一种或多种其它抗病毒活性剂。

[0010] 在上述某些实施方案中, 所述个体是免疫受损的 (例如由于所述病毒)。

[0011] 在上述某些实施方案中, 所述病毒是 HBV (在其某些实施方案中, 所述个体患有暴发性肝炎或暴发性肝功能衰竭)。

[0012] 在上述某些实施方案中, 所述个体被 HBV 和 HIV 二者感染, 以治疗所述 HBV 和 HIV 二者的有效量给药所述抗病毒化合物。

[0013] 在上述某些实施方案中, 所述个体在子宫内, 并且向在子宫内怀有所述个体的母亲给药所述活性化合物。

[0014] 本发明的另一方面是本文所述式 (I)-(III) 和 (V)-(X) 的抗病毒化合物在实施本

文所述的方法中的用途,和 / 或在制备用于实施本文所述的方法的药物中的用途。

[0015] 本发明的另一方面是药物组合物,其包含:(a) 本文所述式 (I)-(III) 和 (V)-(X) 的抗病毒化合物,或者其药学可接受的盐或立体异构体、非对映异构体、对映异构体或外消旋物;(b) 一种或多种其它抗病毒活性剂(例如抗 HIV 或抗 HBV 抗病毒化合物);以及(c) 药学可接受的载体。

[0016] 本文还记载了这样的发现,即本文所述的活性化合物与诸如 HIV 的病毒直接缔合或结合,这使得能够将所述活性化合物递送到活性化合物否则不可进入的细胞隔室或组织隔室(有时称为“特殊隔室(privileged compartment)”)中,并且将所述活性化合物用作杀微生物剂以(例如预防性地)抑制诸如 HIV 的病毒的传播。还描述了实施这样的方法的组合物和装置,以及如本文所述的活性化合物在实施这样的方法中的用途。

[0017] 在某些实施方案中,在上述方法、装置或组合物中,所述一种或多种其它抗病毒剂可选自拉米夫定、阿巴卡韦、齐多夫定、司他夫定、扎西他滨、去羟肌苷、恩曲他滨、替诺福韦、地拉韦啉、依法韦仑、依曲韦林、奈韦拉平、氨普那韦、阿扎那韦、地瑞那韦、茚地那韦、洛匹那韦、奈非那韦、利托那韦、沙奎那韦、替拉那韦、马拉韦罗、恩夫韦肽和雷特格韦。

[0018] 附图简述

[0019] 图 1 表示用于比较目的的经受了抗逆转录病毒的患者在 24 周时对替诺福韦的病毒学应答。

[0020] 图 2 表示与 HDP-TFV (CMX157) 相比的替诺福韦 (TFV) 的体外药效。

[0021] 图 3 表示与 HDP-TFV (CMX157) 相比的 TFV 的体外药效,这次 HDP-TFV 的 IC_{50} 乘以 100 以放大 (scaling)。

[0022] 发明详述

[0023] 关于本文所提供的说明和方法,会更加详细地描述本发明的前述方面和其它方面。应当理解,本发明能够以不同的形式进行实施,而不应解释为限于本文所列的实施方案。恰恰相反,提供这些实施方案以使本公开内容详尽且完整,并且会向本领域技术人员充分表达本发明的范围。

[0024] 在本发明的说明书中所用的术语仅用于描述具体实施方案的目的,而并非意图限制本发明。除非上下文清楚地指出,如本发明的实施方案的描述和所附权利要求中所用的单数形式“一种”还意图包括复数形式。此外,本文所用的“和 / 或”意指并且涵盖一个或多个相关的所列项目的任意和全部可能的组合。而且,当本文所用的术语“约”涉及诸如化合物的量、剂量、时间、温度等可测量的值时,其旨在涵盖指定量的 20%、10%、5%、1%、0.5% 或者甚至 0.1% 的变化。还应当理解,当术语“包含”和 / 或“包括”用于本说明书中时,其说明存在所陈述的特征、整数、步骤、操作、元件和 / 或组分,但是并不排除一种或多种其它特征、整数、步骤、操作、元件、组分和 / 或其组合的存在或增加。除非另外定义,本说明书中所用的包括技术术语和科学术语在内的全部术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常理解的含义相同的含义。

[0025] 本文所引用的全部专利、专利申请和公开整体援引加入本文。在术语有冲突的情况下,以本说明书为准。

[0026] 本文所用的“烷基”意指含有 1-30 个碳原子的直链或支链的烃。在某些实施方案中,烷基含有 2-25、2-24、1-10 或 1-8 个碳原子。在某些实施方案中,烷基含有 1-6 个碳原

子。在某些实施方案中,烷基含有 1-4 个碳原子。在其它实施方案中,烷基含有 1-5 个碳原子,而在其它实施方案中,烷基含有 1-4 或 1-3 个碳原子。烷基的代表性实例包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基、正戊基、异戊基、新戊基、正己基、3-甲基己基、2,2-二甲基戊基、2,3-二甲基戊基、正庚基、正辛基、正壬基、正癸基等。其它实例或常用取代基通过本文所述实施例中所示的具体实施方案进行阐述。

[0027] 本文所用的“烯基”意指含有 2-30 个碳并且含有至少一个由脱去两个氢所形成的碳-碳双键的直链或支链的烃。在某些实施方案中,烯基含有 2-25、2-24、2-10、2-8 个碳原子。在某些实施方案中,烯基含有 2-6 个碳原子。在其它实施方案中,烯基含有 2-5 个碳原子,而在其它实施方案中,烯基含有 2-4 或 2-3 个碳原子。“烯基”的代表性实例包括但不限于乙烯基、2-丙烯基、2-甲基-2-丙烯基、3-丁烯基、4-戊烯基、5-己烯基、2-庚烯基、2-甲基-1-庚烯基、3-癸烯基等。其它实例或常用取代基通过本文所述实施例中所示的具体实施方案进行阐述。

[0028] 本文所用的“炔基”意指含有 2-30 个碳原子并且含有至少一个碳-碳三键的直链或支链的烃基。在某些实施方案中,炔基含有 2-25、2-24、2-10 或 2-8 个碳原子。在某些实施方案中,炔基含有 2-6 个碳原子。在其它实施方案中,炔基含有 2-5 个碳原子,而在其它实施方案中,炔基含有 2-4 或 2-3 个碳原子。炔基的代表性实例包括但不限于乙炔基、1-丙炔基、2-丙炔基、3-丁炔基、2-戊炔基、1-丁炔基等。其它实例或常用取代基通过本文所述实施例中所示的具体实施方案进行阐述。

[0029] 本文所用的术语“烷氧基”意指通过氧原子连接到母体分子部分的如前文所定义的烷基。在某些实施方案中,烷基含有 1-30 个碳原子。在其它实施方案中,烷基含有 1-20、1-10 或 1-5 个碳原子。在某些实施方案中,烷氧基含有 1-8 个碳原子。在某些实施方案中,烷氧基含有 1-6 个碳原子。在某些实施方案中,烷氧基含有 1-4 个碳原子。在其它实施方案中,烷氧基含有 1-5 个碳原子,而在其它实施方案中,烷氧基含有 1-4 或 1-3 个碳原子。烷氧基的代表性实例包括但不限于甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、叔丁氧基和正戊氧基。其它实例或常用取代基通过本文所述实施例中所示的具体实施方案进行阐述。

[0030] 本文所用的“氨基酸残基”意指包括键合到伯氨基 ($-\text{NH}_2$) 基团、羧酸 ($-\text{COOH}$) 基团、侧链和氢原子上的碳原子的化合物。例如,术语“氨基酸”包括但不限于甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、丝氨酸、苏氨酸、天冬氨酸和谷氨酸。在本发明中,在式 I 或 Ia 中,当 R_2 为 $-\text{NR}'\text{H}$ 并且 R' 为氨基酸残基时, N 作为侧链连接到碳原子上。另外,本文所用的“氨基酸”还包括氨基酸的衍生物,如酯和酰胺及盐,以及其它衍生物,包括具有代谢为活性形式的药物性质 (pharmacoproperties) 的衍生物。其它实例或常用取代基通过本文所述实施例中所示的具体实施方案进行阐述。

[0031] 本文所用的“环烷基”意指通过脱去单个氢原子而衍生自环烷烃的 3-12 个碳的单价饱和环烷基或二环烷基。在某些实施方案中,环烷基含有 3-8 个碳原子。在某些实施方案中,环烷基含有 3-6 个碳原子。环烷基可以任选地由烷基、烷氧基、卤素或羟基取代基取代。环烷基的代表性实例包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环辛基。其它实例或常用取代基通过本文所述实施例中所示的具体实施方案进行阐述。

[0032] 本文所用的“杂烷基”、“杂烯基”或“杂炔基”意指例如含有一个或多个氧、硫、氮、磷或硅原子来代替碳原子的烷基、烯基或炔基。在某些实施方案中,杂烷基含有 1-8 个碳原

子。在某些实施方案中,杂烯基和杂炔基独立地含有 2-8 个碳原子。在其它实施方案中,杂烷基、杂烯基和杂炔基独立地含有 2-5 个碳原子,而在其它实施方案中,杂烷基、杂烯基和杂炔基独立地含有 2-4 或 2-3 个碳原子。

[0033] 术语“杂环”或“杂环基”表示含有 1 个、2 个或 3 个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 3-、4-、5-、6-、7- 或 8- 元的饱和或不饱和环。在某些实施方案中,杂环含有 3、4、5 或 6 个碳原子。代表性的杂环基包括但不限于呋喃基、噻吩基、吡咯基、哌啶基、1,4- 二噁烷基、吗啉基、硫代吗啉基、吡咯烷基、噁唑基、噻唑基、咪唑基、吡唑基、吡唑啉基、异噁唑基、异噻唑基和哌嗪基。

[0034] 本文所用的术语“卤素”意指氟 (F)、氯 (Cl)、溴 (Br) 或碘 (I),并且术语“卤代 (halo)”意指卤素基团:氟代 (-F)、氯代 (-Cl)、溴代 (-Br) 和碘代 (-I)。

[0035] 本文所用的术语“卤代烷基”意指含有至少一个由至少一个卤代(卤代如本文所定义)基团取代的碳原子的如本文所定义的直链或支链烷基。在某些实施方案中,卤代烷基含有 1-30 个碳原子。在某些实施方案中,卤代烷基含有 1-8 或 1-6 个碳原子。在其它实施方案中,卤代烷基含有 1-4 个碳原子。其它实例或常用取代基通过本文所述实施例中所示的具体实施方案进行阐述。

[0036] 本文所用的术语“芳基”意指具有一个或多个芳环的单环碳环体系或二环碳环稠环体系。芳基的代表性实例包括萘基、茚满基、茚基、萘基、苯基、四氢萘基等。除非另外指出,术语“芳基”旨在包括取代和未取代的芳基。例如,芳基可以由一个或多个杂原子(例如氧、硫和 / 或氮)取代。其它实例或常用取代基通过本文所述实施例中所示的具体实施方案进行阐述。

[0037] 通常,要通过本发明的方法进行治疗的个体为哺乳动物和灵长类个体(例如人、猴、猿、黑猩猩)。个体可以是雄性或雌性的,并且可以是任何年龄的,包括胎儿(即在子宫内)、新生儿、婴儿、少年、青年、成年和老年个体。因此,在某些情况下,个体可以是怀孕的雌性个体。治疗可以用于任何目的,包括对以前受到感染的个体的治疗性治疗,以及对未感染个体的预防性治疗(例如鉴定为具有高感染风险的个体)。

[0038] 如本文所用,本文所用的“人免疫缺陷病毒”(或“HIV”)旨在包括其所有的亚型,包括 HIV 的 A、B、C、D、E、F、G 和 O 亚型以及 HIV-2。

[0039] 如本文所用,本文所用的“乙型肝炎病毒”(或“HBV”)旨在包括其所有的亚型(adw、adr、ayw 和 ayr)和 / 或基因型(A、B、C、D、E、F、G 和 H)。

[0040] 如本文所用,本文所用的“多重核苷耐药性”意指预示或表明对于大部分或全部核苷和核苷酸逆转录酶抑制剂的降低的药效的基因型或表现型模式。基因型实例包括 Q151M 复合体、T69SXX 复合体和多胸苷类似物(multiple thymidine analog)相关的突变。表现型实例包括很少或没有 NRTI 测试为“敏感”的模式。

[0041] 如本文所用,本文所用的“毒性反应”可以为对用抗病毒剂治疗的任何有害毒性反应和 / 或不期望的反应,其包括但不限于恶心、呕吐、皮疹、腹泻、肾毒性、线粒体毒性等及其组合。

[0042] 本文所用的“治疗有效量”或“有效量”意指会对个体的至少一种临床症状提供某些缓解、减轻和 / 或减少的量。本领域技术人员应当理解,治疗效果不必是完全的或治愈的,而只要为个体提供某些益处。

[0043] 除非另外指明,本文所示的结构还意图包括所有该结构的异构(例如对映异构、非对映异构和几何异构(或构象异构))形式;例如对每一不对称中心的R和S构型、(Z)和(E)双键异构体以及(Z)和(E)构象异构体。因此,本发明的化合物的单个立体异构体以及对映异构、非对映异构和几何异构(或构象异构)混合物均在本发明的范围内。除非另外指明,本发明化合物的全部互变异构形式在本发明的范围内。

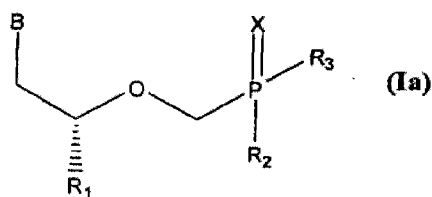
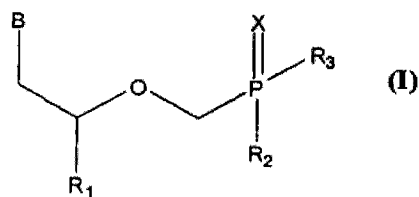
[0044] 本文所用的术语“治疗”意指逆转、缓和本文所述疾病或病症、延缓其发作或抑制其发展。在某些实施方案中,可以在已产生一种或多种症状后给予治疗。在其它实施方案中,可以在没有症状的情况下给予治疗。例如,可以在症状发作前向易感个体给予治疗(例如,根据症状历史和/或根据遗传因素或其它易感因素)。还可以在症状解决后继续治疗,例如以预防或延缓它们的复发。

[0045] 本发明的活性化合物可以任选地与用于治疗本文所述的病毒感染的其它活性化合物和/或药剂联合给药。可以任选地同时给药其它化合物。本文所用的词语“同时(concurrently)”意味着在时间上足够接近以产生联合作用(即同时可以是同时发生地(simultaneously),或者可以是在短时间内发生的互为之前或之后的两个或更多个事件)。

[0046] A. 活性化合物

[0047] 通常,用于实施本发明的活性化合物是式I的抗病毒化合物(或者更为具体地,在某些实施方案中是式Ia的化合物),或者其药学可接受的盐或立体异构体、非对映异构体、对映异构体或外消旋物:

[0048]



[0049] 其中:

[0050] B为嘌呤或嘧啶碱基,包括但不限于:腺嘌呤、6-氯嘌呤、黄嘌呤、次黄嘌呤、鸟嘌呤、8-溴鸟嘌呤、8-氯鸟嘌呤、8-氨基鸟嘌呤、8-胍基鸟嘌呤、8-羟基鸟嘌呤、8-甲基鸟嘌呤、8-巯基鸟嘌呤、2-氨基嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、胸腺嘧啶、胞嘧啶、5-氟胞嘧啶、尿嘧啶; 5-溴尿嘧啶、5-碘尿嘧啶、5-乙基尿嘧啶、5-乙炔基尿嘧啶、5-丙炔基尿嘧啶、5-丙基尿嘧啶、5-乙烯基尿嘧啶、5-溴乙烯基尿嘧啶;

[0051] R_1 为H、甲基、乙基、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$ 或 C_{1-6} 卤代烷基;

[0052] R_2 为氟、羟基、 $-\text{OR}_{2a}$ 、 $-\text{BH}_3$ 、 C_1-C_8 烷基、 C_{2-8} 烯基、 C_{2-8} 炔基、 C_{1-8} 杂烷基、 C_{2-8} 杂烯基、 C_{2-8} 杂炔基或 $-\text{NR}'\text{H}$;

[0053] R_{2a} 为 C_{1-8} 烷基、 C_{2-8} 烯基、 C_{2-8} 炔基、 C_{1-8} 杂烷基、 C_{2-8} 杂烯基、 C_{2-8} 杂炔基、 $-\text{P}(=\text{O})$

(OH)₂或 -P(=O)(OH)OP(=O)(OH)₂;

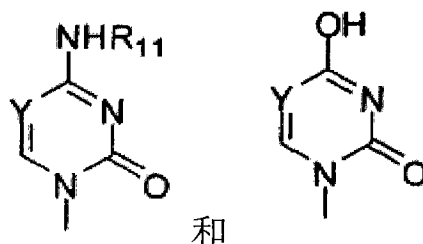
[0054] R' 为 C₁₋₈烷基、C₂₋₈烯基、C₂₋₈炔基、C₁₋₈杂烷基、C₂₋₈杂炔基、C₂₋₈杂烯基、C₆₋₁₀芳基或氨基酸残基;

[0055] R₃为 -O(CH₂)_mO(CH₂)_nCH₃, 其中 m 为 2 至 5 (在某些实施方案中为 2 或 3), 并且 n 为 11 至 21 (在某些实施方案中为 15 或 17); 并且

[0056] X 为硒、硫或氧 (在某些实施方案中为氧)。

[0057] 碱基 B 的其它实例包括但不限于以下通式的化合物:

[0058]



[0059] 其中,

[0060] Y 为 N 或 CX;

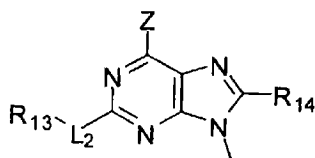
[0061] X 选自 H、卤素、C₁₋₆烷基、C₂₋₆烯基、C₂₋₆炔基、CN、CF₃、N₃、NO₂、C₆₋₁₀芳基、C₆₋₁₀杂芳基和 COR_b;

[0062] R_b选自 H、OH、SH、C₁₋₆烷基、C₁₋₆氨基烷基、C₁₋₆烷氧基和 C₁₋₆硫代烷基; 并且

[0063] R₁₁选自 H、C₁₋₆烷基、C₂₋₆烯基、C₂₋₆炔基、C₆₋₁₀芳基和由 C₁₋₆烷基、C₂₋₆烯基、C₂₋₆炔基或 C₆₋₁₀芳基取代的羰基。B 的实例还记载于美国专利第 6,583,149 号中, 其整体援引加入本文。

[0064] 碱基 B 的其它实例包括但不限于以下通式的化合物:

[0065]



[0066] 其中,

[0067] Z 为 NH₂或羟基;

[0068] L₂为共价键 (即不存在)、-N(-R₁₅)-、N(-R₁₅)C(=O)-、-O-、-S-、-S(=O)-或 -S(=O)₂-;

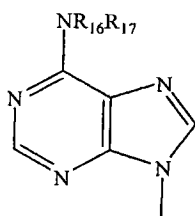
[0069] R₁₃为 H、C₁₋₆烷基、C₁₋₆杂烷基、C₂₋₆烯基、C₆₋₁₀芳基、C₇₋₁₆芳基烷基、C₃₋₁₀碳环基、C₆₋₁₀杂环基或 C₇₋₁₆杂环基烷基;

[0070] R₁₄为 H、卤素、羟基、烷氧基、-O(CH₂)_xOC(=O)OR₁₅或 OC(=O)OR₁₅, 其中 x 为 2 或 3 至 10、15 或 20; 并且

[0071] R₁₅为 H、C₁₋₆烷基、C₁₋₆杂烷基、C₂₋₆烯基、C₆₋₁₀芳基、C₇₋₁₆芳基烷基、C₃₋₁₀环基、C₆₋₁₀杂环基或 C₇₋₁₆杂环基烷基。

[0072] 碱基 B 的其它实例包括但不限于以下通式的化合物:

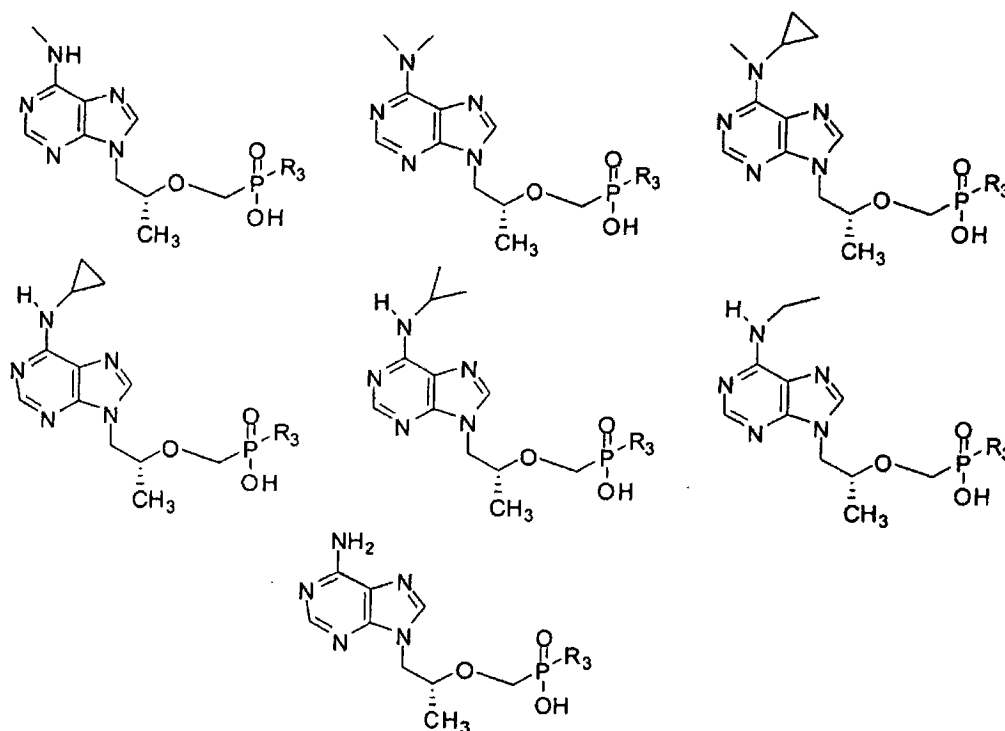
[0073]



[0074] R_{16} 和 R_{17} 独立地选自氢、 C_{1-6} 烷基或 C_{3-6} 环烷基,或者 N ; R_{16} 和 R_{17} 共同形成 N_3 、 C_{3-8} 杂环基,其中 C_{3-6} 环烷基和 C_{3-8} 杂环基可以任选地由一个或多个 C_{1-5} 烷基取代。

[0075] 用于实施本发明的示例性活性化合物(替诺福韦类似物)包括但不限于:

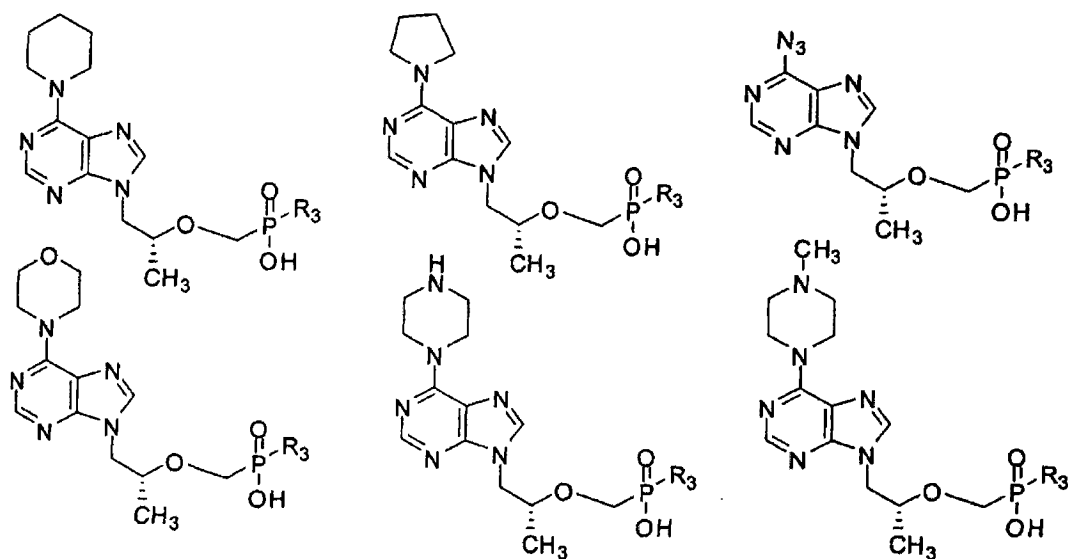
[0076]



[0077] 其中 R_3 为 $\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_{17}\text{CH}_3$ 或 $\text{O}(\text{CH}_2)_3\text{O}(\text{CH}_2)_{15}\text{CH}_3$ 。

[0078] 用于实施本发明的活性化合物(替诺福韦类似物)的其它实例包括但不限于:

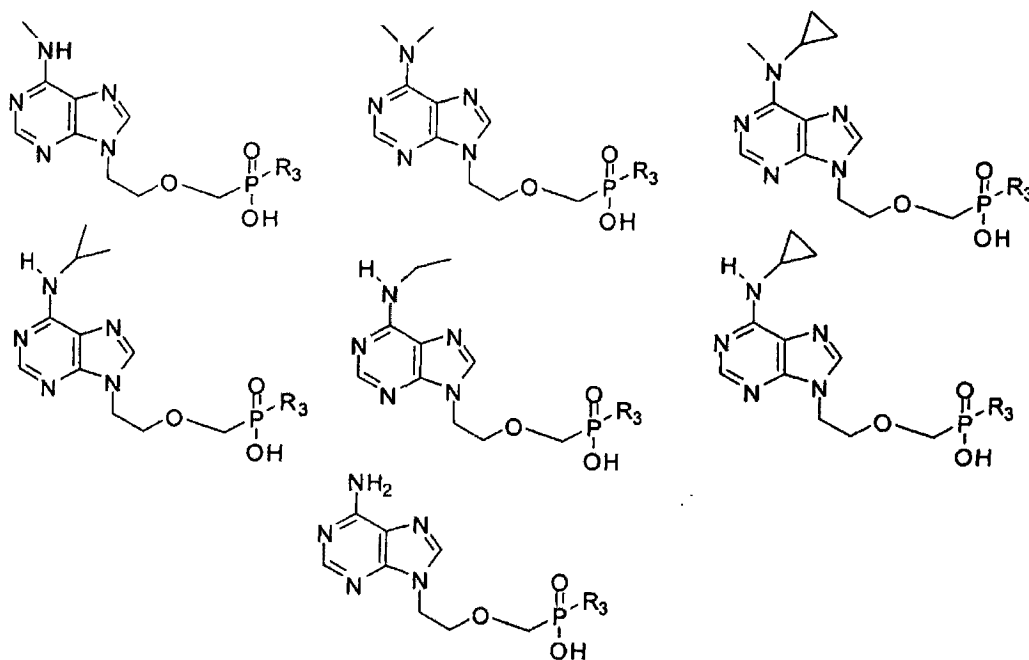
[0079]



[0080] 其中, R_3 为 $O(CH_2)_2O(CH_2)_{17}CH_3$ 或 $O(CH_2)_3O(CH_2)_{15}CH_3$ 。

[0081] 用于实施本发明的活性化合物(阿德福韦类似物)的其它实例包括但不限于:

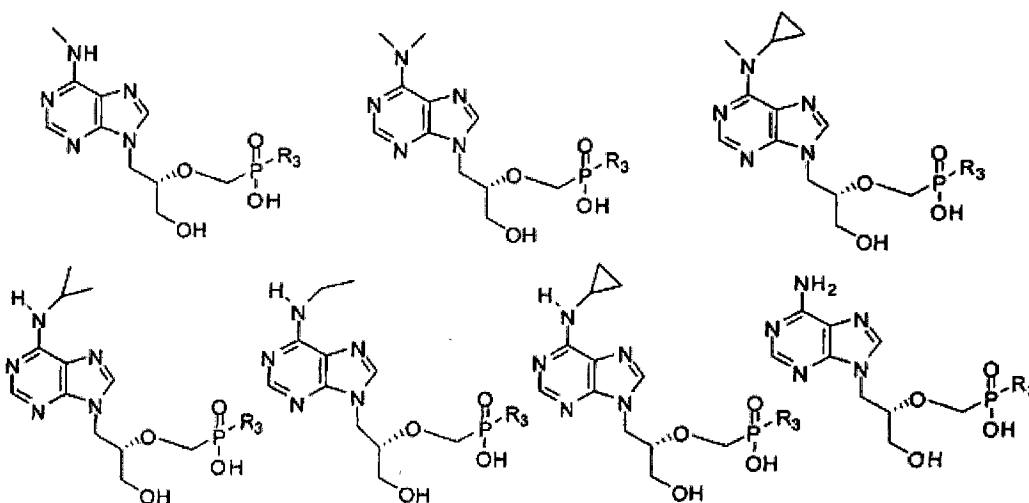
[0082]



[0083] 其中, R_3 为 $O(CH_2)_2O(CH_2)_{17}CH_3$ 或 $O(CH_2)_3O(CH_2)_{15}CH_3$ 。

[0084] 用于实施本发明的活性化合物(HPMPA 类似物)的其它实例包括但不限于:

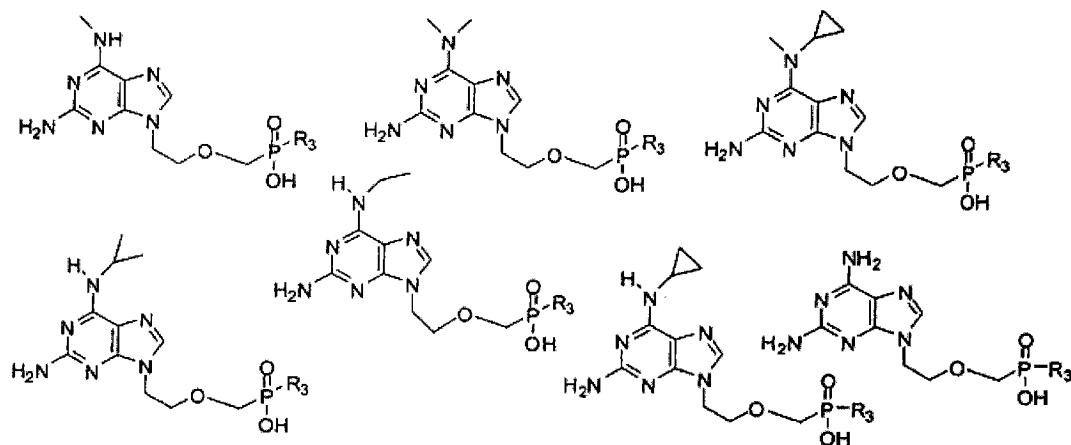
[0085]



[0086] 其中, R_3 为 $O(CH_2)_2O(CH_2)_{17}CH_3$ 或 $O(CH_2)_3O(CH_2)_{15}CH_3$ 。

[0087] 用于实施本发明的活性化合物(PMEG 类似物)的其它实例包括但不限于:

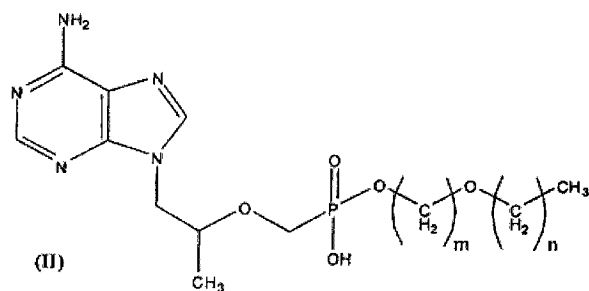
[0088]



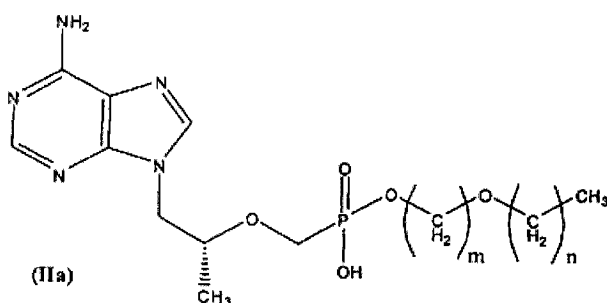
[0089] 其中, R_3 为 $O(CH_2)_2O(CH_2)_{17}CH_3$ 或 $O(CH_2)_3O(CH_2)_{15}CH_3$ 。

[0090] 因此, 用于实施本发明的活性化合物包括脂质替诺福韦结合物, 如式 II 的化合物 (或者更具体地, 在某些实施方案中是式 IIa 的化合物), 或者其药学可接受的盐或立体异构体、非对映异构体、对映异构体或外消旋物:

[0091]



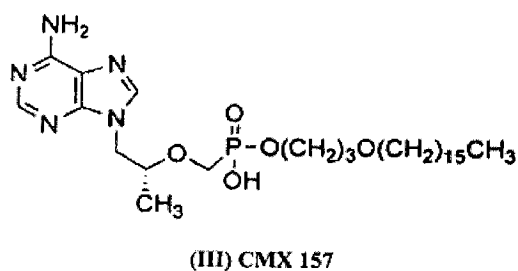
[0092]



[0093] 其中, m 为 2 至 5 (在某些实施方案中为 3), 并且 n 为 11 至 21 (在某些实施方案中为 15 或 17)。

[0094] 所述化合物的实例是式 III 的化合物 (在本文中又称为 CMX157) 或者其药学可接受的盐或立体异构体、非对映异构体、对映异构体或外消旋物:

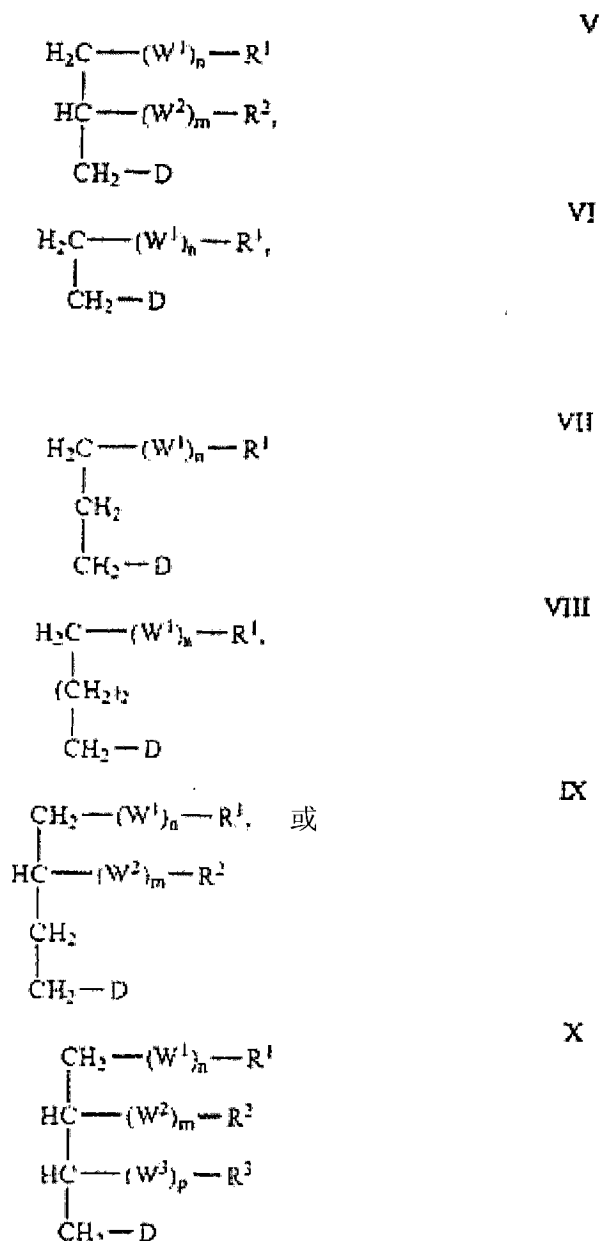
[0095]



[0096] 这样的化合物是已知的,并且记载于例如 G.Painter 等人的 Evaluation of Hexadecyloxypropyl-9-R-[2-(Phosphonomethoxy)Propyl]-Adenine, CMX157, as a Potential Treatment for Human Immunodeficiency Virus Type 1 and Hepatitis B Virus Infections, Antimicrobial Agents and Chemotherapy 51,3505-3509 (2007); Hostetler 的美国专利第 7,034,014 号和 Hostetler 的美国专利第 6,716,825 号中;和/或通过对包括但不限于记载于 PCT 专利申请 W02005/79812A1 (Anadys Pharmaceuticals) 和 W02008/10921A2 (Gilead) 中的已知技术进行修改来制备。

[0097] 除了上文关于式 I-III 所述的化合物,本文所提供的方法和组合物中还可使用无环核苷酸磷酸酯的多种脂质衍生物如替诺福韦作为活性剂。在一实施方案中,所述活性剂具有以下结构:

[0098]



[0099] 其中, W^1 、 W^2 和 W^3 各自独立地为 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{SO}-$ 、 $-\text{SO}_2-$ 、 $-\text{O}(\text{C}=\text{O})-$ 、 $-(\text{C}=\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{NH}(\text{C}=\text{O})-$ 、 $-(\text{C}=\text{O})\text{NH}-$ 或 $-\text{NH}-$; 并且在一实施方案中各自独立地为 O 、 S 或 $-\text{O}(\text{C}=\text{O})-$;

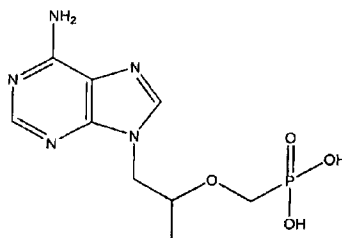
[0100] n 为 0 或 1 ; m 为 0 或 1 ; p 为 0 或 1 ;

[0101] R^1 为任选取代的烷基、烯基或炔基, 例如 C_{1-30} 烷基、 C_{2-30} 烯基或 C_{2-30} 炔基 ; 或者在一实施方案中, R^1 为任选取代的 C_{8-30} 烷基、 C_{8-30} 烯基或 C_{8-30} 炔基, 或者 R^1 为 C_{8-24} 烷基、 C_{8-24} 烯基或 C_{8-24} 炔基 (例如 C_{17} 、 C_{18} 、 C_{19} 、 C_{20} 、 C_{21} 、 C_{22} 、 C_{23} 或 C_{24} 烷基、烯基或炔基) ;

[0102] R^2 和 R^3 各自独立地为任选取代的 C_{1-25} 烷基、 C_{2-25} 烯基或 C_{2-25} 炔基 ;

[0103] D 可以是直接连接到如式 V-X 所示的亚甲基的替诺福韦, 例如 D 是下式的基团 :

[0104]



[0105] (例如, 替诺福韦通过磷酸酯的羟基直接连接到式 V-X 的亚甲基)。

[0106] 在式 V-X 的某些实施方案中 :

[0107] W^1 、 W^2 和 W^3 各自独立地为 -O-、-S- 或 -O(CO)- ;

[0108] n 为 0 或 1 ; m 为 0 或 1 ; p 为 0 或 1 ;

[0109] R^1 为任选取代的 C_{12-24} 烷基或烯基 (例如 C_{12} 、 C_{13} 、 C_{14} 、 C_{15} 、 C_{16} 、 C_{17} 、 C_{18} 、 C_{19} 、 C_{20} 、 C_{21} 、 C_{22} 、 C_{23} 或 C_{24} 烷基或烯基) ;

[0110] R^2 和 R^3 各自独立地为任选取代的 C_{1-24} 烷基或 C_{2-24} 烯基或 C_{2-24} 炔基。

[0111] D 为直接连接到式 V-X 中所示的亚甲基的替诺福韦。

[0112] 在另一实施方案中, 所述活性化合物具有下列结构之一 : 其中 R^1 为任选取代的 C_{8-24} 烷基, 例如 C_{12-24} 烷基, D 为直接连接到式 V-X 中所示的亚甲基的替诺福韦。

[0113] 如上所述, 可以以其药学可接受的盐的形式提供本文所公开的活性化合物。药学可接受的盐是保持母体化合物的期望生物活性的盐, 并且不产生不期望的毒理效应。这样的盐的实例为 : (a) 与无机酸形成的酸加成盐, 所述无机酸例如盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸、硝酸等 ; 和与有机酸形成的盐, 所述有机酸例如乙酸、草酸、酒石酸、琥珀酸、马来酸、富马酸、葡萄糖酸、柠檬酸、苹果酸、抗坏血酸、苯甲酸、鞣酸、棕榈酸、藻酸、聚谷氨酸、萘磺酸、甲磺酸、对甲苯磺酸、萘二磺酸、聚半乳糖醛酸等 ; (b) 由诸如氯、溴和碘的元素阴离子 (elemental anion) 形成的盐 ; (c) 衍生自碱的盐, 如铵盐, 诸如锂盐、钠盐和钾盐的碱金属盐, 诸如钙盐和镁盐的碱土金属盐, 以及与诸如二环己胺和 N-甲基-D-葡萄糖胺的有机碱形成的盐。

[0114] 可以根据已知步骤或其对于本领域技术人员显而易见的变形来制备本文所述的活性化合物。参见, 例如 Painter 等人的 Evaluation of Hexadecyloxypropyl-9-R-[2-(Phosphonomethoxy)Propyl]-Adenine, CMX157, as a Potential Treatment for Human Immunodeficiency Virus Type 1 and Hepatitis B Virus Infections, Antimicrobial Agents and Chemotherapy 51, 3505-3509 (2007) 和 Almond 等人的美国专利申请公开第 2007/0003516 号。

[0115] B. 其它抗病毒剂 / 化合物

[0116] 可用于实施本发明的其它抗病毒活性剂包括 HIV- 蛋白酶抑制剂、核苷逆转录酶

抑制剂（该术语在本文中包括核苷酸逆转录酶抑制剂）、非核苷逆转录酶抑制剂、整合酶抑制剂、进入抑制剂、融合抑制剂、成熟抑制剂及其组合。许多实例是已知的，并且记载于例如 Dahl 等人的美国专利申请公开第 2006/0234982 号的表 A 中，并且记载于如下文所列的表 A 中。

[0117] 其它实例包括但不限于整合酶抑制剂 Isentress 或雷特格韦 (MK-0518 :Merck)、CCR5 抑制剂马拉韦罗或 selzentry (以及 K-427857, Pfizer) 以及这些类型的其它抑制剂。

[0118] Buelow 等人的美国专利第 7,094,413 号 ;Nair 等人的美国专利第 7,250,421 号 ;Heneine 等人的美国专利申请公开第 2007/0265227 号以及 Cai 等人的美国专利申请公开第 2007/0072831 号提供了其它实例。

[0119] 例如，美国专利第 5,519,021 号中记载了非核苷逆转录酶抑制剂 (“NNRTI”)6-氯-4-环丙基乙炔基-4-三氟甲基-1,4-二氢-2H3,1-苯并噁嗪-2-酮及其药学可接受的盐。本发明的实例包括依法韦仑。

[0120] 例如，Liotta 等人的美国专利第 6,642,245 号中记载了核苷逆转录酶抑制剂 (“NRTI”)2-羟甲基-5-(5-氟胞嘧啶-1-基)-1,3-氧硫杂环戊烷 (“FTC”) 及其药学可接受的盐。本发明的实例包括恩曲他滨。

[0121] 整合酶抑制剂包括但不限于下列文献中所记载的抑制剂：美国专利申请公开第 2007/0072831 号、WO 02/30426、WO 02/30930、WO 02/30931、WO 02/055079、WO 02/36734、美国专利第 6,395,743 号；美国专利第 6,245,806 号；美国专利第 6,271,402 号；WO 00/039086；WO 00/075122；WO 99/62513；WO 99/62520；WO 01/00578；Jing 等人，Biochemistry, 41, 5397-5403, (2002)；Pais 等人，J. Med. Chem., 45, 3184-94 (2002)；Goldgur 等人，Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 96, 13040-13043 (1999)；Espeseth 等人，Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 97, 11244-11249, (2000)；WO 2005/016927、WO 2004/096807、WO 2004/035577、WO 2004/035576 和 US 2003/0055071。

[0122] 表 A

[0123]

5,6-二氢-5-氮杂胞苷
5-氮杂-2'-脱氧胞苷
5-氮杂胞苷
5-基-碳环 2'-脱氧鸟苷(BMS200, 475)
9-(阿拉伯呋喃糖基)鸟嘌呤；9-(2'-脱氧呋喃核糖基)鸟嘌呤
9-(2'-脱氧-2'-氟呋喃核糖基)-2,6-二氨基嘌呤
9-(2'-脱氧-2'-氟呋喃核糖基)鸟嘌呤
9-(2'-脱氧呋喃核糖基)-2,6-二氨基嘌呤
9-(阿拉伯呋喃糖基)-2,6-二氨基嘌呤
阿巴卡韦, Ziagen[®]
阿昔洛韦, ACV；9-(2-羟基乙氧基甲基)鸟嘌呤
阿德福韦酯, Hepsera[®]
氨多索韦, DAPD
氨普那韦, Agenerase[®]
araA；9-β-D-阿糖呋喃腺嘌呤(阿糖腺苷)
硫酸阿扎那韦(Reyataz[®])
AZT；3'-叠氨基-2',3'-双脱氧胸苷, 齐多夫定, (Retrovir[®])
BHCG；(+.-)-(1a,2b,3a)-9-[2,3-双(羟甲基)环丁基]鸟嘌呤
BMS200,475；5-基-碳环 2'-脱氧鸟苷
布昔洛韦；(R) 9-(3,4-二羟丁基)鸟嘌呤
BvaraU；1-β-D-阿拉伯呋喃糖基-E-5-(2-溴乙烯基)尿嘧啶(索立夫定)
Ccalanolide A
卡普韦林
CDG；碳环 2'-脱氧鸟苷
西多福韦, HPMPC；(S)-9-(3-羟基-2-磷酸基甲氧基丙基)胞嘧啶
克来夫定, L-FMAU；2'-氟-5-甲基-β-L-阿糖呋喃尿嘧啶
[0124]
Combivir[®] (拉米夫定/齐多夫定)
Cytallene；[1-(4'-羟基-1',2'-丁二烯基)胞嘧啶]
d4C；3'-脱氧-2',3'-双脱氢胞苷
[0125] 表 A- 续

[0126]

DAPD; (-)- β -D-2,6-二氨基嘌呤二氧戊环

ddA; 2',3'-双脱氧腺苷

ddAPR; 2,6-二氨基嘌呤-2',3'-双脱氧核苷

ddC; 2',3'-双脱氧胞苷(扎西他滨)

ddI; 2',3'-双脱氧肌苷, 去羟肌苷, (Videx[®], Videx[®] EC)地拉韦啉, Rescriptor[®]去羟肌苷, ddI Videx[®]; 2',3'-双脱氧肌苷

DXG; 二氧戊环鸟苷

E-5-(2-溴乙烯基)-2'-脱氧尿苷

依法韦仑, Sustiva[®]恩夫韦肽, Fuzeon[®]

F-ara-A; 氟阿糖腺苷(氟达拉滨)

FDOC; (-)- β -D-5-氟-1-[2-(羟甲基)-1,3-二氧戊环]胞嘧啶FEAU; 2'-脱氧-2'-氟-1- β -D-阿拉伯呋喃糖基-5-乙基尿嘧啶FIAC; 1-(2-脱氧-2-氟- β -D-阿拉伯呋喃糖基)-5-碘胞嘧啶FIAU; 1-(2-脱氧-2-氟- β -D-阿拉伯呋喃糖基)-5-碘尿苷

FLG; 2',3'-二脱氧-3'-氟鸟苷

FLT; 3'-脱氧-3'-氟胸苷

氟达拉滨; F-ara-A; 氟阿糖腺苷

FMAU; 2'-氟-5-甲基- β -L-阿糖呋喃尿嘧啶

FMdC

膦甲酸(foscarnet); 膦甲酸(phosphonoformic acid), PFA

FPMPA; 9-(3-氟-2-膦酰基甲氧基丙基)腺嘌呤

丙氧鸟苷, GCV; 9-(1,3-二羟基-2-丙氧基甲基)鸟嘌呤

GS-7340; 9-[R-2-[[S)-[[S)-1-(异丙氧羰基)乙基]氨基]苯氧基氧膦基甲氧基]丙基]腺嘌呤

[0127]

HPMPA; (S)-9-(3-羟基-2-膦酰基甲氧基丙基)腺嘌呤

HPMPC; (S)-9-(3-羟基-2-膦酰基甲氧基丙基)胞嘧啶(西多福韦)

羟基脲, Droxia[®]

[0128] 表 A- 续

[0129]

茆地那韦, Crixivan[®]Kaletra[®] (洛匹那韦/利托那韦)拉米夫定, 3TC, Epivir[™]; (2R,5S,顺式)-4-氨基-1-(2-羟甲基-1,3-氧硫杂环己烷-5-基)-(1H)-嘧啶-2-酮

L-d4C; L-3'-脱氧-2',3'-双脱氢胞苷

L-ddC; L-2',3'-双脱氧胞苷

L-Fd4C; L-3'-脱氧-2',3'-双脱氢-5-氟胞苷

L-FddC; L-2',3'-双脱氧-5-氟胞苷

洛匹那韦

奈非那韦, Viracept[®]奈韦拉平, Viramune[®]

奥塔诺新 A (oxetanocin A); 9-(2-脱氧-2-羟甲基-β-D-赤-oxetanosyl)腺嘌呤

奥塔诺新 G (oxetanocin G); 9-(2-脱氧-2-羟甲基-β-D-赤-oxetanosyl)鸟嘌呤

喷昔洛韦

PMEDAP; 9-(2-膦酰基甲氧基乙基)-2,6-二氨基嘌呤

PMPA, 替诺福韦; (R)-9-(2-膦酰基甲氧基丙基)腺嘌呤

PPA; 膦酰乙酸

利巴韦林; 1-β-D-呋喃核糖基-1,2,4-三唑-3-甲酰胺

利托那韦, Norvir[®]沙奎那韦, Invirase[®], Fortovase[®]

索立夫定, BvaraU; 1-β-D-阿拉伯呋喃糖基-E-5-(2-溴乙烯基)尿嘧啶

司他夫定, d4T, Zerit[®]; 2',3'-双脱氢-3'-脱氧胸苷

三氟胸苷, TFT; 三氟胸苷

Trizivir[®] (硫酸阿巴卡韦/拉米夫定/齐多夫定)

阿糖腺苷, araA; 9-β-D-阿糖呋喃腺嘌呤

Viread[®], 富马酸替诺福韦酯(DF), Bis POC PMPA, TDF; 2,4,6,8-四氧杂

[0130]

-5-phosphanonanedioic acid, 5-[[[(1R)-2-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-1-甲基乙氧基]

甲基]-, 双(1-甲基乙基)酯, 5-氧化物, (2E)-2-丁烯二酸酯(1:1)

扎西他滨, Hivid[®], ddC; 2',3'-双脱氧胞苷

[0131] 表 A- 续

[0132]

齐多夫定, AZT, Retrovir[®]; 3'-叠氮基-2',3'-双脱氧胸苷
Zonavir; 5-丙炔基-1-阿糖尿嘧啶

[0133] C. 药物制剂和给药

[0134] 各种组合物的药学可接受的载体及制备方法的实例包括但不限于 Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed., Mack Publishing Co. (1990) 中所记载的那些 (还参见美国专利申请公开 US 2007/0072831)。

[0135] 可以用根据普遍实践所选择的常规载体、稀释剂和赋形剂来配制本发明的化合物。片剂会含有赋形剂、助流剂、填充剂、粘合剂、稀释剂等。以无菌形式制备水性制剂, 并且当意图通过除了口服给药以外的途径进行递送时, 水性制剂通常会等渗的。制剂任选地含有诸如在 "Handbook of Pharmaceutical Excipients" (1986) 中所列的赋形剂, 并且包含抗坏血酸和其它抗氧化剂, 诸如 EDTA 的螯合剂、诸如糊精的碳水化合物、羟烷基纤维素、羟烷基甲基纤维素、硬脂酸等。

[0136] 可以通过任何适于待治疗的病状的途径来给药本发明的化合物及其生理学可接受的盐 (下文中统称为活性成分), 适合的途径包括口服、直肠、鼻、局部 (包括眼、含服和舌下)、阴道和胃肠外 (包括皮下、肌肉、静脉内、皮内、鞘内和硬膜外)。优选的给药途径可以随例如接受者的病状而变化。

[0137] 尽管可以将活性成分单独给药, 但是优选地将它们以药物制剂的形式提供。供兽用和人用的本发明的制剂均包含如上文所定义的至少一种活性成分, 和其一种或多种药学可接受的载体 (赋形剂、稀释剂等), 以及任选存在的其它治疗成分。从与制剂的其它成分相容并且对其接受者无害的意义来说, 所述载体必须是 "可接受的"。

[0138] 所述制剂包括适于口服、直肠、鼻、局部 (包括含服和舌下)、阴道或胃肠外 (包括皮下、肌肉、静脉内、皮内、鞘内和硬膜外) 给药的那些制剂。所述制剂可以常规地以单位剂型提供, 并且可以通过制药领域公知的任何方法进行制备。这样的方法包括使活性成分与构成一种或多种助剂的载体相结合的步骤。通常, 通过以下步骤制备所述制剂: 使活性成分与液体载体或磨碎的固体载体或这两者均匀并紧密地结合, 然后视需要将产品成形。

[0139] 适于口服给药的本发明的制剂可以以如下形式提供: 作为离散单位 (discrete unit), 如各自含有预定量的活性成分的胶囊剂、扁囊剂或片剂; 作为散剂或颗粒剂; 作为水性液体或非水性液体中的溶液或悬浮液; 或者作为水包油液体乳剂或油包水液体乳剂。还可以作为大丸剂、煎膏剂或糊剂而提供所述活性成分。

[0140] 可以通过任选地与一种或多种助剂进行压制或模制来制备片剂。压制片剂可以通过如下方法进行制备: 在适合的机器中压制任选地与粘合剂、润滑剂、惰性稀释剂、防腐剂、表面活性剂或分散剂混合的自由流动形式的 (如粉末或颗粒) 活性成分。模制片剂可以通过如下方法进行制备: 在适合的机器中模制用惰性液体稀释剂润湿的粉状化合物的混合物。任选地, 可以将片剂包衣或划痕, 并且可以将其配制以提供其中的活性成分的缓释或控释。

[0141] 对于眼部或其它外部组织如口和皮肤的感染, 在某些实施方案中, 以局部软膏或

乳膏的形式施用所述制剂,该局部软膏或乳膏所含活性成分的量为例如 0.075–20 % w/w (包括增量为 0.1 % w/w 的在 0.1 % 至 20 % 范围内的活性成分,如 0.6 % w/w、0.7 % w/w 等),在某些实施方案中为 0.2–15 % w/w,并且在其它实施方案中为 0.5–10 % w/w。当配制在软膏中时,可以与石蜡或水溶性软膏基质使用所述活性成分。或者,可以将所述活性成分配制在具有水包油乳膏基质的乳膏中。

[0142] 若需要,所述乳膏基质的水相可以包含例如至少 30 % w/w 的多元醇,即具有两个或更多个羟基的醇,如丙二醇、1,3-丁二醇、甘露醇、山梨醇、甘油和聚乙二醇(包括 PEG400)及其混合物。局部制剂可以期望地包含促进活性成分通过皮肤或其它受感染区域的吸收或渗透的化合物。这样的皮肤渗透促进剂的实例包括二甲亚砷及相关的类似物。

[0143] 本发明乳剂的油相可以由已知的成分以已知的方式组成。尽管该相可以只包含乳化剂(emulsifier,又称为乳化剂(emulgent)),但是其期望地包含至少一种乳化剂与脂肪或油,或者与脂肪和油二者的混合物。在某些实施方案中,包含亲水乳化剂以及充当稳定剂的亲脂乳化剂。在某些实施方案中,其包含油和脂肪二者。总之,包含或不包含稳定剂的乳化剂组成所谓的乳化蜡,并且所述蜡与油和脂肪组成形成乳膏制剂的油分散相的所谓的乳化软膏基质。

[0144] 适用于本发明的制剂的乳化剂和乳液稳定剂包括 Tween. TM. 60、Span. TM. 80、十八醇十六醇混合物、苺醇、肉豆蔻醇、单硬脂酸甘油酯和月桂基硫酸钠。

[0145] 因为活性化合物在大部分可能用于药物乳剂制剂的油中的溶解性非常低,所以用于制剂的适合的油或脂肪的选择基于实现期望的装饰性(cosmetic properties)。在某些实施方案中,乳膏应当优选地为不油腻、未着色且可洗的产品,并且具有合适的稠度以避免从试管或其它容器中渗漏。可以使用直链或支链的一元或二元烷基酯,如二异己二酸酯、硬脂酸异鲸蜡醇酯、椰油脂肪酸丙二醇二酯、肉豆蔻酸异丙酯、油酸癸酯、棕榈酸异丙酯、硬脂酸丁酯、棕榈酸 2-乙基己酯,或者称为 Crodamol CAP 的支链酯共混物,其中后三种是优选的酯。取决于所需的性质,这些酯可以单独使用或组合使用。或者,可以使用诸如白软石蜡和/或液体石蜡的高熔点脂质或其它矿物油。

[0146] 适于向眼部局部给药的制剂还包括滴眼剂,其中活性成分溶于或悬浮于适合的载体,特别是用于活性成分的水性溶剂中。在某些实施方案中,活性成分在这样的制剂中的浓度为 0.5–20%。在某些实施方案中,活性成分存在的浓度为 0.5–10%。在某些实施方案中,活性成分存在的浓度为约 1.5 % w/w。

[0147] 适于在口中局部给药的制剂包括在调味基质中包含活性成分的锭剂(lozenge),所述调味基质通常是蔗糖和阿拉伯胶或黄蓍胶;在惰性基质中包含活性成分的软锭剂(pastille),所述惰性基质如明胶和甘油,或者蔗糖和阿拉伯胶;以及在合适的液体载体中包含活性成分的漱口剂。

[0148] 可以作为具有适合基质的栓剂提供用于直肠给药的制剂,所述基质包括例如可可脂或水杨酸酯。

[0149] 载体为固体的适于鼻腔粘膜给药的制剂包括粒度在例如 20–500 微米范围内(包括增量为 5 微米的在 20–500 微米范围内的粒度,如 30 微米、35 微米等)的粗粉,其以吸收嗅剂(snuff)的方式进行给药,即通过从靠近鼻子的粉末容器中经鼻道快速吸入。例如作为鼻腔喷雾剂或作为滴鼻剂给药的载体为液体的合适制剂包括活性成分的水溶液或油溶

液。适于气雾剂给药的制剂可以根据常规方法进行制备,并且可以与其它治疗剂,如治疗肺孢子虫性肺炎的喷他脒一同递送。

[0150] 适于阴道给药的制剂可以作为除了活性成分之外,还含有例如本领域已知的合适载体的子宫托、环、棉塞、乳膏、凝胶、糊剂、泡沫或喷雾制剂而提供。

[0151] 适于胃肠外给药的制剂包括水性和非水性无菌注射溶液,其可以含有抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂和使得制剂与预期接受者的血液等渗的溶质;以及水性和非水性无菌悬浮液,其可以含有助悬剂和增稠剂。所述制剂可以在单位剂量容器或多剂量容器,例如密封的安瓿和小瓶中提供,并且可以储存于冷冻干燥(冻干)的条件下,仅需在使用前立即添加无菌液体载体,例如注射用水。即时注射溶液和悬浮液可以从前述无菌散剂、颗粒剂和片剂进行制备。优选的单位剂量制剂是含有如上所述的日剂量或单位每日亚剂量的,或其适合的部分的活性成分的那些单位剂量制剂。

[0152] 应当理解,除了上文具体提及的成分以外,本发明的制剂还可以包含与所述制剂的类型有关的本领域的其它常规试剂,例如,适于口服给药的制剂可以包含调味剂。

[0153] 本发明还提供了兽用组合物,其包含至少一种如上文所定义的活性成分以及兽用载体。兽用载体是用于给药组合物的目的的物质,并且可以是在兽医领域惰性或可接受的,并且与活性成分相容的固体、液体或气体物质。这些兽用组合物可以通过口服、胃肠外或通过其它期望途径给药。

[0154] 本发明的化合物可以用于提供含有作为活性成分的一种或多种本发明的化合物的控释药物制剂(“控释制剂”),其中可以控制和调节活性成分的释放以允许较低频率的给药或改善本发明化合物的药代动力学或毒性特征。可以根据常规方法制备适于口服给药的控释制剂,其中的离散单位包含一种或多种本发明的化合物。控释制剂可以用于治疗或预防多种微生物感染,特别是由包括疟原虫、肺囊虫、疱疹病毒(CMV、HSV 1、HSV 2、VZV等)、逆转录病毒、腺病毒等在内的微生物种类引起的人细菌、人寄生原虫或人病毒感染。控释制剂可以用于治疗 HIV 感染和相关病状,如结核病、疟疾、肺孢子虫性肺炎、CMV 视网膜炎、AIDS、AIDS 相关综合症(ARC)和进行性全身淋巴结病(PGL),和诸如多发性硬化的 AIDS 相关神经病状以及热带痉挛性轻截瘫。其它可以用本发明的控释制剂治疗的人逆转录病毒感染包括人 T 细胞亲淋巴细胞病毒感染和 HIV-2 感染。因此,本发明提供用于治疗或预防上述人或兽医病状以及微生物感染的药物制剂。

[0155] 药代动力学促进剂

[0156] 本发明的化合物可以与药代动力学促进剂(有时又称为“增强剂”)联合使用。本发明的一方面提供有效量的促进剂促进或“增强”本发明的化合物的药代动力学的用途。促进剂的有效量(例如促进本发明的活性化合物或其它活性化合物所需的量)是当与化合物单独使用时的特征相比,改善其药代动力学特征或活性所需的量。与未添加所述促进剂的情况相比,所述化合物具有更有效的药代动力学特征。优选地,用于促进所述化合物的药效的药代动力学促进剂的量为亚治疗的(例如低于通常用于治疗性治疗患者感染的增强剂的量的剂量)。本发明化合物的促进剂量对于治疗感染是亚治疗的,但是仍然高到足以实现本发明化合物代谢的调节,从而通过增加的生物利用度、增加的血中浓度、增加的半衰期、增加的到达峰值血浆浓度的时间、增加的 / 更快的 HIV 整合酶、RT 或蛋白酶的抑制,和 / 或减少的系统性清除(systematic clearance)来增强它们在患者中的暴露。药代动力学促

进剂的一个实例是 RITONAVIR™ (Abbott Laboratories)。

[0157] 组合

[0158] 如上所述,本发明的组合物可以包含以与本领域已知方式类似的方式,与一种或多种(如 1、2、3 种)诸如在上文的 B 章节中所述的其它活性剂组合的在上文的 A 章节中所述的活性化合物。例如, Dahl 等人的美国专利申请公开第 2007/0099902 号中记载了依法韦仑(NRTI)、恩曲他滨(NNRTI)和替诺福韦 DF(NRTI)的组合。这样的组合的具体实例包括但不限于:CMX157(或药学可接受的盐)与以下成分的组合:

[0159] (a) FTC/ 依法韦仑;

[0160] (b) 3TC/ 依法韦仑;

[0161] (c) AZT/3TC;

[0162] (d) FTC;

[0163] (e) 3TC;

[0164] (f) FTC/Isentress;

[0165] (g) 3TC/Isentress;

[0166] (h) PPL-100;

[0167] (i) FTC/TMC278;

[0168] (k) 3TC/TMC278;

[0169] (l) FTC/TMC125;或

[0170] (m) 3TC/TMC125。

[0171] D. 特殊隔室感染的治疗

[0172] 如上所述,还发现本发明的活性剂令人惊讶地与病毒颗粒缔合或结合。由于病毒颗粒转移到或渗透入活性治疗剂通常不可进入(因而当将这样的药剂向个体全身性给药时,产生基本未治疗的感染的“存储库”)的细胞隔室或组织隔室中,所以这种发现使得(a)治疗这样的特殊隔室中的感染,和(b)将活性剂用于预防性治疗或杀微生物性治疗(其中在感染发生前,活性剂与病毒的缔合或结合具有治疗益处)成为可能。

[0173] 通常,特殊隔室为这样的细胞隔室或组织隔室:所述病毒在体内渗透入其中,所述活性剂在没有所述病毒的情况下不在体内有效地渗透入其中,并且当所述活性剂与所述病毒结合时,所述活性剂在体内被所述病毒携带入其中。例如,当特殊隔室是组织隔室时,其可以是脑(中枢神经系统)、淋巴或睾丸。细胞特殊隔室的实例包括但不限于树突细胞、小胶质细胞、单核细胞/巨噬细胞及其组合。可以如上所述地制备和实施治疗特殊隔室感染的组合物和方法。在下文中进一步详细讨论预防性组合物、装置和方法。

[0174] E. 局部组合物和杀微生物方法

[0175] 本发明可以采用局部组合物的形式,其含有本文所述的活性剂以用于抑制或防止病毒感染,例如用于预防用途。这样的组合物(含有除了本文所述的活性剂以外的活性剂)是已知的,并且记载于例如美国专利第 6,545,007 号中,其公开内容整体援引加入本文。

[0176] 这样的组合物可以采用几种形式。因此,在一实施方案中,所述组合物为乳膏、洗液、凝胶或泡沫的形式,其施用到受感染的皮肤或上皮空腔(epithelial cavity),并且优选地涂抹在有与体液接触的风险的整个皮肤或上皮表面。这样的制剂适于阴道或直肠给药,可以作为水性或油性悬浮液、溶液或乳液(液体制剂)而提供,其除了活性成分以外,还

含有本领域已知适合的这样的载体。由于本领域技术人员已知的多种（科学的和经济的）原因，对于“单独的（stand-alone）”润滑剂（即未与安全套预包装的润滑剂），通常优选凝胶和类似的水性制剂。这些制剂不仅用于防止 HIV 的性传播，还用于预防婴儿在通过产道时的感染。因此，可以在性交前、性交期间和分娩前即刻实施阴道给药。

[0177] 为了本文公开的目的，向生殖器施用抗病毒润滑剂的一种方法包括以下步骤：从塑料或金属管、罐或类似容器中，或者从含有单剂量的这类组合物的密封塑料、金属或其它包装中取出少量（如一茶匙或几毫升）的凝胶、乳膏、软膏、乳液或类似制剂，并将组合物在性交前即刻涂抹在阴茎的整个表面。放置（emplacement）的替代方法包括：（1）在性交前片刻将所述组合物涂抹在阴道或直肠内的可及表面；以及（2）在阴茎上或阴道内放置已涂覆有抗病毒润滑剂或通过其它方法与抗病毒润滑剂接触的安全套、隔膜或类似装置。在优选的实施方案中，任何这些将抗病毒润滑剂涂抹在生殖器的整个表面的方法使得所述润滑剂在整个性交期间包覆了生殖器和上皮表面并保持与其的接触。

[0178] 在一实施方案中，所述组合物与安全套结合使用以提高安全套的风险降低功效并向使用者提供最大保护。所述组合物既可以在生产期间被涂覆到安全套上，并装入常规防水塑料或铝箔包装（每个包装含有一个安全套）中，也可以由使用者在使用前即刻手动地施用到安全套的里面或外面。

[0179] 本文所用的“安全套”是指屏障装置，其用于在性交期间在雄性和雌性生殖器之间提供防水物理屏障，并且在性交后移除。该术语包括覆盖阴茎的普通安全套；还包括在性交前插入阴道腔的所谓的“雌性安全套”。术语“安全套”不包括仅覆盖阴道腔中上皮膜的一部分的隔膜、宫颈帽或其它屏障装置。优选地，安全套应当由胶乳或合成塑料材料，如聚氨酯制成，因为这些材料提供高度的抗病毒保护。

[0180] 在另一实施方案中，所述组合物为阴道内丸剂、直肠内丸剂或栓剂的形式。应当以如下方式将栓剂或丸剂插入阴道或直肠空腔：在所述栓剂或丸剂溶解或消蚀时，使得其以抗 HIV 剂的预防层包覆阴道壁或直肠壁。

[0181] 在另一实施方案中，通过从阴道内装置中释放来局部施用所述组合物。可以容易地使诸如阴道环、阴道海绵、隔膜、宫颈帽、雌性安全套等的装置适于在插入后向阴道腔中释放所述组合物。

[0182] 用于本发明的方法中的组合物还可以包含其它活性剂，如防止 HIV 感染的其它药剂以及保护个体以免受孕和遭受其它性传播疾病的试剂。因此，在另一实施方案中，用于本发明的组合物还包含一种或多种其它抗 HIV 剂、对除了 HIV 以外的病毒感染有效的杀病毒剂和 / 或杀精子剂。

[0183] 在一具体实施方案中，所述组合物含有广泛使用的杀精表面活性剂壬苯醇醚。所得的组合物可以被视为“双功能”组合物，因为其具有在相对惰性的载体液体中提供两种不同期望功能的两种活性剂；壬苯醇醚会提供杀精避孕剂，而 DABO 会提供抗病毒性质。壬苯醇醚在至少某些使用者中可能引起某种程度的刺激；这是攻击并破坏围绕精子细胞和其它哺乳动物细胞的脂质双层膜的杀精表面活性剂，如壬苯醇醚和辛苯昔醇的令人遗憾但公知的副作用。

[0184] 用于本发明的组合物还可以含有润滑剂，其有利于将组合物施用到皮肤和上皮组织的期望区域，并减少性交期间的摩擦。在丸剂或栓剂的情况下，可以将润滑剂施用到剂型

的外部以利于插入。

[0185] 在另一实施方案中,本发明提供用于抑制 HIV 的性传播的装置,其包括:(a) 用于向阴道腔插入的屏障结构,和 (b) 包含如本文所述的活性剂的组合物。如上所述,充当屏障结构并能够适于施用抗 HIV 剂的优选装置包括阴道海绵、隔膜、宫颈帽或安全套(雄性或雌性)。

[0186] 通常,可以使本发明的方法、组合物和装置适于以最符合性活动的时间安排的时间敏感方式来释放活性剂。当作为洗液或凝胶而局部施用组合物时,优选地在性活动前即刻施用。诸如装置和栓剂的其它施用模式可以设计为在延长的时间内,以预定的速率,取决于消费者的需要来释放活性剂。

[0187] 参照以下实施例会更详细地描述本发明。然而,这些实施例仅用于示例目的而提供,而不应解释为对本发明范围的限制。

[0188] 实施例 1

[0189] 图 1 表示用于比较目的的经历了抗逆转录病毒治疗的患者在 24 周时对替诺福韦的病毒学应答。数据来自 M. Miller 等人的 J Infect Dis. 189 :837(2004)。用 TDF 的单一疗法在未进行过治疗的病人中的病毒载量应答为 $-1.5\log$ (Louie 等人, Determining the antiviral activity of tenofovir disoproxil fumarate in treatment-naive chronically HIV-1-infected individuals, AIDS, 17, 1151(2003))。

[0190] 图 2-3 表示在 PHENOSENSE™ HIV 测定中,与 HDP-TFV(CMX157) 相比的替诺福韦(TFV)的体外药效(由 Monogram Biosciences, Inc., 345 Oyster Point Blvd., South San Francisco, CA 94080-1913 USA 提供服务)。在图 3 中,将 CMX157 的 IC_{50} 乘以 100 以放大。结果还显示在下表 1 中(其中, ABC 为阿巴卡韦, FTC 为恩曲他滨, ddI 为去羟肌苷, 3TC 为拉米夫定, d4T 为司他夫定, TFV 为替诺福韦, 并且 ZDV 为齐多夫定)。

[0191]

表1: 测定结果 (以 μ M 表示的 IC50)

患者 ID	符号	结果	ABC	CMX157	ddl	FTC	3TC	d4T	TFV	ZDV
第1组	WT	IC50								
		倍数变化	0.86	0.93	1.01	0.78	0.86	0.86	0.79	0.72
第2组	WT	IC50	1.520000	0.001720	5.540000	0.890000	3.240000	0.510000	0.613000	0.020000
		倍数变化	0.94	0.87	1.01	1.38	1.18	0.81	0.85	0.61
第3组	6 TAMs, no 184	IC50	1.670000	0.001610	5.570000	1.570000	4.440000	0.480000	0.652000	0.017000
		倍数变化	4.43	4.58	1.59	5.02	3.70	3.66	3.47	350.00
第6组	6 TAMs + 184	IC50	7.870000	0.008500	8.760000	5.730000	13.930000	2.170000	2.674000	9.562000
		倍数变化	7.91	2.81	2.06	>87.6048	>79.7162	2.28	2.16	59.00
第7组	184V	IC50	14.040000	0.005210	11.350000	>100	>300	1.350000	1.666000	1.610000
		倍数变化	2.69	0.73	1.38	>87.6048	>79.7162	0.77	0.69	0.63
第9组	69ins, no 184	IC50	4.780000	0.001360	7.570000	>100	>300	0.460000	0.534000	0.017000
		倍数变化	18.00	31.00	4.04	26.00	12.00	11.00	22.00	>915.7073
		IC50	32.650000	0.057430	22.210000	29.600000	45.880000	6.390000	16.959000	>25

[0192]

表1: 测定结果 (以 μ M表示的IC50)

患者 ID	符号	结果	ABC	CMX157	ddl	FTC	3TC	d4T	TFV	ZDV
第12组	69ins + 184	IC50 倍数变化	26.00	6.06	4.43	>87.6048	>79.7162	11.00	4.72	319.00
		IC50	46.540000	0.011230	24.330000	>100	>300	6.790000	3.641000	8.711000
第14组	65R, no 184	IC50 倍数变化	3.20	1.94	1.67	17.00	19.00	1.30	1.71	0.44
		IC50	5.690000	0.003600	9.170000	19.330000	70.840000	0.770000	1.319000	0.012000
第15组	65R + 184V	IC50 倍数变化	6.64	1.46	2.61	>87.6048	>79.7162	0.99	1.22	0.41
		IC50	11.780000	0.002710	14.330000	>100	>300	0.590000	0.940000	0.011000
第17组	L74V 184	IC50 倍数变化	1.89	0.66	1.63	1.87	1.85	1.01	0.62	0.41
		IC50	3.360000	0.001230	8.940000	2.140000	6.980000	0.600000	0.476000	0.011000
第19组	L74V + M184V	IC50 倍数变化	5.21	0.36	2.01	>87.6048	>79.7162	0.71	0.29	0.22
		IC50	9.240000	0.000660	11.060000	>100	>300	0.420000	0.227000	0.006000
第26组	151M, no 184	IC50 倍数变化	19.00	1.99	12.00	30.00	24.00	9.33	2.26	93.00
		IC50	34.310000	0.003680	63.250000	34.730000	89.620000	5.540000	1.739000	2.545000
第28组	151M + 184	IC50 倍数变化	>29.2959	1.64	11.00	>87.6048	>79.7162	7.10	1.43	153.00
		IC50	>52	0.003050	58.040000	>100	>300	4.220000	1.102000	4.179000
第29组	L74V - 184	IC50	1.85	0.80	1.48	1.47	1.62	1.07	0.69	0.50

[0193]

表1: 测定结果 (以 μ M表示的IC50)

患者 ID	符号	结果	ABC	CMX157	ddl	FTC	3TC	d4T	TFV	ZDV
	SDM	倍数变化								
		IC50	3.290000	0.001480	8.140000	1.680000	6.100000	0.630000	0.535000	0.014000
第30组	M184V -	IC50								
	SDM	倍数变化	2.64	0.62	1.23	>87.6048	>79.7162	0.68	0.54	0.34
		IC50	4.680000	0.001150	6.760000	>100	>300	0.400000	0.413000	0.009000
第31组	K65R -	IC50								
	SDM	倍数变化	2.57	2.55	2.00	11.00	12.00	1.40	2.01	0.51
		IC50	4.560000	0.004730	11.020000	12.900000	43.330000	0.830000	1.551000	0.014000
第33组	T215Y	IC50								
		倍数变化	2.06	2.70	1.14	2.31	1.63	1.40	2.39	38.00
		IC50	3.670000	0.005000	6.290000	2.640000	6.120000	0.830000	1.843000	1.049000
第34组	T215Y +	IC50								
	M184V	倍数变化	4.29	0.90	1.43	>87.6048	>79.7162	1.10	0.81	2.61
		IC50	7.610000	0.001670	7.880000	>100	>300	0.650000	0.624000	0.071000
第35组	M41L +	IC50								
	T215Y	倍数变化	1.89	2.11	1.14	2.74	2.01	1.41	1.84	20.00
		IC50	3.360000	0.003910	6.290000	3.130000	7.550000	0.840000	1.421000	0.557000
第37组	M41L +	IC50								
	T215Y +	IC50								
	M184V	倍数变化	5.41	1.55	1.84	>87.6048	>79.7162	1.46	1.34	6.48
		IC50	9.600000	0.002880	10.120000	>100	>300	0.860000	1.034000	0.177000
第38组	M41L +	IC50	2.80	3.21	1.36	3.70	2.74	2.06	2.80	100.00

[0194]

表1: 测定结果 (以 μ M表示的IC50)

患者ID	符号	结果	ABC	CMX157	ddl	FTC	3TC	d4T	TFV	ZDV
第39组	L210W + T215Y	IC50 倍数变化	4.970000	0.005960	7.500000	4.220000	10.320000	1.220000	2.155000	2.722000
	M41L +									
	L210W +	IC50								
	T215Y	倍数变化	2.36	3.54	1.07	1.89	1.57	1.84	3.01	98.00
第40组		IC50	4.190000	0.006560	5.900000	2.160000	5.890000	1.090000	2.322000	2.677000
	M41L +									
	L210W +									
	T215Y + M184V	IC50 倍数变化	4.60	1.02	1.49	>87.6048	>79.7162	1.48	0.97	3.18
第41组		IC50	8.170000	0.001890	8.180000	>100	>300	0.880000	0.751000	0.087000
	M41L +									
	L210W +									
	T215Y + M184V	IC50 倍数变化	5.02	1.35	1.57	>87.6048	>79.7162	1.77	1.02	3.91
第42组		IC50	8.920000	0.002500	8.640000	>100	>300	1.050000	0.789000	0.107000
	D67N +	IC50								
	K70R	倍数变化	1.40	3.03	1.19	2.87	2.14	1.31	2.56	28.00
		IC50	2.480000	0.005610	6.570000	3.280000	8.070000	0.780000	1.971000	0.770000
第44组	D67N +	IC50								
	K70R +	倍数变化	4.36	1.03	1.57	>87.6048	>79.7162	1.32	0.91	7.04

[0195]

表1: 测定结果 (以 μM 表示的 IC_{50})

患者 ID	符号	结果	ABC	CMX157	ddl	FTC	3TC	d4T	TFV	ZDV
第45组	T215F + K219E + M184V	IC ₅₀	7.730000	0.001920	8.650000	>100	>300	0.790000	0.703000	0.192000
	L210W + T215Y	IC ₅₀ 倍数变化	2.05	1.50	1.00	2.29	1.93	1.58	1.34	7.58
		IC ₅₀	3.640000	0.002790	5.510000	2.620000	7.260000	0.940000	1.033000	0.207000
第46组	D67N + K70E	IC ₅₀ 倍数变化	1.36	1.15	1.41	2.97	2.87	0.94	0.96	0.21
		IC ₅₀	2.420000	0.002120	7.730000	3.390000	10.800000	0.560000	0.738000	0.006000
		IC ₅₀								
第47组	D67N + K70E + M184V	IC ₅₀ 倍数变化	2.85	0.78	1.32	>87.6048	>79.7162	0.70	0.64	0.15
		IC ₅₀	5.050000	0.001450	7.250000	>100	>300	0.420000	0.495000	0.004000
		IC ₅₀								
第48组	K70E + M184V	IC ₅₀ 倍数变化	5.88	0.71	1.80	>87.6048	>79.7162	0.65	0.61	0.13
		IC ₅₀	10.440000	0.001320	9.910000	>100	>300	0.390000	0.472000	0.004000
		IC ₅₀								

[0196] 下表 2 和 3 所示的数据表明,CMX157 对所有主要 HIV 亚型 (A 至 G、O 和 HIV-2) 均具有活性,并且 IC_{50} 为 0.2-7.2 纳摩尔。

[0197] 表 2. Chimerix 化合物 CMX157 在 PBMC 中抗 HIV-1 亚型分离物的活性

HIV-1 分离物	亚型	RT 终点		
		IC ₅₀ (nM)	TC ₅₀ (nM)	TI (TC ₅₀ /IC ₅₀)
RW/92/009	A	1.75	>1,000	>571
UG/92/029	A	5.84	>1,000	>171
UG/92/037	A	2.30	>1,000	>435
ADA	B	1.08	>1,000	>925
BR/92/014	B	1.58	>1,000	>633
96USHIPS 7	B	4.80	>1,000	>208
JR-CSF	B	0.68	>1,000	>1,480
TH/92/026	B	0.44	>1,000	>2,278
BR/92/025	C	3.43	>1,000	>291
IN/93/101	C	0.53	>1,000	>1,892
MW/93/95 9	C	4.50	>1,000	>222
UG/92/001	D	5.16	>1,000	>194
UG/92/024	D	0.30	>1,000	>3,346
UG/92/046	D	0.96	>1,000	>1,039
TH/93/073	E	2.95	>1,000	>339
CMU08	E	2.81	>1,000	>356
CMU06	E	1.03	>1,000	>970
BR/93/019	F	6.40	>1,000	>156

[0198]

[0199]

HIV-1 分离物	亚型	RT 终点		
		IC ₅₀ (nM)	TC ₅₀ (nM)	TI (TC ₅₀ /IC ₅₀)
BR/93/020	F	0.73	>1,000	>1,362
BR/93/029	F	1.03	>1,000	>972
JV1083	G	2.32	>1,000	>431
RU132	G	1.63	>1,000	>615
G3	G	2.68	>1,000	>373
BCF01	O	7.18	>1,000	>139
BCF02	O	2.47	>1,000	>405
BCF03	O	5.29	>1,000	>189

[0200] 表 3. Chimerix 化合物 CMX157 在 PBMC 中抗 HIV-2 分离物的活性

[0201]

HIV-2 分离物	RT 终点		
	IC ₅₀ (nM)	TC ₅₀ (nM)	TI (TC ₅₀ /IC ₅₀)
CDC310319	1.77	>1,000	>564
CDC310342	4.31	>1,000	>232
CBL-20	4.48	>1,000	>223

[0202] 另外,这些数据表明 CMX157 对 NRTI 耐药性 HIV 的 IC₅₀为 1.2-57nM,比替诺福韦效力强 359 倍(中位值,范围为 295-472x)。

[0203] 最后,下表 4 中所示的数据表明 CMX157 在大鼠中 7 天未观察到副作用的水平高达 100mg/kg/ 天,为测试的最高剂量。

[0204] 表 4. 将 CMX157 向大鼠口服给药后第 1 天和第 7 天的毒物动力学参数

[0205]

天数	剂量 (mg/ kg)	CMX157 (前药)					替诺福韦(代谢物)				
		Cmax (ng/ml)	Tmax (h)	AUC ₀₋₂₄ (ng· h/ml)	AUC _{0-∞} (ng·h/ml)	T _{1/2elim} (h)	Cmax (ng/ml)	Tmax (h)	AUC ₀₋₂₄ (ng· h/ml)	AUC _{0-∞} (ng· h/ml)	T _{1/2elim} (h)
1	10	84.85	0.5	441.7	ND	ND	55.35	2.0	510.8	775.2	10.9
7	10	110.90	0.5	435.2	ND	ND	49.55	2.4	964.7	1,226.9	9.2
1	30	379.00	2.0	1,832.8	ND	ND	109.10	4.0	1,456.1	1,808.1	10.1
7	30	202.50	1.0	1,543.9	ND	ND	149.25	4.0	2,363.4	2,790.5	7.6
1	100	905.00	2.0	5,408	5,429.8	2.5	181.40	12.0	3,039.3	3,639.5	7.2
7	100	685.50	2.0	8,046.3	8,050.6	1.6	322.00	12.0	5,715.4	7,373.4	9.0

[0206] ^a在给药后第 0.5h、1h、2h、4h、12h 和 24h 获得血浆,并且如材料与方法中所述对前药和代谢产物进行测定。在每个时间点利用来自每组的 1 个雄性和 1 个雌性的平均数据来估计药代动力学参数。AUC₀₋₂₄:0-24h 的 AUC; t_{1/2elim}:消除半衰期;ND:未测定。

[0207] (参见 G.Painter 等人的 Evaluation of Hexadecyloxypropyl-9-R-[2-(Phosphonomethoxy)Propyl]-Adenine, CMX157, as a Potential Treatment for Human Immunodeficiency Virus Type 1 and Hepatitis B Virus Infections, Antimicrobial Agents and Chemotherapy 51,3505-3509(2007))。

[0208] 实施例 2

[0209] 为了检测 CMX157 与病毒直接缔合的可能性,将浓缩的 HIV-1_{IIIB} (约 9.7×10^{10} 个病毒颗粒) 用 500nM CMX157 或 TFV 处理 2 小时。孵育后,将病毒球团化以除去未结合的化合物,用 70% 的冰冷甲醇溶解,并离心。将上清液利用 LC/MS/MS (液相色谱 / 质谱) 平行三份进行分析。通过梯度反相离子对色谱分析 TFV、TFV 一磷酸酯和 TFV 二磷酸酯进行分离,并通过正离子电喷雾进行检测。与病毒团缔合的 CMX157 的水平 ($\approx 37,000$ 个分子 / 病毒粒) 远高于与病毒团缔合的 TFV 的水平 (≈ 100 个分子 / 病毒粒)。

[0210] 为了评价将纯化的病毒暴露于药物对 TCID₅₀ 的作用,将浓缩的 HIV-1_{IIIB} 病毒 (约 9.7×10^{10} 个病毒颗粒) 用 1000nM、500nM、250nM 或 125nM 的 CMX157 或 TFV 处理 2 小时。如表 5 所示,CMX157 在该剂量范围内始终将病毒复制降低 2-4 倍,而 TFV 甚至在最高剂量下也没有明显的作用。

[0211] 表 5:经处理的 HIV-1_{IIIB} 的 TCID₅₀ 测定 (2 小时)

[0212]

药物 (nM)	CMX157 从 VC*的倍数减少			TFV 从 VC 的倍数减少		
	XTT 终点	RT 终点	P24 终点	XTT 终点	RT 终点	P24 终点
1000	1132 (4.0)	36227 (2.2)	7604 (4.8)	4529 (0)	64570 (1.3)	36227 (0)
500	1132 (4.0)	36227 (2.2)	7604 (4.8)	4529 (0)	81289 (0)	37328 (0)
250	1132 (4.0)	25588 (3.2)	10765 (3.4)	4529 (0)	72449 (1.1)	36227 (0)
125	1132 (4.0)	51172 (1.6)	9058 (4.0)	4027 (1.1)	72449 (1.1)	43056 (0)
0	4529	81289	36227	4529	81289	36227

[0213] *VC = 载体对照

[0214] 为了测定化合物孵育对感染性丧失的时间依赖性,将浓缩的 HIV-1_{IIIB}用 500nM CMX157 处理 1、15、30、60 和 120 分钟。表 6 中总结了这些测定的 TCID₅₀结果。在离心前孵育 1 分钟后,CMX157 降低了感染性。

[0215] 表 6 :经处理的 HIV-1_{IIIB}的 TCID₅₀测定

[0216]

化合物 除去时间	未经处理的病毒			CMX157 500nM 从 VC*的倍数减少		
	XTT 终点	RT 终点	P24 终点	XTT 终点	RT 终点	P24 终点
1 分钟	4529	132749	36227	2014 (2.2)	25588 (5.2)	4529 (8.0)
15 分钟	4529	64570	36227	1132 (4.0)	18115 (3.6)	6398 (5.7)
30 分钟	4027	64570	36227	2014 (2.0)	22805 (2.8)	18115 (2.0)
60 分钟	4027	87303	36227	1600 (2.5)	25588 (3.4)	9058 (4.0)
120 分钟	4529	81289	36227	1132 (4.0)	25588 (3.2)	6398 (5.7)

[0217] *VC = 载体对照

[0218] 在测定经 CMX157 处理的 HIV-1_{IIIB} 有关感染性的剂量效应的第二个实验中, 将浓缩的病毒用 0.039-125nM 的 8 个浓度的测试物质孵育 15 分钟, 并通过 XTT、RT 和 p24 测量 TCID₅₀ 值。平行评价 HDP-ACV 以测定不具有 HIV 活性的类似结构的脂质 - 核苷酸在该测定中是否会具有任何作用。表 7 中总结了这些测定的 TCID₅₀ 结果。

[0219] 利用较低浓度的测试物质对与 HIV-1_{IIIB} 缔合的 CMX157 的评价获得表明 3.9nM 和更高的浓度导致减少的感染性的剂量反应。与 NRTI 在该体系中的预期 RT 终点相比, 用于测量 TCID₅₀ 的 XTT 和 p24 终点获得更高倍数的感染性降低。当在评价的浓度下用 HIV-1_{IIIB} 孵育时, HDP-ACV 对感染性病毒没有影响。

[0220] 表 7 : 经处理的 HIV-1_{IIIB} 的 TCID₅₀ 测定 (15 分钟)

[0221]

药物 (nM)	CMX157 从 VC* 的倍数减少			HDP-ACV 从 VC 的倍数减少		
	XTT 终点	RT 终点	P24 终点	XTT 终点	RT 终点	P24 终点
125	4027 (4.5)	64570 (2.5)	7604 (4.0)	18115 (0)	162566 (0)	21529 (1.4)
39.1	5082 (3.6)	64570 (2.5)	7604 (4.0)	16145 (1.1)	204659 (0)	30411 (0)
12.5	4529 (4.0)	102336 (1.6)	5383 (5.6)	18115 (0)	144887 (1.1)	36227 (0)
3.9	4529 (4.0)	102336 (1.6)	15207 (2.0)	20325 (0)	102336 (1.6)	30411 (0)
1.25	9058 (2.0)	102336 (1.6)	30411 (0)	16145 (1.1)	102336 (1.6)	21529 (1.4)
0.39	12795 (1.4)	102336 (1.6)	21529 (1.4)	20325 (0)	144887 (1.1)	30411 (0)
0.125	16145 (1.1)	144887 (1.1)	30411 (0)	16145 (1.1)	102336 (1.6)	36277 (0)
0.039	16145 (1.1)	157772 (1.0)	36337 (0)	18115 (0)	132749 (1.2)	30411 (0)
0	18115	162566	30411	18155	162566	30411

[0222] *VC = 载体对照

[0223] 总之, 这些结果表明 CMX157 与 HIV 直接缔合, 并且该缔合减少病毒复制。用低纳

摩尔浓度的 CMX157 将 HIV 孵育短时间 (1-15 分钟) 导致病毒在体外的产生减少。对 TFV 或脂质对照 HDP-ACV 未观察到对病毒复制的影响。CMX157 可能通过这种细胞靶向机制而优于 TFV, 因为任何暴露于 CMX157 的 HIV 会随后将其自身的抗病毒剂携带入其随后进入的任何隔室或细胞类型中。

[0224] 由本文的试验所提出的机制提出了 CMX157 脂质-TFV 药物与 HIV 的直接缔合, 以及随后的将 CMX157 通过病毒向受感染细胞的递送。本文所提供的数据证明, 与 TFV 相比, 与纯化的 HIV 直接缔合的 CMX157 的水平有明显差异 (约 300 倍)。而且, 用 CMX157 预孵育 HIV 抑制了 HIV 在未暴露于药物的细胞中的除了通过病毒自身以外的复制; 用 TFV 预孵育 HIV 对随后的 HIV 复制没有抑制作用, 这同低水平的与分离的病毒粒缔合的 TFV 是一致的。

[0225] 这种机制与 HIV 病毒粒中天然内源逆转录 (NERT) 的抑制是不同的。对体外高水平的 AZT-三磷酸酯 (100 μ M) 或奈韦拉平 (NVP) 以及体内 NVP, 已证明了 NERT 抑制 (Zhang 1996, Zhang 2006)。尽管当用 CMX157 处理细胞时可以有 NERT 抑制的要素, 但是这种机制很可能需要形成不应当在分离的病毒粒中出现的 TFV-PP。

[0226] 实施例 3

[0227] 在用 24 种不同的 FDA 批准的抗 HIV 抑制剂的双药物组合研究中评价 CMX157 的抗 HIV-1 活性。将每个双药物组合在分别用实验室适应毒株 HIV-1_{111B} 或 HIV-1_{Ba L} 严重感染的 CEM T- 淋巴细胞或 MAGI-CCR5 细胞中测试 3 次。通过测量 CEM 细胞中病毒诱导的致细胞病变效应 (CPE) 或通过在实验终点时 MAGI-CCR5 细胞中的 β -半乳糖苷酶报道基因诱导来评价病毒生长/抑制。还与抗病毒评价平行地评价每个双药物组合的细胞毒性。选择这些评价中所用的 CMX157 的浓度以测试大范围的浓度并在 8 个总浓度的限制下提供尽可能完整的剂量反应曲线。类似地, 选择以下药物的浓度以在 5 个总浓度的限制下提供尽可能完整的剂量反应曲线: 拉米夫定、阿巴卡韦、齐多夫定、司他夫定、扎西他滨、去羟肌苷、恩曲他滨、替诺福韦、地拉韦啉、依法韦仑、依曲韦林、奈韦拉平、氨普那韦、阿扎那韦、地瑞那韦、茚地那韦、洛匹那韦、奈非那韦、利托那韦、沙奎那韦、替拉那韦、马拉韦罗、恩夫韦肽和雷特格韦。与实施的每种测定平行地测试与 RBV 组合的 d4T (司他夫定) 的“阳性拮抗对照”。利用用于组合测定的统计学评价的 Prichard and Shipman MacSynergy II 三维模型实施每个双药物组合的药物相互作用分析。表 8 中总结了这些实验的结果, 并且表 9 中提供了该结果的说明。

[0228] 对于这些研究, 将协同定义为产生大于 50 的协同量 (synergy volume) 的药物组合。轻微协同活性和高度协同活性已分别在操作上定义为产生 50-100 以及 > 100 的协同量。加和药物相互作用的协同量在 -50 至 50 的范围内, 而 -50 至 -100 的协同量被认为是轻微拮抗, 并且 < -100 的协同量为高度拮抗。当评价两种药物在 50% 抑制浓度 (IC_{50}) 的相互作用时, 测定每个双药物组合的 3 个实验的平均剂量反应, 并且将这两种药物的 IC_{50} 范围评价为界定 IC_{50} 值的两个药物浓度 (数据未显示)。如果特定药物的浓度之一产生 50% $\pm$ 5% 的平均百分比抑制, 则该浓度加上任一边的两个浓度包括在 IC_{50} 范围内。然后, 将两种药物的 IC_{50} 范围内的相互作用在操作上定义为: 1) 协同量 > 20 的相互作用被认为是协同的; 2) 协同量在 -20 至 20 的范围内的相互作用被认为是加和的; 并且 3) 协同量 < 20 的相互作用被认为是拮抗的。

[0229] 总之, 确定 CMX-157 对用 FDA 批准的抗逆转录病毒药物实施的所有双药物组合均

具有加和或协同相互作用。没有发现任何相互作用是拮抗的。当评价来自每个组合的两种药物在 IC_{50} 范围的相互作用时,也获得对于所有组合的加和或协同相互作用的结论。相比之下,与利巴韦林组合的司他夫定的阳性拮抗对照获得了预期的拮抗相互作用。

[0230] 表 8 与批准的抗逆转录病毒药物组合的 CMX157 在 CEM 和 MAGI-CCR5 细胞中的抗病毒功效 (95% 的置信值)

[0231]

化合物	协同/拮抗量 (nM ² %, μM ² %或 nMμM%) ¹			平均协同/拮抗量 (nM ² %, μM ² %或 nMμM%; n = 3) ²
	结果 1	结果 2	结果 3	
核苷逆转录酶抑制剂(NRTI)				
拉米夫定(3TC)	87.5/-42.6	51.8/0	79.0/0	69.8/-11.3
阿巴卡韦(ABC)	25.1/-35.8	0/-2.32	19.7/-12.1	14.9/-16.7
齐多夫定(AZT)	5.01/-67.8	32.7/0	0/-0.77	11.5/-21.7
司他夫定(d4T)	4.47/0	40.6/0	0.39/-1.83	15.2/-0.61
扎西他滨(ddC)	154/0	80.0/0	131/-15.9	122/-5.29
去羟肌苷(ddI)	3.38/-1.01	3.04/0	29.6/0	12.0/-0.34
恩曲他滨(FTC)	61.5/0	72.0/0	84.1/0	72.5/0
替诺福韦(TFV)	17.6/-0.53	37.2/0	30.3/0	28.4/-0.18
非核苷逆转录酶抑制剂(NNRTI)				
地拉韦啉(DLV)	152/0	68.4/0	1.01/-2.58	72.9/0
依法韦仑(EFV)	85.7/0	80.6/0	43.2/0	69.8/0
依曲韦林(ETV)	34.9/-0.75	106/0	67.4/-0.87	69.0/-0.29
奈韦拉平(NVP)	74.1/0	41.5/0	0/0	38.5/0
蛋白酶抑制剂(PI)				
氨普那韦(APV)	104/0	43.1/0	7.31/0	51.4/0
阿扎那韦(ATV)	104/0	67.4/0	12.7/-0.72	61.5/-0.24
地瑞那韦(DRV)	109/0	11.5/-2.31	9.48/0	43.2/-0.54
茚地那韦(IDV)	78.7/-0.56	62.7/0	17.6/0	53.0/-0.19
洛匹那韦(LPV)	78.8/-0.31	28.3/0	59.8/-0.12	55.6/-0.14
奈非那韦(NFV)	32.1/0	85.1/0	125/0	80.9/0
利托那韦(RTV)	47.5/0	38.0/0	116/-2.61	66.4/0
沙奎那韦(SQV)	123/-2.54	8.35/-0.81	3.93/0	45.2/-1.12
替拉那韦(TPV)	110/0	29.4/-8.60	16.8/0	52.2/-2.87
进入抑制剂				
马拉韦罗(MVC) ³	145/-3.82	14.1/-3.12	96.6/0	85.3/-2.31
恩夫韦肽(T-20)	0/0	3.05/0	0/0	1.02/0
整合酶抑制剂				
雷特格韦(RAL)	18.4/0	1.92/0	82.6/0	34.3/0

[0232] ¹MacSynergy II 程序采用来自个体实验的原始数据,并计算每个药物 - 药物组合

的正（协同）值或负（拮抗）值。将正值相加获得协同量，并且将负值相加获得拮抗量（每个实验均报道这两个值）。

[0233] ²将来自多个实验 ($n = 3$) 的抗病毒协同图 (95%) 数据集组合并计算每个药物 - 药物浓度的算术平均值。将正值和负值各自相加以分别获得协同相互作用和拮抗相互作用量的平均量。

[0234] ³在 MAGI-CCR5 细胞中进行与马拉韦罗组合的 CMX157 的抗病毒功效结果。在 CEM-SS 细胞中进行所有其它评价。

[0235] 表 9 对与批准的抗逆转录病毒药物组合的 CMX157 的抗病毒功效的 MacSynergy 分析说明

[0236]

抗逆转录病毒药物	抗病毒结果说明
核苷逆转录酶抑制剂(NRTI)	
拉米夫定(3TC)	轻微协同
阿巴卡韦(ABC)	加和
齐多夫定(AZT)	加和
司他夫定(d4T)	加和
扎西他滨(ddC)	高度协同
去羟肌苷(ddI)	加和
恩曲他滨(FTC)	轻微协同
替诺福韦(TFV)	加和
非核苷逆转录酶抑制剂(NNRTI)	
地拉韦啉(DLV)	轻微协同
依法韦仑(EFV)	轻微协同
依曲韦林(ETV)	轻微协同
奈韦拉平(NVP)	加和
蛋白酶抑制剂(PI)	
氨普那韦(APV)	轻微协同
阿扎那韦(ATV)	轻微协同
地瑞那韦(DRV)	加和
茚地那韦(IDV)	轻微协同
洛匹那韦(LPV)	轻微协同
奈非那韦(NFV)	轻微协同
利托那韦(RTV)	轻微协同
沙奎那韦(SQV)	加和
替拉那韦(TPV)	轻微协同
进入抑制剂	
马拉韦罗(MVC)	轻微协同
恩夫韦肽(T-20)	加和
整合酶抑制剂	
雷特格韦(RAL)	加和
阳性拮抗对照(CEM-SS 细胞)	
司他夫定/利巴韦林(d4T/RBV)	在预期浓度下高度拮抗
阳性拮抗对照(MAGI-CCR5 细胞)	
司他夫定/利巴韦林(d4T/RBV)	在预期浓度下高度拮抗

[0237] 在对 CMX157 与 24 种 FDA 批准的抗逆转录病毒药物之间的抗病毒功效所检测的浓度范围内未观察到拮抗相互作用。在 CMX157 与扎西他滨之间观察到高度协同相互作用,并且在 CMX157 与以下药物之间观察到轻微协同相互作用:拉米夫定、恩曲他滨、地拉韦啉、依法韦仑、依曲韦林、氨普那韦、阿扎那韦、茚地那韦、洛匹那韦、奈非那韦、利托那韦、替拉那

韦和马拉韦罗,这表明与这些药物可能的有益相互作用。CMX157 与其余药物的相互作用产生严格的加和结果。相比之下,与利巴韦林组合的司他夫定的阳性拮抗对照在所有实验中表现出高度拮抗相互作用(CEM 细胞中的平均拮抗量 = $-330 \mu\text{M}^2\%$; 并且 MAGI-R5 细胞中的平均拮抗量 = $-111 \mu\text{M}^2\%$)。因此,这些数据整体说明表明,该研究中评价的 24 种 FDA 批准的抗逆转录病毒药物的抗病毒作用的拮抗作用应当不是与在临床情况中使用 CMX157 有关的问题。

[0238] 重要的是注意,在对 CMX157 所检测的药物浓度 ($10 \mu\text{M}$ = 最高测试浓度) 中没有协同细胞毒性的证据。这并非是预想不到的,因为在所评价的浓度范围内,这些药物均没有细胞毒性。需要所有药物的高得多的浓度 (TC_{50} 浓度附近) 以正确地检查潜在的协同细胞毒性相互作用。然而,重要的是要证明,在 FDA 批准的药物表现出有效的抗病毒性质的浓度下未观察到明显的协同细胞毒性。

[0239] 实施例 4

[0240] 替诺福韦 (TFV) 的标志性突变 (signature mutation) 为 K65R,其通常与替诺福韦的 2 至 4 倍的 IC_{50} 增加及对 Viread 无临床反应有关。设计为选择 CMX157 耐药性突变体的体外研究将野生型 HIV-1 用作最初接种物,并且将 TFV 用作阳性对照。利用渐增浓度的 TFV 或 CMX157,通过 HIV-1_{III_R} 和 HIV-1RF 在 CEM-SS 细胞中的连续传代来进行这些研究。利用本领域技术人员已知的步骤,在每个传代中检测病毒生长后提高药物水平。每个传代完成时,将病毒基因组的逆转录酶编码区测序以鉴定任何可能出现在病毒池内的可能的耐药性相关突变。

[0241] 如表 10 和 11 所示,在 9 代中都没有对 CMX157 的耐药性。相比之下,由 TFV 通过第 8 代选择了 K65R。这些数据表明,与 TFV 相比,HIV 可能更难以产生对 CMX157 的耐药性。

[0242] 表 10 :HIV-1_{III_R} 在 CMX157 中的传代

[0243]

传代	CMX157 传代浓度(高于 IC ₅₀ 的倍数)	峰值病毒产生的天数 ^a (RT 活性)	在传代的病毒的 RT 中观察到的突变 ^b	注释
1	300 nM (2 × IC ₅₀)	第 6 天 (23,615 cpm)	无	观察到强的病毒复制
2	600 nM (4 × IC ₅₀)	第 6 天 (6,706 cpm)	无	观察到减少的病毒复制
3	900 nM (6 × IC ₅₀)	第 14 天 (11,364 cpm)	无	观察到中等的病毒复制
4	1,200 nM (8 × IC ₅₀)	第 6 天 (34,440 cpm)	无	观察到强的病毒复制
5	1,800 nM (12 × IC ₅₀)	第 6 天 (14,061 cpm)	无	观察到中等的病毒复制
6	2,400 nM (16 × IC ₅₀)	第 7 天 (9,933 cpm)	T215I 混合物 (少数群体)	观察到低水平至中等的病毒复制; T215I 的少数混合物不大可能与对 CMX157 的耐药性有关(在第 7 代中未观察到)
7	2,800 nM (19 × IC ₅₀)	第 5 天 (1,900 cpm)	无	经 16 天在培养物中观察到低水平的病毒复制; 利用相同浓度继续培养第 8 代以允许病毒长出
8	2,800 nM (19 × IC ₅₀)	第 9 天 (18,638 cpm)	观察到少数、混合的群体: E122K、T200I、Q207E、 P272A、R277K、I293V、 P294Q、E297K 和 T400A	观察到较强的病毒复制; 观察到的氨基酸的少数混合物不大可能与对 CMX157 的耐药性有关, 基于在色谱中观察到的小峰高度来报道这些变化, 然而大部分这些小峰可能是测序的伪像
9	5,600 nM (36 × IC ₅₀)	第 11 天 (1,585 cpm)	观察到少数、混合的群体: E122K、D123E、T200I、 Q207E、R211K、P272A、 R277K、I293V、P294Q、 E297K、I375V、T400A、 N519S、A554T	经 13 天在培养物中观察到低水平的病毒复制; RT 活性在第 11 天达到峰值, 并在第 12 和 13 天下降。因此, 使用第 11 天的上清液, 尽管 1,585 cpm 的 RT 活性仍然较低。存在氨基酸的少数混合物; 不大可能与对 CMX157 的耐药性有关

[0244] ^a当观察到基于 RT 活性的最大病毒水平时的感染后的天数

[0245] ^b少数 = 突变为混合物中的少数群体; 多数 = 突变为多数群体; 相等 = 相等的峰高;

[0246] N/A = 不适用 (未观察到病毒复制或者对 RT 进行测序)

[0247] 表 11 :HIV-1_{IIIB}在替诺福韦中的传代

[0248]

传代	替诺福韦 传代浓度(高于 IC ₅₀ 的倍数)	峰值病毒产 生的天数 ^a (RT 活性)	在传代的病毒的 RT 中 观察到的突变 ^b	注释
1	10 μM (2 × IC ₅₀)	第 6 天 (3,525 cpm)	无	观察到低水平的病毒复制
2	20 μM (4 × IC ₅₀)	第 7 天 (2,016 cpm)	无	观察到低水平的病毒复制
3	30 μM (6 × IC ₅₀)	第 14 天 (2,062 cpm)	无	观察到低水平的病毒复制
4	40 μM (8 × IC ₅₀)	第 6 天 (3,109 cpm)	无	观察到低水平的病毒复制
5	40 μM (8 × IC ₅₀)	第 14 天 (1,788 cpm)	无	观察到低水平的病毒复制；利用相同的浓度继续培养第 6 代以允许病毒长出
6	40 μM (8 × IC ₅₀)	第 19 天 (23,508)	无	观察到强的病毒复制；与第 1-5 代相比，复制明显增加
7	45 μM (9 × IC ₅₀)	第 7 天 (24,408 cpm)	E300D 混合物 (少数群体)	观察到强的病毒复制；E300D 的少数混合物不大可能与对替诺福韦的耐药性有关(在第 8 代中未观察到)
8	50 μM (10 × IC ₅₀)	第 9 天 (57,455 cpm)	E404D 混合物(少数) G436E 混合物(少数)	观察到强的病毒复制；E404D 和 G436E 的变化可能与替诺福韦的耐药性选择有关
9	55 μM (11 × IC ₅₀)	第 11 天 (25,458 cpm)	K65R 少数(相等) E404D 混合物(多数) G436E 混合物(少数)	观察到强的病毒复制；原型替诺福韦耐药性突变 K65R 开始出现；E404D 和 G436E 突变似乎与替诺福韦耐药性有关
10	60 μM (12 × IC ₅₀)	第 7 天 (31,549 cpm)	K65R 混合物(多数) E404D 混合物(少数) G436E 混合物(少数)	观察到强的病毒复制；原型替诺福韦耐药性突变 K65R = 主要群体；E404D 和 G436E 突变似乎与替诺福韦耐药性有关

[0249] ^a当观察到基于 RT 活性的最大病毒水平时的感染后的天数

[0250] ^b少数 = 突变为混合物中的少数群体；多数 = 突变为多数群体；相等 = 相等的峰高；

[0251] N/A = 不适用（未观察到病毒复制或者未对 RT 进行测序）

[0252] 以上是对本发明的例示，而不应解释为对其的限制。尽管描述了本发明的一些示例性实施方案，但是本领域技术人员会容易地理解，在不实质上偏离本发明的新的教导和优势的情况下，可以对所述示例性实施方案做出许多修改。因此，所有这些修改旨在被包括在权利要求所定义的本发明的范围内。因此，应当理解以上是对本发明的例示，而不应解释为限于所公开的具体实施方案，并且对所公开的实施方案以及其它实施方案的修改旨在被包括在所附权利要求的范围内。本发明由所附权利要求进行限定，并且权利要求的等效物被包括于其中。

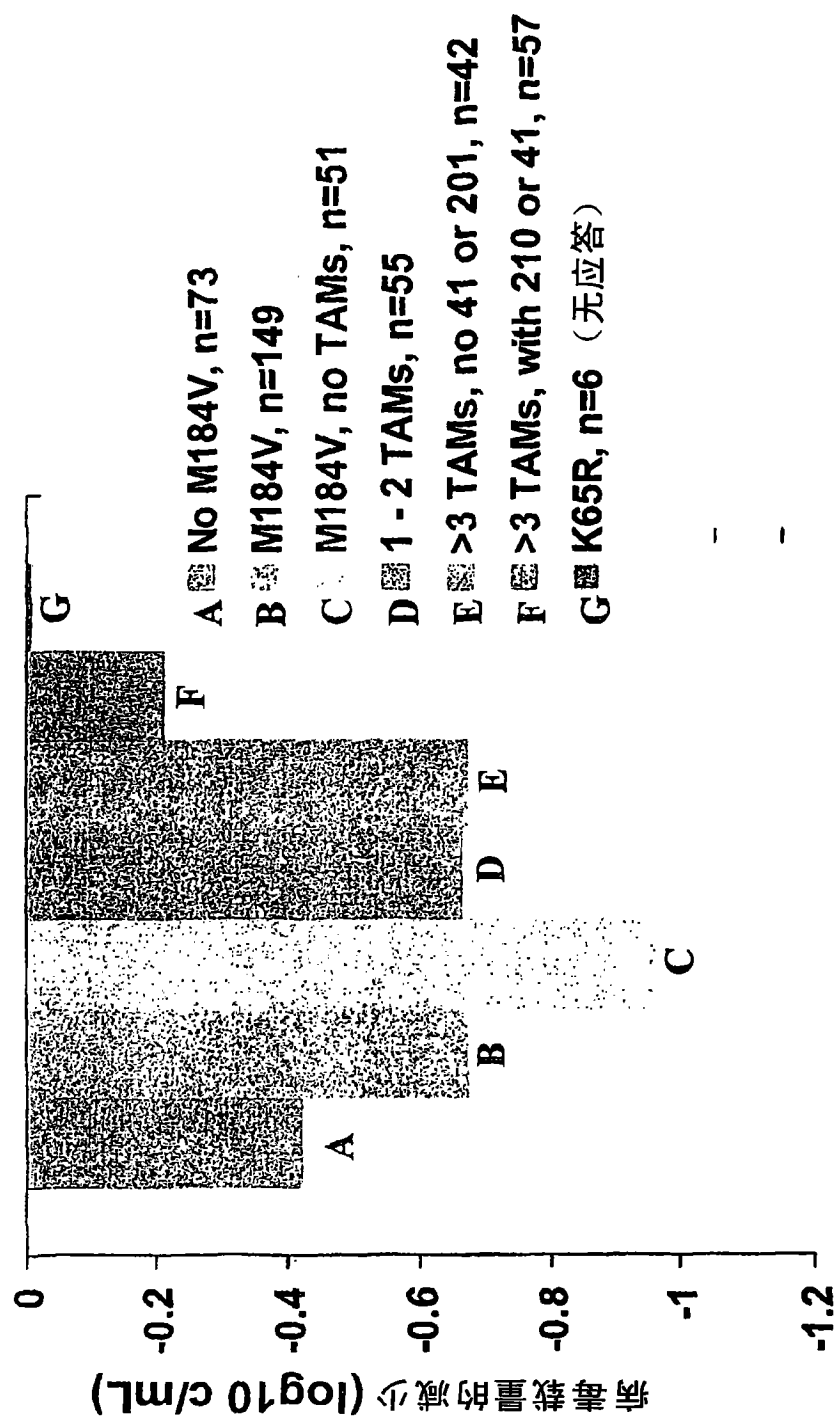


图 1

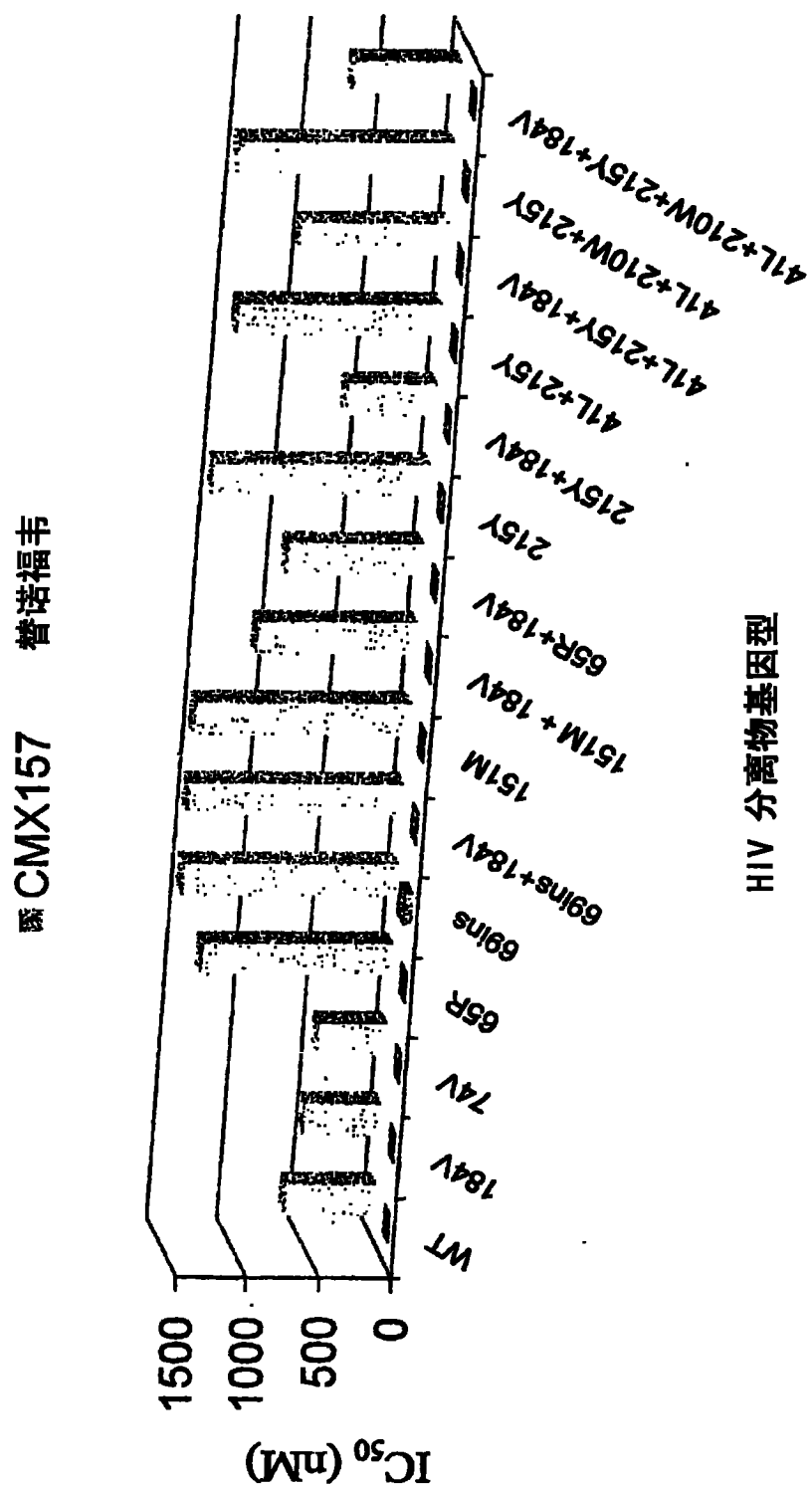


图 2

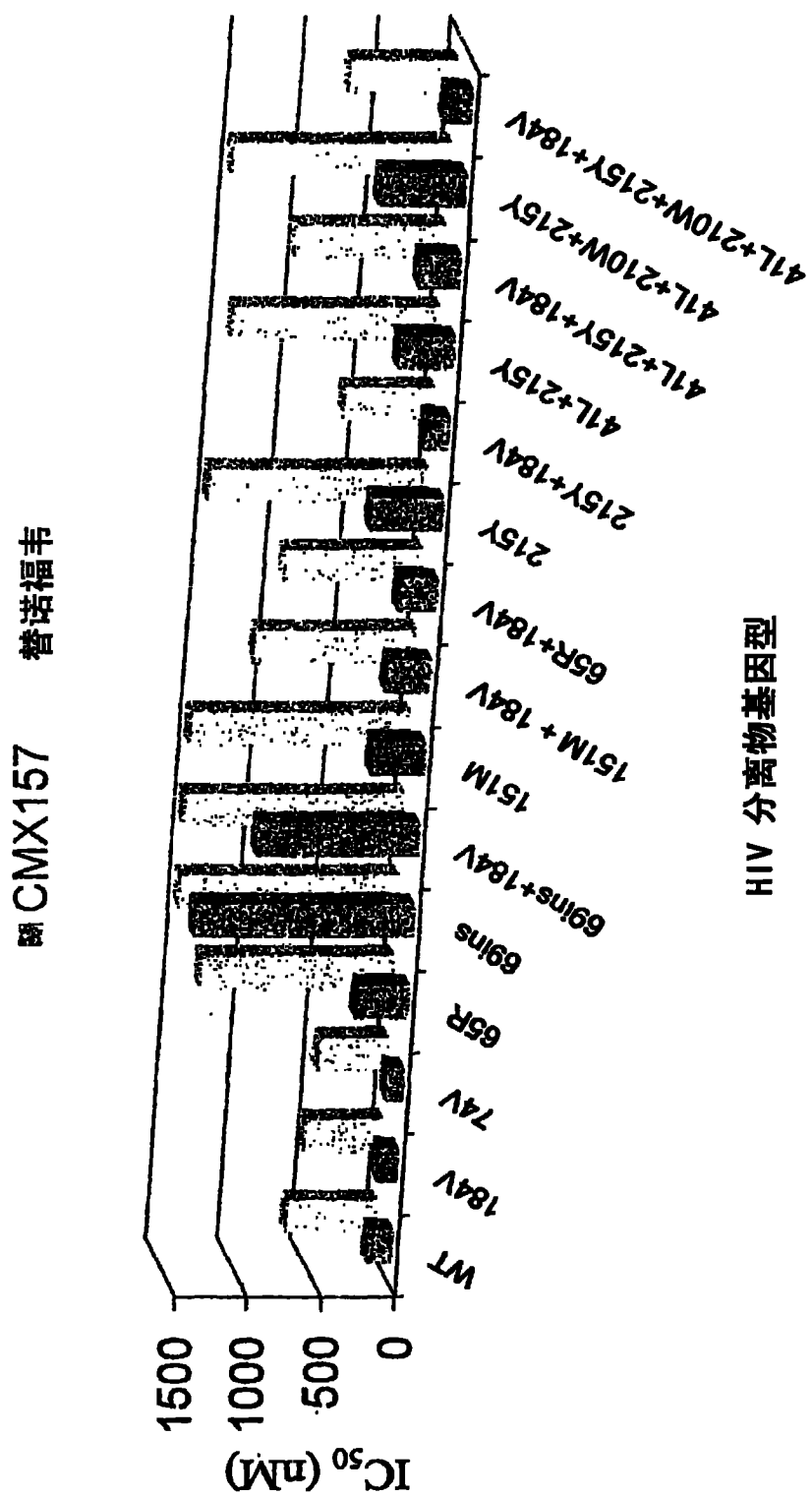


图 3