

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 396 595**

51 Int. Cl.:

A61K 31/4965 (2006.01)

A61K 31/215 (2006.01)

A61P 31/16 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

C07D 241/24 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.02.2008 E 08711267 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la & } &^•& europea: **28.11.2012 EP 2123276**

54 Título: **Composición farmacéutica que contiene un derivado de pirazina y método de utilización de un derivado de pirazina en combinación**

30 Prioridad:

16.02.2007 JP 2007035975

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

22.02.2013

73 Titular/es:

**TOYAMA CHEMICAL CO., LTD. (100.0%)
2-5 NISHISHINJUKU 3-CHOME
SHINJUKU-KU TOKYO160-0023, JP**

72 Inventor/es:

MAEKAWA, MASAKO

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 396 595 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composición farmacéutica que contiene un derivado de pirazina y método de utilización de un derivado de pirazina en combinación

5

Campo técnico

La presente invención se relaciona con una composición farmacéutica que contiene un derivado de pirazina o una sal del mismo y uno o más inhibidores de la neuraminidasa para uso en el tratamiento (v.g., terapia o prevención) de enfermedades víricas. Más aún, la presente invención se relaciona con un derivado de pirazina o una sal del mismo y un inhibidor(es) de la neuraminidasa en combinación para uso en el tratamiento (v.g., terapia o prevención) de la gripe.

10

Técnica anterior

15

La infección por el virus de la gripe (a la que a partir de aquí se hará referencia como gripe) causada por el virus de la gripe es con frecuencia una enfermedad fatal. En los últimos años, han aparecido virus tales como el de la gripe aviar, que exhiben una fuerte patogenicidad para los humanos. La gripe aviar amenaza con ser pandémica.

20

Sin embargo, los fármacos aplicables a la gripe son mucho más escasos que los agentes antimicrobianos o similares. Por ejemplo, la amantadina y el oseltamivir, habitualmente utilizados, presentan problemas tales como resistencia a los mismos.

25

Se ha discutido un método de utilización de agentes contra el virus de la gripe en combinación con el fin de reducir la resistencia al fármaco del virus de la gripe, de aumentar los efectos terapéuticos y/o de reducir los efectos colaterales, etc. Sin embargo, los fármacos utilizados en combinación son limitados en cuanto a número y no siempre producen efectos satisfactorios.

30

Por ejemplo, los inhibidores de la neuraminidasa son conocidos como fármacos que exhiben efectos sobre el virus de la gripe. La neuraminidasa, que es una glicoproteína de espícula que se encuentra en la superficie del virus de la gripe, es necesaria para que el virus de la gripe infecte las células de la garganta o del bronquio y prolifere para propagarse a sus células vecinas. La inhibición de la neuraminidasa puede suprimir la propagación de dicho virus de la gripe a las células vecinas. Por ejemplo, un inhibidor de la neuraminidasa, el oseltamivir, se convierte en su forma activa, GS-4071, *in vivo*, la cual exhibe efectos antivíricos, de tal forma que inhibe la neuraminidasa en el virus de la gripe (Documento no relacionado con patentes 1). El oseltamivir y el zanamivir pueden ser adquiridos comercialmente como inhibidores de la neuraminidasa. Dichos fármacos han sido aún desarrollados y estudiados.

35

40

Por otra parte, se conoce un derivado de pirazina que tiene actividades antivíricas (Documento de patente 1). Se sabe que este derivado de pirazina exhibe efectos antivíricos por ribosilfosforilación intracelular, de tal forma que inhibe la ARN polimerasa del virus (Documento de patente 2).

45

Además, se ha investigado el mecanismo de acción del derivado de pirazina antigripe T-705 (6-fluoro-3-hidroxi-2-pirazinocarboxamida) (Documento no relacionado con patentes 3) y se han estudiado sus actividades *in vitro* e *in vivo* (Documento no relacionado con patentes 2) y se han comparado con el inhibidor de la neuraminidasa comercializado oseltamivir (Documento no relacionado con patentes 4).

50

Se dijo con anterioridad que combinaciones de inhibidores de la neuraminidasa con otros fármacos, tales como el polioxometalato PM-523 (Documento no relacionado con patentes 5), la rimantadina (Documento no relacionado con patentes 6) o la rimantadina, la ribavirina y la 2'-desoxi-2'-fluoroguanosina (Documento no relacionado con patentes 7), mostraban efectos aditivos o sinérgicos frente al virus de la gripe.

55

Sin embargo, no se han conocido hasta la fecha ni una composición farmacéutica que contiene un inhibidor de la neuraminidasa y un derivado de pirazina ni un método de utilización de un inhibidor de la neuraminidasa y un derivado de pirazina en combinación.

[0007]

Documento de patente 1: Folleto de WO00/10569, de la que EP 1.112.743 es un miembro de la familia de patentes en lengua inglesa

Documento de patente 2: Folleto de WO03/015798

60

Documento no relacionado con patentes 1: Japanese Journal of Clinical Medicine, 2003, vol. 61, pp. 1975-1979

Documento no relacionado con patentes 2: Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2002, vol. 46, pp. 977-981

Documento no relacionado con patentes 3: Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2005, vol. 49, pp. 981-986

Documento no relacionado con patentes 4: Antiviral Chemistry & Chemotherapy, 2003, vol. 14, pp. 235-241

Documento no relacionado con patentes 5: Drugs in R & D, 1999, vol. 2, pp. 153-164

Documento no relacionado con patentes 6: Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2004, vol. 48, pp. 4855-4863

Documento no relacionado con patentes 7: Antiviral Chemistry & Chemotherapy, 1995, vol. 6, pp. 109-113

5 Descripción de la invención

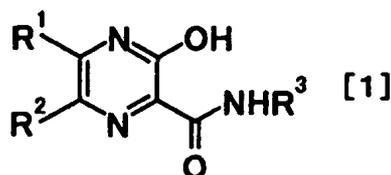
Problemas que la invención ha de resolver

10 Ha existido una demanda de una composición farmacéutica que tenga potentes actividades contra el virus de la gripe con pocos efectos colaterales y que sea útil para el tratamiento (v.g., terapia o prevención) de la gripe y de un método de tratamiento de la gripe.

Medios para resolver los problemas

15 En tales circunstancias, el presente inventor ha realizado estudios concienzudos y, en consecuencia, ha completado la presente invención al descubrir que una composición farmacéutica que contiene un derivado de pirazina representado por la siguiente fórmula general [1] o una sal del mismo y uno o más inhibidores de la neuraminidasa:

20 [Fórmula 1]



25 donde R¹ y R² son iguales o diferentes y representan cada uno un átomo de hidrógeno o un átomo de halógeno y R³ representa un átomo de hidrógeno, tiene potentes actividades contra el virus de la gripe y es útil para el tratamiento de la gripe, y que la utilización de estos compuestos en combinación es útil para el tratamiento de la gripe. También se describen aquí composiciones farmacéuticas como se ha definido anteriormente donde R³ del derivado de pirazina representado por la fórmula [1] es un grupo amino-protector.

Ventajas de la invención

30 Una composición farmacéutica que contiene un derivado de pirazina o una sal del mismo y uno o más inhibidores de la neuraminidasa tiene potentes actividades sinérgicas contra el virus de la gripe y es útil para el tratamiento (v.g., terapia o prevención) de la gripe. Un método de utilización de estos compuestos en combinación es útil como método de tratamiento (v.g., terapia o prevención) de la gripe.

Mejor modo para llevar a cabo la invención

A partir de aquí, se describirá la presente invención con detalle.

40 En la presente descripción, a menos que se especifique algo diferente, un átomo de halógeno significa átomos de flúor, cloro, bromo y yodo; un grupo acilo significa, por ejemplo, un grupo formilo, un grupo alcanilo C₂₋₁₂ lineal o ramificado (v.g., acetilo, propionilo, butirilo, isovalerilo y pivaloilo), un grupo ar(alquilo C₁₋₆)carbonilo (v.g., bencilcarbonilo), un grupo carbonilo hidrocarbonado cíclico (v.g., benzoilo y naftoilo), un grupo carbonilo heterocíclico (v.g., nicotinoilo, tenoilo, pirrolidinocarbonilo y furoilo), un grupo succinilo, un grupo glutarilo, un grupo maleoilo, un grupo ftaloilo y un grupo α-aminoalcanoilo lineal o ramificado (que puede estar protegido en el extremo N) derivado de aminoácidos (como ejemplos de los aminoácidos, se incluyen glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, serina, treonina, cisteína, metionina, ácido aspártico, ácido glutámico, asparragina, glutamina, arginina, lisina, histidina, hidroxilisina, fenilalanina, tirosina, triptófano, prolina e hidroxiprolina); un grupo alquiloalcoxycarbonilo significa, por ejemplo, un grupo (alquilo C₁₋₁₂)oxycarbonilo lineal o ramificado, tal como metoxycarbonilo, etoxycarbonilo, 1,1-dimetilpropoxycarbonilo, isopropoxycarbonilo, 2-etilhexiloxycarbonilo, terc-butoxycarbonilo y terc-pentiloxycarbonilo; un grupo aralquiloalcoxycarbonilo significa, por ejemplo, un grupo ar-(alquilo C₁₋₆)oxycarbonilo, tal como grupos benciloxycarbonilo y feniloxycarbonilo; un grupo ariloxycarbonilo significa, por ejemplo, un grupo feniloxycarbonilo; un grupo aralquilo significa, por ejemplo, un grupo ar(alquilo C₁₋₆), tal como bencilo, difenilmetilo, tritilo, fenitilo y naftilmetilo; un grupo alcoxialquilo significa, por ejemplo, un grupo (alquilo C₁₋₆)oxi(alquilo C₁₋₆), tal como metoximetilo y 1-etoxietilo; un grupo aralquiloalquilo significa, por ejemplo, un grupo ar(alquilo C₁₋₆)oxi(alquilo C₁₋₆), tal como benciloximetilo y feniloximetilo; un grupo ariltio significa, por ejemplo, un grupo feniltio; un grupo alquilsulfonilo significa, por ejemplo, un grupo alquilsulfonilo C₁₋₆, tal como metilsulfonilo, etilsulfonilo y propilsulfonilo; un grupo

5 arilsulfonilo significa, por ejemplo, grupos bencenosulfonilo, toluensulfonilo y naftalenosulfonilo; un grupo dialquilaminoalquilideno significa, por ejemplo, grupos N,N-dimetilaminometileno y N,N-dietilaminometileno; un grupo aralquilideno significa, por ejemplo, grupos bencilideno y naftilmetileno; un grupo alquilideno heterocíclico que contiene nitrógeno significa, por ejemplo, un grupo 3-hidroxi-4-piridilmetileno; un grupo cicloalquilideno significa, por ejemplo, grupos ciclopentilideno y ciclohexilideno; un grupo diarilfosforilo significa, por ejemplo, un grupo difenilfosforilo; un grupo diaralquilfosforilo significa, por ejemplo, un grupo dibencilfosforilo; un grupo alquilo heterocíclico que contiene oxígeno significa, por ejemplo, un grupo 5-metil-2-oxo-2H-1,3-dioxol-4-ilmetilo; y un grupo sililo sustituido significa, por ejemplo, grupos trimetilsililo, trietilsililo y tributilsililo.

10 Un grupo amino-protector incluye todos los grupos disponibles como grupos amino-protectores habituales. Como ejemplos del mismo, se incluyen los grupos descritos en W. Greene *et al.*, Protective Groups in Organic Synthesis, 3ª ed., pp. 494-653, 1999, John Wiley & Sons, INC. Como ejemplos específicos del mismo, se incluyen un grupo acilo, un grupo alquiloxicarbonilo, un grupo aralquiloxicarbonilo, un grupo ariloxicarbonilo, un grupo aralquilo, un grupo alcóxialquilo, un grupo aralquiloalquilo, un grupo ariltío, un grupo alquilsulfonilo, un grupo arilsulfonilo, un grupo dialquilaminoalquilideno, un grupo aralquilideno, un grupo alquilideno heterocíclico que contiene nitrógeno, un grupo cicloalquilideno, un grupo diarilfosforilo, un grupo diaralquilfosforilo, un grupo alquilo heterocíclico que contiene oxígeno y un grupo sililo sustituido.

20 Como ejemplos de sal del compuesto de fórmula general [1] utilizada en la presente invención, se pueden incluir sales habitualmente conocidas de grupos hidroxilo. Como ejemplos de las mismas, se pueden incluir: sales de metales alcalinos, tales como sodio y potasio; sales de metales alcalinotérreos, tales como calcio y magnesio; sales de amonio; y sales de bases orgánicas que contienen nitrógeno, tales como trimetilamina, trietilamina, tributilamina, N-metilpiperidina, N-metilmorfolina, dietilamina, dicitclohexilamina, procaína, dibencilamina, N-bencil-β-fenetilamina, 1-efenamina y N,N'-dibenciletildiamina.

25 Como ejemplos deseables de la sal, se incluyen sales farmacológicamente aceptables. Es preferible una sal de sodio.

30 Como ejemplos deseables del compuesto de fórmula general [1] utilizado en la presente invención, se incluyen los siguientes compuestos:

compuestos representados por la fórmula general [1] donde R¹ es un átomo de hidrógeno, R² es un átomo de flúor y R³ es un átomo de hidrógeno.

35 El compuesto de fórmula general [1] utilizado en la presente invención es producido combinando métodos conocidos *per se* en la técnica, y puede ser producido según, por ejemplo, un método de producción descrito en el Documento de patente 1.

40 Como ejemplos de inhibidor de la neuraminidasa utilizado en la presente invención, se incluyen compuestos que por sí mismos, o sus metabolitos *in vivo*, tienen efectos inhibitorios sobre la neuraminidasa, tales como oseltamivir, zanamivir, peramivir, CS-8958 y FRUNET. El oseltamivir y el zanamivir son preferibles. El oseltamivir es aún más deseable.

45 La vía de administración de una composición farmacéutica de la presente invención no está particularmente limitada, y se puede administrar por vía intravenosa, oral, intramuscular o hipodérmica, por inhalación, por pulverización o por otras vías de administración. Más aún, el derivado de pirazina representado por la fórmula general [1] o su sal pueden ser administrados con el inhibidor de la neuraminidasa simultáneamente o en un orden particular.

50 La composición farmacéutica de la presente invención es útil para el tratamiento (*v.g.*, terapia o prevención) de la gripe.

55 La composición farmacéutica de la presente invención permite el tratamiento (*v.g.*, terapia o prevención) de una gripe más severa. Más aún, los fármacos individuales empleados exhiben potentes efectos contra el virus de la gripe incluso cuando se administran en cantidades reducidas. Por lo tanto, se pueden reducir sus respectivos efectos colaterales.

60 Cuando se usa la composición farmacéutica de la presente invención, habitualmente se puede mezclar apropiadamente con ayudas farmacéuticas utilizadas en formulación, tales como un excipiente, un soporte y un diluyente. Estas formulaciones pueden ser administradas oral o parenteralmente en una forma tal como una tableta, una cápsula, un polvo, un jarabe, un gránulo, una píldora, una suspensión, una emulsión, una solución, una preparación en polvo, un supositorio, colirio, gotas nasales, gotas óticas, un parche, un ungüento o una inyección, según un método convencional. Más aún, se pueden seleccionar apropiadamente el método de administración, la dosis y la frecuencia de administración según la edad, el peso corporal y el síntoma del paciente. Se puede

administrar habitualmente oral o parenteralmente (v.g., inyección, goteos intravenosos y administración rectal) a un adulto en de una a varias dosis divididas de 0,01 a 1.000 mg/kg al día.

Ejemplos

5 A continuación, se describirá la presente invención haciendo referencia a Ejemplos de ensayo. Sin embargo, no se pretende limitar la presente invención a éstos.

10 Se seleccionó la 6-fluoro-3-hidroxi-2-pirazinocarboxamida (a la que a partir de aquí se hará referencia como T-705) como compuesto de ensayo. Se seleccionaron el GS-4071, que es una forma activa *in vivo* del oseltamivir, y el zanamivir como inhibidores de la neuraminidasa. En este contexto, se obtuvo el GS-4071 utilizado en las presentes pruebas por extracción a partir de Tamiflu (fármaco comercializado), seguida de hidrólisis según un método convencional.

15 Ejemplo de ensayo 1

Se seleccionó T-705 como compuesto de ensayo. Se seleccionó GS-4071 como inhibidor de la neuraminidasa.

20 (1) Cultivo de células MDCK

Se disociaron células de riñón de perro Madin-Darby (a las que a partir de aquí se hará referencia como MDCK) subcultivadas a 37°C bajo condiciones de un 5% de dióxido de carbono en medio MEM de Eagle suplementado con un 10% de suero bovino fetal en la solución de cultivo por un método de ácido etilendiaminotetraacético-tripsina y se suspendieron en el mismo medio que antes. Se inoculó a su vez la suspensión celular preparada de manera que contuviera 2×10^4 células en 100 µl en una placa de 96 pocillos. Se cultivaron las células durante la noche a 37°C en condiciones de un 5% de dióxido de carbono para obtener una monocapa de células MDCK.

(2) Infección con el virus de la gripe y adición de fármacos

30 El medio de ensayo utilizado era un medio preparado añadiendo tripsina tratada con L-1-tosilamido-2-feniletilclorometilcetona (TPCK) a una concentración de 3 µg/ml a medio MEM de Eagle que contenía un 1% de seroalbúmina bovina suplementado con 60 µg/ml de kanamicina y cuatro veces la concentración habitual de vitaminas.

35 Se lavaron las células MDCK obtenidas en el párrafo (1) con medio MEM de Eagle tras eliminar el sobrenadante del cultivo. Se añadieron luego a cada pocillo los siguientes agentes: 100 µl de medio MEM de Eagle que contenía seroalbúmina bovina y vitaminas al doble de la concentración del medio de ensayo; 50 µl de una solución de virus de la gripe (PR/8 (H1N1)) ajustada a $4,0 \times 10^3$ UFP/ml con medio MEM de Eagle que contenía tripsina tratada con TPCK a cuatro veces la concentración del medio de ensayo; y 50 µl de medio MEM de Eagle que contenía T-705 o GS-4071 a cuatro veces la concentración diana (concentración diana de T-705 (µg/ml): 0,0156, 0,0313, 0,0625, 0,125, 0,25, 0,5, 1, 2 y 4; y concentración diana de GS-4071 (µg/ml): 0,00313, 0,00625, 0,0125, 0,025, 0,05, 0,1, 0,2, 0,4, y 0,8) o que contenía una mezcla de T-705/GS-4071 (razón en peso de concentración 5:1) a cuatro veces la concentración diana.

45 Tras la adición del fármaco, se cultivaron las células a 35°C durante 2 días en condiciones de un 5% de dióxido de carbono.

(3) Ensayo de captación de rojo neutro

50 Se valoró el efecto citopático (ECP) observado junto con la proliferación del virus de la gripe por los métodos descritos en J. Virol. Methods, 2002, vol. 106, pp. 71-79, y Proc. Natl. Acad. Sci., 1998, vol. 95, pp. 8874-8849.

55 Tras completarse el cultivo, se añadió una solución al 0,033% de rojo neutro diluida con un tampón fosfato de Dulbecco libre de calcio/magnesio en un volumen de 100 µl a cada pocillo. Se dejó que la placa reposara a 35°C bajo condiciones de un 5% de dióxido de carbono. Dos horas después, se retiraron las soluciones de los pocillos por aspiración. Después de lavar dos veces con 100 µl de un tampón fosfato de Dulbecco libre de calcio/magnesio, se añadieron 100 µl de una solución mixta de un tampón (pH 4,2; compuesto por 0,1 mol/l de citrato de sodio y 0,1 mol/l de ácido clorhídrico) y etanol en una proporción de 1:1 en volumen a cada pocillo. Se dejó que la placa reposara a temperatura ambiente protegida de la luz. Treinta minutos después, se midió la absorbancia (540 nm) utilizando un lector de microplacas (BIO-RAD Modelo 550). Se prepararon controles no infectados añadiendo, en lugar de la solución del virus de la gripe, 50 µl de medio MEM de Eagle que contenía tripsina tratada con TPCK a cuatro veces la concentración del medio de ensayo, y se sometieron a los mismos procedimientos que los del grupo de ensayo,

seguido de medición de la absorbancia. Para el blanco, se sometieron pocillos sin inocular con las células MDCK a los mismos procedimientos que los de los controles no infectados, seguido de medición de la absorbancia. Se usaron ocho pocillos en cada concentración. Se empleó un valor medio, y se empleó un valor numérico obtenido restando la absorbancia del blanco del valor medido para el siguiente cálculo como absorbancia. Se usó un valor obtenido restando la absorbancia de los controles infectados de la de los controles no infectados como valor de inhibición completa de la proliferación del virus. Se calculó el índice de inhibición de la proliferación del virus en cada prueba según la fórmula siguiente:

$$\text{Índice de inhibición de la proliferación del virus} = \frac{[(\text{Absorbancia del fármaco simple o de fármacos combinados}) - (\text{Absorbancia del control infectado})]}{[(\text{Absorbancia del control no infectado}) - (\text{Absorbancia del control infectado})]}$$

(4) Análisis de los efectos de combinación

A partir de las concentraciones de fármacos simples y de dos fármacos usados en combinación, de la proporción de los fármacos de la combinación y del índice de inhibición de la proliferación del virus, se analizaron los efectos de la combinación utilizando SAS release 8.2 (SAS Institute Japan Ltd.) según el método del efecto de la mediana de Chou *et al.* De los métodos mostrados en *Advanced Enzyme Regulation*, 1984, vol. 22, pp. 27-55, se usó una ecuación para fármacos cuyos mecanismos de acción son completamente independientes entre sí (fármacos mutuamente no excluyentes) para calcular el valor de IC. Se determinaron los efectos de la combinación en base al valor de IC al 50% de inhibición de la proliferación del virus según la descripción del artículo de Taira *et al.* [*Acta Medica Okayama.*, 2006, vol. 60, pp. 25-34], donde $IC \leq 0,8$ representa sinergismo, $0,8 < IC < 1,2$ representa aditividad y $1,2 \leq IC$ representa antagonismo.

En la Tabla 1 se muestran los índices de inhibición de la proliferación del virus de T-705 usado solo, de GS-4071 usado solo y de la combinación de estos fármacos. En la Tabla 2 se muestran los resultados del análisis utilizando estos valores.

[Tabla 1]

Uso único de T-705		Uso único de GS-4071		Uso combinado de T-705 y GS-4071	
Conc. (µg/ml)	Índice de inhibición	Conc. (µg/ml)	Índice de inhibición	Conc. (µg/ml)	Índice de inhibición
0,0156	0,019	0,00313	0,019	0,01873	0,040
0,0313	0,067	0,00625	0,11	0,03755	0,21
0,0625	0,097	0,0125	0,14	0,075	0,41
0,125	0,27	0,025	0,25	0,15	0,59
0,25	0,43	0,05	0,29	0,3	0,73
0,5	0,60	0,1	0,42	0,6	0,96
1	0,85	0,2	0,61	1,2	0,88
2	0,93	0,4	0,73	2,4	0,95
4	1,0	0,8	0,84	4,8	0,94

[Tabla 2]

Proporción de fármacos combinados (T-705:GS-4071)	Valor de IC al 50% de inhibición
5:1	0,66

La administración combinada de T-705 y GS-4071 (forma activa *in vivo* del oseltamivir) exhibía efectos inhibitorios sinérgicos más excelentes sobre la proliferación del virus que los exhibidos por la administración de un solo fármaco.

Ejemplo de ensayo 2

Se seleccionó T-705 como compuesto de ensayo. Se seleccionó zanamivir como inhibidor de la neuraminidasa. Se realizó una prueba del mismo modo que en el método descrito en el Ejemplo de ensayo 1.

En la Tabla 3 se muestran los índices de inhibición de la proliferación del virus del T-705 usado solo, del zanamivir usado solo y de la combinación de estos fármacos. En la Tabla 4 se muestran los resultados de análisis utilizando estos valores.

[Tabla 3]

Uso único de T-705		Uso único de zanamivir		Uso combinado de T-705 y zanamivir	
Conc. (µg/ml)	Índice de inhibición	Conc. (µg/ml)	Índice de inhibición	Conc. (µg/ml)	Índice de inhibición
0.0625	0,062	0,0031	0,062	0,01875	0,10
0,125	0,17	0,00625	0,12	0,0375	0,23
0,25	0,34	0,0125	0,23	0,075	0,38
0,5	0,64	0,025	0,28	0,15	0,69
1	0,77	0,05	0,49	0,3	0,87
2	0,89	0,1	0,60	0,6	0,94
		0,2	0,67		
		0,4	0,75		

5

[Tabla 4]

Proporción de fármacos combinados (T-705:Zanamivir)	Valor de IC al 50% de inhibición
5:1	0,38

10 La administración combinada de T-705 y zanamivir exhibía efectos inhibitorios sinérgicos más excelentes sobre la proliferación del virus que los exhibidos por la administración de un solo fármaco.

Ejemplo de ensayo 3

15 Se seleccionó T-705 como compuesto de ensayo. Se seleccionó GS-4071 como inhibidor de la neuraminidasa. Se realizó una prueba del mismo modo que en el método descrito en el Ejemplo de ensayo 1 usando Victoria/3/75 (H3N2) como virus de la gripe.

20 En la Tabla 5 se muestran los índices de inhibición de la proliferación del virus del T-705 usado solo, del GS-4071 usado solo y de la combinación de esos fármacos. En la Tabla 6 se muestran los resultados de análisis utilizando estos valores.

[Tabla 5]

Uso único de T-705		Uso único de GS-4071		Uso combinado de T-705 y GS-4071	
Conc. (µg/ml)	Índice de inhibición	Conc. (µg/ml)	Índice de inhibición	Conc. (µg/ml)	Índice de inhibición
0,125	0,026	0,003125	0,086	0,01875	0,15
0,25	0,09	0,00625	0,14	0,0375	0,37
0,5	0,42	0,0125	0,44	0,075	0,72
1	0,76	0,025	0,54	0,15	0,92
2	0,86	0,05	0,68	0,3	1,03
4	0,94	0,1	0,80		
		0,2	0,88		

25

[Tabla 6]

Proporción de fármacos combinados (T-705:GS-4071)	Valor de IC al 50% de inhibición
5:1	0,36

30 La administración combinada de T-705 y GS-4071 (forma activa *in vivo* del oseltamivir) exhibía efectos inhibitorios sinérgicos más excelentes sobre la proliferación del virus que los exhibidos por la administración de un solo fármaco.

Ejemplo de ensayo 4

Se seleccionó T-705 como compuesto de ensayo. Se seleccionó zanamivir como inhibidor de la neuraminidasa. Se realizó una prueba del mismo modo que en el método descrito en el Ejemplo de ensayo 3.

En la Tabla 7 se muestran los índices de inhibición de la proliferación del virus del T-705 usado solo, del zanamivir usado solo y de la combinación de estos fármacos. En la Tabla 8 se muestran los resultados de análisis utilizando estos valores.

[Tabla 7]

Uso único de T-705		Uso único de zanamivir		Uso combinado de T-705 y zanamivir	
Conc. (µg/ml)	Índice de inhibición	Conc. (µg/ml)	Índice de inhibición	Conc. (µg/ml)	Índice de inhibición
0.125	0,026	0,0125	0,074	0,01875	0,032
0,25	0,092	0,025	0,14	0,0375	0,12
0,5	0,42	0,05	0,27	0,075	0,27
1	0,76	0,1	0,40	0,15	0,70
2	0,86	0,2	0,60	0,3	0,87
4	0,94	0,4	0,71	0,6	0,94
		0,8	0,81		

[Tabla 8]

Proporción de fármacos combinados (T-705:Zanamivir)	Valor de IC al 50% de inhibición
5:1	0,25

La administración combinada de T-705 y zanamivir exhibía efectos inhibitorios sinérgicos más excelentes sobre la proliferación del virus que los exhibidos por la administración de un solo fármaco.

Como puede verse por los resultados, la administración combinada de un derivado de pirazina representado por la fórmula general [1] o una sal del mismo y diversos inhibidores de la neuraminidasa exhibe actividades sinérgicas contra el virus de la gripe y es efectiva para el tratamiento (v.g., terapia o prevención) de la gripe.

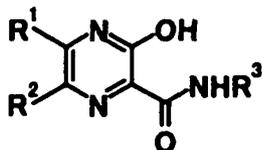
Aplicabilidad industrial

Una composición farmacéutica que contiene un derivado de pirazina o una sal del mismo y uno o más inhibidores de la neuraminidasa tiene potentes actividades sinérgicas contra el virus de la gripe y es útil para el tratamiento (v.g., terapia o prevención) de la gripe. La utilización de estos compuestos en combinación es útil para el tratamiento (v.g., terapia o prevención) de la gripe.

REIVINDICACIONES

5 1. Una composición farmacéutica para tratar la infección por el virus de la gripe, que contiene un derivado de pirazina representado por la siguiente fórmula general o una sal del mismo y uno o más inhibidores de la neuraminidasa:

[Fórmula 1]



10 donde R¹ y R² son iguales o diferentes y cada uno representa un átomo de hidrógeno o un átomo de halógeno y R³ representa un átomo de hidrógeno.

15 2. La composición farmacéutica según la reivindicación 1, donde R¹ es un átomo de hidrógeno y R² es un átomo de flúor.

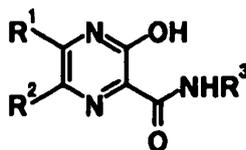
3. La composición farmacéutica según la reivindicación 1 ó 2, donde el inhibidor de la neuraminidasa es oseltamivir o zanamivir.

20 4. La composición farmacéutica según la reivindicación 1 ó 2, donde el inhibidor de la neuraminidasa es oseltamivir.

5. La composición farmacéutica según la reivindicación 1 ó 2, donde el inhibidor de la neuraminidasa es zanamivir.

25 6. Un derivado de pirazina representado por la siguiente fórmula general o una sal del mismo y uno o más inhibidores de la neuraminidasa en combinación para uso en el tratamiento de la infección por el virus de la gripe:

[Fórmula 2]



30 donde R¹ y R² son iguales o diferentes y cada uno representa un átomo de hidrógeno o un átomo de halógeno y R³ representa un átomo de hidrógeno.

35 7. El derivado de pirazina según la reivindicación 6, donde R¹ es un átomo de hidrógeno y R² es un átomo de flúor.

8. El derivado de pirazina según la reivindicación 6 ó 7, donde el inhibidor de la neuraminidasa es oseltamivir o zanamivir.

9. El derivado de pirazina según la reivindicación 6 ó 7, donde el inhibidor de la neuraminidasa es oseltamivir.

40 10. El derivado de pirazina según la reivindicación 6 ó 7, donde el inhibidor de la neuraminidasa es zanamivir.