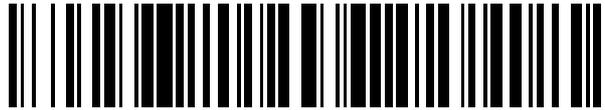


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 542 985**

51 Int. Cl.:

C07D 311/62 (2006.01)
A61K 31/353 (2006.01)
A61K 38/06 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)
A23K 1/16 (2006.01)
A23L 1/305 (2006.01)
A23L 1/30 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.07.2004 E 04748030 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.04.2015 EP 1655292**

54 Título: **Composición preventiva o terapéutica para una enfermedad infecciosa vírica**

30 Prioridad:

22.07.2003 JP 2003199593
29.03.2004 JP 2004093952

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.08.2015

73 Titular/es:

KYOWA HAKKO BIO CO., LTD (100.0%)
1-6-1 Ohtemachi Chiyoda-ku
Tokyo 100-8185, JP

72 Inventor/es:

FURUKAWA, SATORU;
KAWABE, HIDEO;
OHORI, HITOSHI;
MUKAI, TAKAO y
MATSUMOTO, MITSUYO

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 542 985 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 preventiva o terapéutica para una enfermedad infecciosa vírica

5 Campo técnico

La presente invención se refiere a una composición para prevenir o tratar las enfermedades infecciosas víricas.

Técnica antecedente

10 Un coronavirus es un virus de ARN con el que se infectan seres humanos, cerdos, vacas, pollos y similares. En seres humanos, se sabe desde hace mucho que los coronavirus son virus causales del resfriado junto con el virus de la gripe. Sin embargo, los coronavirus y el virus de la gripe son diferentes en los siguientes puntos.

15 Esto es, el coronavirus es un virus monocatenario con una cadena de ARN positiva, mientras que el virus de la gripe es un virus monocatenario con una cadena de ARN negativa [véase J. Virol., 29, 293-300 (1979), Am. J. Vet. Res., 37, 1031-41 (1976) y Virus, vol. 52, págs. 55-59, 2002]. Los tipos de receptores moleculares de ácido siálico que reconocen los virus A y B de la gripe y el coronavirus son diferente [véase J. Virol., 65, 6232-6273 (1991) y Virology, 189, 121-31 (1992)].

20 En el caso del virus de la gripe, se ha notificado que una gama de hospedadores se cambia por sustitución de una base de hemaglutinina (HA), una de las proteínas que elevan el azúcar en una membrana, y se ha sabido adicionalmente que el ataque de un hospedador se evita cambiando un antígeno mediante la estimulación de la presión de un anticuerpo o similar (véase Virus, vol. 51, págs. 193-200, 2001). Mientras tanto, en el caso de los coronavirus, se ha considerado que la mutación se produce fácilmente debido a un proceso de transcripción de un ARN vírico descrito a continuación.

25 Los procesos de transcripción de los ARN víricos del virus de la gripe y del coronavirus son diferentes en los siguientes puntos. La transcripción del ARN vírico del virus de la gripe tiene lugar en un núcleo de una célula hospedadora, y el ARN vírico sintetiza un molde de ARN vírico añadiendo CAP presente en una región del extremo 5' del ARNm de la célula hospedadora a su propia región del extremo 3', igual que un cebador [véase J. Gen. Virol., 83, 723-34 (2002)]. Por consiguiente, se ha clarificado que, en el virus de la gripe, la síntesis del ARNm en el lado del hospedador se bloquea con un inhibidor de una ARN polimerasa tal como actinomicina D o α -amanitina que inhibe su crecimiento [véase Philos Trans R. Soc. Lond. B Biol. Sci., 288, 359-70 (1980) y Arch. Virol., 141, 1587-94 (1996)].

30 Por otra parte, la transcripción del coronavirus tiene lugar en el citoplasma de una célula hospedadora. Los detalles de su proceso son desconocidos hasta ahora. Sin embargo, se sabe que al menos no tiene lugar la transcripción que utiliza un ARNm de un hospedador. Por lo tanto, la transcripción no se inhibe, en la mayoría de los casos, con un fármaco tal como actinomicina D o α -amanitina [véase Advances in virus research, 48, 1-100 (1997)].

35 El virus del síndrome respiratorio agudo grave (abreviado a partir de ahora en el presente documento como SARS) es un nuevo coronavirus que se considera derivado de animales silvestres. Con respecto al número de pacientes de SARS inducidos por el virus SARS, el número de personas infectadas en todo el mundo es superior a 8.439, y el número de fallecidos es de 812 (a fecha 3 de julio de 2003). Por tanto, la mortalidad es alta, y es una necesidad urgente global disponer de contramedidas para tratar o prevenir el mismo. Se sabe ahora que el virus SARS se puede destruir con un bactericida o un desinfectante tal como alcohol al 75 %. Sin embargo, los fármacos eficaces para la prevención o el tratamiento de la infección, incluyendo vacunas, siguen siendo desconocidos.

40 El glutatión es un tripéptido que tiene una estructura de γ -L-Glu-L-Cys-Gly, y se conoce como un agente terapéutico de la acetonemia producida por un alcohol.

45 Se sabe que glutatión tiene el efecto de prevenir o tratar enfermedades infecciosas del virus de la gripe que es diferente del coronavirus en su sensibilidad al fármaco (folleto del documento WO 98/30228). Sin embargo, no se sabía que glutatión tuviera algún efecto de prevenir o tratar las enfermedades infecciosas del coronavirus.

La catequina es un fenol polihídrico soluble en agua contenido en las plantas leñosas en grandes cantidades, y se sabe que tiene actividad inhibidora del crecimiento del virus de la gripe [véase Planta medica, 67, 240-43 (2001)].

50 Se conocen también alimentos nutrientes contra la gripe que contienen glutatión y catequina (véase el documento JP-T-2001-511770 (el término "JP-T" como se usa en el presente documento significa una traducción japonesa publicada de una solicitud de patente PCT)). Sin embargo, no se sabía que la composición que contiene catequina tuviera el efecto de prevenir o tratar las enfermedades infecciosas del coronavirus.

60 Como virus perteneciente a la familia de los Flavivirus, que son virus monocatenarios de ARN positivo, se conocen el virus de la fiebre porcina (CSFV), el virus de la diarrea vírica bovina (BVDV) y similares. Especialmente, BVDV es

un virus que implica un grave problema en la industria ganadera puesto que es un virus que induce un síndrome hemorrágico de elevada letalidad con reducción de plaquetas. Sin embargo, se desconoce un método eficaz para prevenir las enfermedades infecciosas por BVDV.

5 Se describe el uso de catequinas, tales como las que se encuentran en el té o en la ratania, para prevenir o tratar la infección por el virus Corona en alguna técnica anterior (véanse por ejemplo los documentos JP2000044473, KR10030437, JP 01265023, WO99/38522 y WO02/09699).

10 Se conoce el uso de glutatión para anular los radicales libres producidos por el estrés oxidativo inducido por el virus (en combinación con interferón) en el tratamiento de la hepatitis C a partir del documento WO94/14473.

15 Se conoce de alguna técnica anterior (Ann. Immunol; 134 C, pp 227-235, (1983) e Immunology; 45, pp 679-685 (1982)) que la reducción en el nivel de glutatión evita la toxicidad del factor citotóxico (CF) y bloquea la producción de citotoxinas (CF2)

15 Se sabe que las actividades de un factor supresor soluble (Curr. Sci; 59 (3), pp 157-160 (1990)) y de las citoquinas de los linfocitos T auxiliares (Int. J. Exp. Pathol; 72, pp 665-672 (1991)) se anulan por tratamiento con una concentración baja de glutatión.

20 Divulgación de la invención

La invención se dirige a proporcionar una composición eficaz para prevenir o tratar enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Coronavirus.

25 La invención se detalla además en los siguientes párrafos numerados:-

25 1. Una composición para su uso en la prevención de enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Coronavirus que comprende un miembro seleccionado entre glutationes reducidos y oxidados, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

30 2. La composición para su uso en la prevención de enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Coronavirus de acuerdo con el párrafo 1, que comprende glutatión reducido u oxidado, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

35 3. La composición para su uso en la prevención de las enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Coronavirus de acuerdo con el párrafo 1 o 2, que comprende además uno o más antioxidantes.

40 4. La composición para su uso en la prevención de enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Coronavirus de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 1 a 3, en la que el virus que pertenece a la familia de los Coronavirus es el virus del síndrome respiratorio agudo grave (abreviado a partir de ahora en el presente documento como SARS).

45 5. Una composición para su uso en la prevención de enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Coronavirus de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 1 a 4, que es una preparación farmacéutica.

45 6. Una composición para su uso en la prevención de enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Coronavirus de acuerdo con el párrafo 5, en la que la preparación farmacéutica es una preparación oral, una solución de inyección, un aerosol nasal o un inhalador.

50 7. Una composición para su uso en la prevención de enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Coronavirus de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 1 a 6, que es un alimento, una alimentación, un aditivo alimentario o un aditivo para alimentación.

55 8. La composición para su uso en la prevención de enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Coronavirus del párrafo 6, que es un aerosol nasal.

60 9. Uso de al menos un miembro seleccionado entre el grupo que consiste en glutationes reducidos y oxidados, sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la fabricación de una composición para su uso en la prevención de las enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Coronavirus.

60 10. Uso de acuerdo con el párrafo 9, donde al menos un miembro seleccionado entre el grupo que consiste en glutationes reducidos y oxidados, las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos son glutatión reducido o glutatión oxidado, o sales farmacéuticamente aceptable de los mismos.

65 11. El uso de acuerdo con los párrafos 9 y 10, en el que el virus que pertenece a la familia de los Coronavirus es el virus SARS.

Se describe también en el presente documento los siguientes (1) a (15).

- (1) Una composición para prevenir o tratar enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Coronavirus o a la familia de los Flavivirus, que comprende al menos un miembro seleccionado entre el grupo que consiste en glutaciones reducidos y oxidados, sus sales farmacéuticamente aceptables y catequina.
- (2) la composición de acuerdo con (1), que comprende glutatión reducido u oxidado, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y catequina.
- (3) La composición de acuerdo con (1) o (2), que comprende además uno o más antioxidantes.
- (4) La composición de acuerdo con una cualquiera de (1) a (3), en la que el virus que pertenece a la familia de los Coronavirus es el virus del síndrome respiratorio agudo grave (abreviado a partir de ahora en el presente documento como SARS).
- (5) La composición de acuerdo con una cualquiera de (1) a (3), en la que el virus que pertenece a la familia de los Flavivirus es el virus de la diarrea vírica bovina (abreviado a partir de ahora en el presente documento como BVDV).
- (6) La composición de acuerdo con una cualquiera de (1) a (5), que es una preparación farmacéutica.
- (7) la composición de acuerdo con (6), en la que la preparación farmacéutica es una preparación oral, una solución de inyección, un aerosol nasal o un inhalador.
- (8) La composición de acuerdo con una cualquiera de (1) a (5), que es un alimento, una bebida, una alimentación, un aditivo alimentario o un aditivo para alimentación.
- (9) Un método para prevenir o tratar enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Coronavirus o a la familia de los Flavivirus para animales no humanos, que comprende administrar el aerosol nasal como se ha citado en (7) manteniéndolo entre 30 °C a 50 °C en la nariz de animales no humanos.
- (10) El método de prevención o tratamiento de (9), en el que el virus que pertenece a la familia de los Coronavirus es el virus SARS.
- (11) El método de acuerdo con (9), en el que el virus que pertenece a la familia de los Flavivirus es BVDV.
- (12) Uso de al menos un miembro seleccionado entre el grupo que consiste en glutaciones reducidos y oxidados, las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos y catequina para la fabricación de una composición para prevenir o tratar las enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Coronavirus o a la familia de los Flavivirus.
- (13) Uso de acuerdo con (12), en el que al menos un miembro seleccionado entre el grupo que consiste en glutaciones reducidos y oxidados, las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos y catequina son glutatión reducido u oxidado, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y catequina.
- (14) Un método para prevenir o tratar enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Coronavirus o a la familia de los Flavivirus, que comprende administrar al menos un miembro seleccionado entre el grupo que consiste de glutaciones reducidos y oxidados, sus sales farmacéuticamente aceptables y catequina.
- (15) El método de acuerdo con (14), que comprende administrar glutatión reducido u oxidado, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y catequina.

En la presente invención, el glutatión reducido significa un tripéptido que tiene una estructura de γ -L-Glu-L-Cys-Gly, y el glutatión oxidado significa un dipéptido de glutatión en el que dos moléculas de glutatión reducido se unen mediante un enlace S-S.

Los glutaciones reducidos y oxidados utilizados en la presente invención se pueden obtener mediante cualquier método convencional. Además del método para producir el glutatión reducido, se puede hacer mención a un método de extracción a partir de microorganismos tales como levaduras [Methods in Enzymology, 3, 603 (1957), un método de síntesis química [Bull. Chem. Soc. Jpn., 53, 2529 (1980)], un método enzimático (Solicitud de patente japonesa publicada sin examinar nº 74595/86) y similares. Se puede obtener el glutatión oxidado de acuerdo con el método descrito en Acta Biochim. Pol., 17, 175 (1970).

Entre los métodos para producir el glutatión reducido, se mencionan a continuación el método de síntesis química y el método de extracción a partir de levaduras.

1. Método de síntesis química

Se puede sintetizar químicamente el glutatión reducido de acuerdo con el método descrito en Bull. Chem. Soc. Jpn., 53, 2592 (1980).

N-formil-L-2-amino-4-cianobutirato de etilo se condensó con L-cisteinilglicinato de etilo para obtener (4R)-2-[(3S)-3-etoxicarbonil-3-(formilamino)propil]-4-(etoxicarbonilmetilcarbamoil)-2-tiazolina. Posteriormente, el compuesto resultante se saponificó en una solución acuosa de acetona a aproximadamente -15 °C, y se trató con ácido sulfúrico diluido (pH 4) para obtener formilglutatión. A continuación se hidrolizó el formilglutatión con 0,5 mmol/l de ácido sulfúrico para eliminar un grupo formilo y se obtuvo de esta manera el glutatión libre. El glutatión libre se purifica adicionalmente según se requiera. En la purificación adicional, el glutatión libre se convierte en su tiolato de cobre que se trata a continuación con sulfito de hidrógeno. De esta manera, se puede obtener el glutatión puro.

2. Método de extracción de glutatión reducido a partir de levaduras

Se puede extraer el glutatión reducido a partir de levaduras de acuerdo con el método descrito en Methods in Enzimology, 3, 603 (1957).

A un extracto de levadura se añadió una cantidad igual de ácido tricloroacético (TCA) al 10 %. El residuo obtenido mediante centrifugación se trató adicionalmente dos veces con la mitad del volumen original de TCA. Se combinaron los extractos, y se añadió una solución de cloruro de cadmio a un volumen que es 1/4 del volumen del extracto. Se ajustó el pH de la solución a 5 mediante la adición de hidróxido de sodio 10 mol/l, y a continuación a 6,5 con una sal de bicarbonato. Se retuvo a 0 °C durante 1 hora un complejo de cadmio precipitado, que se lavó a continuación dos veces con agua destilada enfriada con hielo. Tras disolver el precipitado en ácido sulfúrico en una cantidad mínima de 2 mol/l, se añadieron 0,5 mol/l de ácido sulfúrico en una cantidad de 3 ml por 10 mg tal como la cantidad esperada de glutatión que se va a obtener. Según sea necesario, la solución se filtra, y se mide la cantidad existente de glutatión en términos de una alícuota unitaria. La solución se calentó a 40 °C y se añadió gota a gota una suspensión de óxido de cobre que contenía óxido de cobre en una cantidad de 2,5 mg por 10 mg de glutatión a la vez que se agitaba suavemente. Se dejó reposar el precipitado resultante a 0 °C durante varias horas, se centrifugó, y se lavó dos veces con 0,5 mol/l de ácido sulfúrico, tres veces con agua destilada y dos veces con metanol en este orden. Para aislar el glutatión libre, un complejo glutatión cobre se descompuso con hidrógeno en una suspensión acuosa, y la solución obtenida tras la eliminación del sulfito de cobre se secó mediante criodesecación.

Con respecto a la catequina que se describe en el presente documento, está disponible cualquier sustancia que contenga catequina seleccionada entre epicatequina, catequina, epigalocatequina, galocatequina, galato de epicatequina y galato de epigalocatequina (abreviado a partir de ahora en el presente documento como EGC) tanto individualmente como en una de sus combinaciones en cualquier cantidad. La catequina usada que se describe en el presente documento puede ser un producto o sustancia comercialmente disponible obtenida mediante la extracción de un organismo que contiene catequina. Como organismos que contienen catequina, por ejemplo, se mencionan plantas, y son preferibles plantas de hojas de té y similares. Como catequina extraída a partir del organismo, está disponible un producto purificado, y está disponible también un extracto bruto siempre que la catequina esté contenida en el anterior en tal extensión que se presente el efecto descrito en el presente documento.

Los ejemplos de un método de extracción y de un método de purificación de la catequina pueden incluir un método en el que se extraen las hojas verdes con agua, se retira la cafeína con cloroformo y se realiza la extracción con acetato de etilo (Chagyo Kenkyu Hokoku No. 13, p. 4, abril de 1959), un método en el que la cafeína se retira de un extracto de té con hexano y cloroformo y las catequinas del té deseadas se extraen con acetato de etilo (solicitud de patente japonesa publicada sin examinar nº 9922/89), un método para producir catequinas del té que incluye un polímero o material compuesto de catequina en el que se realiza un proceso discontinuo multietapas que permite condiciones de carga elevadas con perlas de gel que utilizan una sustancia extraída de una planta tal como el árbol del té con una solución con una baja concentración de alcohol como materia prima (solicitud de patente japonesa publicada sin examinar nº 14572/91), un método en el que se usa el extracto de té obtenido extrayendo hojas de té con agua caliente como materia prima, se introduce un adsorbente en una columna cromatográfica, y las catequinas del té se adsorben selectivamente en este adsorbente y se recuperan mediante elución con un disolvente orgánico hidrófilo para preparar catequinas de té de alta pureza (solicitud de patente japonesa publicada sin examinar nº 311474/90), y similares.

La composición de la presente invención puede ser tanto una composición que comprende un miembro seleccionado entre glutaciones reducidos y oxidados, y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, como una composición que comprende glutatión reducido o glutatión oxidado, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Se describen también en el presente documento composiciones que comprenden adicional o únicamente catequina.

Cuando la composición de la presente invención contiene glutatión reducido u oxidado o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, se puede incluir una sustancia seleccionada entre glutaciones reducidos y oxidados y sus sales farmacéuticamente aceptables, o alternativamente, pueden estar incluidos glutatión reducido, glutatión oxidado y sus sales farmacéuticamente aceptables en una combinación arbitraria.

Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables (en la forma de un producto soluble en agua, soluble en aceite o dispersable) de glutaciones reducidos y oxidados incluyen sales usuales no tóxicas preparadas a partir de ácidos inorgánicos, ácidos o bases orgánicas, y sales de amonio cuaternario y similares. Los ejemplos de las sales preparadas a partir de ácidos inorgánicos o ácidos orgánicos incluyen acetato, adipato, arginato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, citrato, alcanforato, canforsulfonato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, fumarato, glucoheptanoato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietanosulfonato, lactato, maleato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, oxalato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, piclato, pivalato, propionato, succinato, tartrato, tiocianato, tosilato, undecanoato y similares. Los ejemplos de las sales preparadas a partir de bases incluyen sales de metales alcalinos tales como una sal de amonio, una sal de sodio y una sal de potasio, sal

de sodio y sal de potasio, sales de metales alcalinotérreos tales como una sal de calcio y una sal de magnesio, sales con bases orgánicas tales como una sal de diciclohexilamina y una sal de N-metil-D-glucamina, y sales con aminoácidos tales como arginina y lisina, y similares.

5 Los ejemplos de sales de amonio cuaternario incluyen las sales obtenidas mediante cuaternización con compuestos, por ejemplo, haluros de alquilo inferior tales como cloruros, bromuros y yoduros de metilo, etilo, propilo y butilo, dialquil sulfatos tales como dimetil sulfato, dietil sulfato y dibutil sulfato, diamil sulfato, haluros de cadena larga tales como cloruros, bromuros y yoduros de decilo, laurilo, miristilo y estearilo, y haluros de aralquilo tales como bromuro de bencilo y bromuro de fenetilo, y similares. Otras sales farmacéuticamente aceptables incluyen una sal de sulfato etanolato y una sal de sulfato.

15 Como antioxidante que va a estar contenido en la composición de la presente invención, se puede mencionar una sustancia seleccionada entre el grupo que consiste en vitamina A, vitamina E, vitamina K, cobre (óxido de cobre (II)), cinc (óxido de cinc), hierro (sal ferrosa), selenio (selenato de sodio), β -caroteno, polifenoles, flavinoides, flavanoles tales como quercetina, flavanonas tales como eriodictiol, diterpenoides tales como ácido carnosínico y carnosol, ácidos fenólicos tales como ácido rosemárico, ácido cafeico, ácido cumarínico, ácido cinámico, coenzima Q10, probucol, carotenoides tales como astaxantina y licopina, α -lipoato y sales del ácido úrico.

20 Los ejemplos de virus que pertenecen a la familia de los Coronavirus de la presente invención incluyen el virus SARS, coronavirus de pollo, coronavirus frío humano, coronavirus corona bovino y similares.

25 Los ejemplos del virus que pertenece a la familia de los Flavivirus descritos en el presente documento incluyen el virus de la fiebre amarilla, virus del dengue, virus de la fiebre porcina, BVDV, virus de la enfermedad de la frontera y similares.

Se puede usar la composición de la presente invención en forma de una preparación farmacéutica, un alimento, una alimentación, un aditivo alimentario y un aditivo para alimentación.

30 Los ejemplos de preparaciones farmacéuticas incluyen una preparación oral, un enjuague bucal o una preparación para hacer gárgaras, un aerosol nasal, un inhalador, gotas, una solución de inyección para inyección intravenosa o inyección intramuscular, un supositorio y similares.

35 La preparación oral se puede preparar mediante cualquier método bien conocido en el campo de la técnica de la farmacología tras mezclar una o más sustancias seleccionadas a partir de glutaciones reducidos y oxidados, sus sales farmacéuticamente aceptables (abreviadas a partir de ahora en el presente documento como glutatión) y catequina con un transportador según se requiera.

40 Cuando se prepara la preparación oral, se pueden usar aditivos tales como un excipiente, un aglutinante, un desintegrante, un lubricante, un agente dispersante, un agente suspensor, un emulsionante, un agente de dilución, un agente tamponante, un antioxidante y un agente antibacteriano.

45 Los ejemplos de formas farmacéuticas de las preparaciones orales incluyen comprimidos, polvos, gránulos, emulsiones, jarabe, cápsulas y similares. Por ejemplo, cuando la forma farmacéutica de las preparaciones orales es la de comprimidos, polvos, gránulos o similares, se pueden preparar las preparaciones añadiendo excipientes, por ejemplo, azúcares tales como lactosa, azúcar blanco, glucosa, sacarosa, manitol y sorbitol, almidones tales como almidón de patata, almidón de trigo y almidón de maíz, sustancias inorgánicas tales como carbonato de calcio, sulfato de calcio, hidrogenocarbonato de sodio y cloruro de sodio y polvos de vegetales tales como polvos de regaliz y polvo de genciana, disgregantes tales como almidón, agar, polvo de gelatina, celulosa cristalina, carmelosa de sodio, carmelosa de calcio, carbonato de calcio, hidrogenocarbonato de sodio y alginato de sodio, lubricantes tales como estearato de magnesio, talco, aceite vegetal hidrogenado, macrogol y aceite de silicona, aglutinantes tales como alcohol polivinílico, hidroxipropilcelulosa, metilcelulosa, etilcelulosa, carmelosa, gelatina y pasta de almidón, tensioactivos tales como ésteres de ácidos grasos, plastificantes tales como glicerina, y similares.

55 Cuando la forma farmacéutica de la preparación oral es una preparación líquida tal como una emulsión o jarabe, la preparación puede prepararse añadiendo agua, azúcares tales como sacarosa, sorbitol y fructosa, glicoles tales como polietilenglicol y propilenglicol, aceites tales como aceite de sésamo, aceite de oliva y aceite de soja, antisépticos tales como p-hidroxibenzoato, aromas tales como aroma de fresa y menta piperita, y similares. Están disponibles cualesquiera concentraciones en la preparación líquida. La concentración de glutatión puede ser preferentemente de 10 mmol/l a 200 mmol/l, más preferentemente de 20 a 50 mmol/l. La concentración de catequina que se describe puede ser cualquier concentración, preferentemente de 10 μ mol/l a 10 mmol/l, más preferentemente de 20 μ mol/l a 2 mmol/l. Está disponible cualquier pH de la preparación líquida siempre que sean estables uno o más sustratos seleccionados entre glutatión y catequina y su intervalo pueda ser preferentemente de 4,0 a 6,0.

65 Cuando la forma farmacéutica de la preparación oral es una cápsula, esta se puede preparar introduciendo la composición en una cápsula dura o revistiendo la composición con una base de cápsula para formar una cápsula

blanda. Como base de la cápsula se puede mencionar la gelatina. En la cápsula blanda, se añade glicerina o sorbitol para impartir plasticidad. Además, es posible añadir, según sea necesario, colorantes, agentes de apantallamiento de la luz tales como óxido de titanio, sulfato de bario y carbonato de calcio precipitado y antisépticos tales como ésteres de p-oxibenzoato.

5 Cuando la composición de la presente invención se administra a seres humanos en forma de preparación oral para uso médico, la dosis y el calendario de administración varían dependiendo del modo de administración, la edad y el peso corporal del paciente, los síntomas y similares. Está comprendida usualmente de 1 mg a 10.000 mg, preferentemente de 20 a 2.000 mg, más preferentemente de 50 a 500 mg como glutatión. Se describen también en el presente documento composiciones que comprenden usualmente de 1 µg a 500 mg, preferentemente de 20 µg a 100 mg, más preferentemente de 50 µg a 25 mg como catequina. La composición de la presente invención se administra de una vez a varias veces al día.

15 El enjuague bucal o preparación para gargarismos se puede preparar añadiendo un agente antimicrobiano, un tensioactivo, un tensioactivo simultáneo, aceite, agua y otros aditivos, un endulzante/agente corrector conocido en el campo técnico de las preparaciones, y similar a glutatión. Se describe también en el presente documento una preparación de catequina.

20 Están disponibles cualesquiera concentraciones de glutatión contenidas en el enjuague bucal o en la preparación para gargarismos. La concentración de glutatión puede ser preferentemente de 10 mmol/l a 200 mmol/l, más preferentemente de 20 a 50 mmol/l. Se describen también en el presente documento preparaciones similares en las que la concentración de la catequina puede ser preferentemente de 10 nmol/l a 10 mmol/l, más preferentemente de 20 µmol a 2 mmol/l. Está disponible cualquier pH de la preparación líquida siempre que sean estables uno o más sustratos seleccionados entre glutatión y catequina y su intervalo pueda ser preferentemente de 4,0 a 6,0.

25 Se puede preparar el aerosol nasal o el inhalador en la forma de una solución salina fisiológica mediante un método bien conocido en el campo de la técnica de las preparaciones farmacéuticas utilizando conservantes adecuados tales como alcohol bencílico, aceleradores de la absorción para aumentar para aumentar la biodisponibilidad, fluorocarbonos, otros agentes disolventes o agentes dispersantes bien conocidos en el campo de la técnica, tensioactivos, agentes gelificantes, agentes tamponantes y otros agentes estabilizantes y solubilizantes [Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 6ª edición (1995)].

35 Los expertos en la materia conocen un método para preparar preparaciones en la administración intranasal (preparaciones para la administración intranasal), y se ha descrito una parte del mismo en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17ª edición (1985) que es un documento normalizado en el campo de la técnica.

40 Con respecto al transportador utilizado en la preparación para la administración intranasal, está disponible cualquier transportados que se pueda usar en las preparaciones. Esto se puede seleccionar dependiendo de la forma farmacéutica intranasal deseada tal como una solución, una suspensión, una pomada o un gel. La preparación para la administración intranasal contiene generalmente un principio activo y además una gran cantidad de agua. Pueden estar contenidas pequeñas cantidades de otros componentes, cuyos ejemplos incluyen un agente de ajuste del pH, un emulsionante, un agente dispersante, un conservante, un tensioactivo, un agente gelificante, un agente tamponante, un agente estabilizante y un agente solubilizante. La preparación para la administración intranasal es preferentemente isotónica con respecto a la una secreción intranasal.

45 La preparación para la administración intranasal se puede preparar en la forma farmacéutica intranasal tal como gotas, un agente pulverizador o un aerosol. En el sistema de administración, la administración es posible en términos de un sistema de administración unitario según se requiera. Un volumen de una solución o una suspensión que se va a administrar para una dosis unitaria es preferentemente de 5 a 400 µl, más preferentemente de 50 a 50 µl.

55 En el sistema de administración de la preparación para la administración descrita anteriormente, se puede usar un frasco gotero, un exprimidor de plástico, un atomizador, un nebulizador o un aerosol médico (envase para dosis unitaria o multidosis).

60 Cuando la composición de la invención se administra a seres humanos como un aerosol nasal o un inhalador, la concentración de glutatión en la preparación es preferentemente de 10 a 50 mmol/l. Se describen también en el presente documento composiciones en el que la concentración de la catequina es preferentemente de 10 µmol a 2 mmol/l. El calendario de administración de la preparación varía dependiendo del modo de administración, la edad y el peso corporal del paciente, los síntomas y similares. Se administra usualmente una a varias veces al día.

La temperatura del aerosol nasal en la administración intranasal del aerosol nasal puede ser de 30 a 50 °C, preferentemente de 35 a 40 °C, más preferentemente 37 °C.

Se pueden preparar gotas y una solución de inyección para inyección intravenosa o intramuscular mediante un método arbitrario bien conocido en el campo de la técnica de la farmacología tras disolver una o más sustancias seleccionadas entre glutatión y catequina en un disolvente acuoso.

5 Se pueden preparar gotas o una solución para inyección utilizando aditivos tales como un disolvente acuoso, un disolvente no acuoso, un conservante, un estabilizante, un agente calmante, un agente isotónico, un agente tamponante y un excipiente.

10 Los ejemplos de disolventes acuosos incluyen agua para inyección, una solución salina fisiológica, solución de Ringer y similares. Los ejemplos de disolventes no acuosos incluyen aceites vegetales tales como aceite de cacahuete, aceite de sésamo, aceite de maíz, aceite de oliva y aceite de semillas de algodón. Los ejemplos de conservantes incluyen fenol, cresol y similares. Los ejemplos de estabilizantes incluyen sulfito, piro-sulfito de sodio, ácido ascórbico y similares. Los ejemplos de agentes calmantes incluyen alcohol bencílico, clorobutanol y similares. Los ejemplos de agentes isotónicos incluyen cloruro de sodio, glucosa y similares. Los ejemplos de agentes tamponantes incluyen citrato, acetato, fosfato y similares. Los ejemplos de excipientes incluyen sorbitol y similares.

15 Cuando la composición de la presente invención se administra a seres humanos en forma de gotas o como solución para inyección, la dosis y el calendario de administración varían dependiendo del modo de administración, la edad y el peso corporal del paciente, los síntomas y similares. Habitualmente es de 1 a 10.000 mg, preferentemente de 20 a 2.000 mg, más preferentemente de 50 a 500 mg como glutatión. Se describen también en el presente documento composiciones en el que la catequina es usualmente de 1 µg a 500 mg, preferentemente de 20 µg a 100 mg, más preferentemente de 50 µg a 20 mg. La composición de la presente invención se administra una a varias veces al día.

20 En el sistema de administración de las diversas formas farmacéuticas descrito anteriormente, se puede usar un frasco gotero, un exprimidor de plástico, un atomizador, un nebulizador o un aerosol médico (envase para dosis unitaria o multidosis).

25 El supositorio se puede preparar mezclando una o más sustancias seleccionadas entre glutatión y catequina con un excipiente no irritante adecuado que sea sólido a temperatura ambiente pero que se licúe o disuelva en la cavidad rectal para liberar un fármaco, tal como manteca de cacao, éster glicérido sintético o polietilenglicol.

30 Se puede preparar el aditivo alimentario de la presente invención por el mismo método que en el caso de las preparaciones orales anteriores. El aditivo alimentario se procesa y produce en la forma de, por ejemplo, polvos, gránulos, aglomerados, comprimidos o diversas preparaciones líquidas añadiendo o disolviendo usualmente otros aditivos alimentarios según se requiera.

35 Como el alimento y la bebida de la presente invención, se pueden mencionar los que contienen glutatión.

40 El alimento y la bebida de la presente invención se pueden procesar y producir utilizando métodos generales para la producción de alimentos y bebidas excepto que se añade glutatión al alimento y la bebida.

Se describen también en el presente documento alimentos y bebidas que contienen catequina.

45 El alimento y la bebida de la presente invención se pueden producir utilizando, por ejemplo, métodos de granulación tales como granulación en lecho fluidizado, granulación por agitación, granulación por extrusión, granulación por compactación, granulación por corriente de aire, granulación mediante moldeo por compresión, granulación por aplastamiento, granulación mediante pulverización y granulación por chorro, revestimiento en bandejas, revestimiento mediante lecho fluidizado y revestimiento húmedo, métodos de purificación tales como secado por soplado, método de vaporización en exceso, método de la esterilla de espuma y método de calentamiento por microondas, y métodos de extrusión usando un granulador de extrusión, una extrusora, o similares.

50 Los ejemplos de alimentos y bebidas de la presente invención zumos, bebidas sin alcohol, té, productos lácteos tales como bebidas con bacterias acidolácticas, leche fermentada, helados, mantequilla, queso, yogur, leche procesada y leche desnatada, productos cárnicos tales como jamón, salchichas y hamburguesas, productos de pasta preparada con carne de pescado tales como *kamaboko*, *chikuwa* y *satsumaage*, ovoproductos tales como *dashimaki* y *tamagodofu*, confitería tal como galletas, jaleas, chicles, golosinas, golosinas y aperitivos medicinales, pan, fideos, encurtidos, pescado y carne ahumada, pescado seco, *tsukudani* (alimento untado con salsa de soja), alimentos salados, sopa y condimentos.

55 Se puede preparar una golosina medicinal que contenga una o más sustancias seleccionadas entre glutatión y catequina de acuerdo con la patente de los estados Unidos N° 3.439.089.

60 El alimento y la bebida de la presente invención pueden tomar la forma de un alimento en polvo, un alimento con forma de lámina, un alimento embotellado, un alimento enlatado, un alimento envasado en una bolsa de tipo retorta, un alimento en cápsulas, un alimento en comprimidos, un alimento líquido, una bebida nutritiva o similar.

- El alimento y la bebida de la presente invención se pueden usar como alimentos sanos, un alimento funcional o similar para prevenir o tratar enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Coronavirus. Es posible añadir al alimento y la bebida el aditivo alimentario de la presente invención los aditivos alimentarios usados generalmente en alimentos y bebidas, tales como un edulcorante, un agente colorante, un conservante, un estabilizante para el espesamiento, un antioxidante, un agente desarrollador del color, un agente blanqueante, un agente antifúngico, una base de una goma, un agente de amargor, una enzima, cera, un agente de amargor, un condimento, un emulsionante, un suplemento nutritivo, un agente facilitador de la fabricación, un aroma y un extracto de especias.
- La cantidad de glutatión que se va a añadir al alimento y a la bebida de la presente invención o la cantidad del aditivo alimentario de la presente invención que se va a añadir al anterior se selecciona de manera adecuada de acuerdo con el tipo de alimento y la bebida, el efecto deseado de la inyección del alimento y la bebida, y similares. Es usualmente de 0,1 a 90 % en peso, preferentemente de 1 a 70 % en peso, de forma especialmente preferente de 5 a 50 % en peso como glutatión.
- La cantidad a ingerir del alimento y la bebida de la presente invención varía dependiendo del modo de ingestión, la edad y el peso corporal de la persona que lo ingiere y similares. Es usualmente de 100 a 10.000 mg, preferentemente de 100 a 2.000 mg, más preferentemente de 200 a 1.000 mg por adulto por día como glutatión. Se describen también aquí un alimento y una bebida que comprenden una cantidad de ingestión de usualmente entre 100 µg a 500 mg, preferentemente de 100 µg a 100 mg, más preferentemente de 200 µg a 50 mg por adulto por día como catequina. El alimento y la bebida de la presente invención se ingieren en una vez o en varias porciones al día. Aunque el periodo de ingestión no está particularmente limitado, es usualmente de un día a un año, preferentemente de una semana a tres meses.
- Se puede preparar el aditivo alimentario de la presente invención mediante el mismo método que en el caso de las preparaciones orales de la presente invención. El aditivo alimentario se procesa y produce en la forma de, por ejemplo, polvos, gránulos, aglomerados, comprimidos o diversas preparaciones líquidas añadiendo o disolviendo usualmente otros aditivos alimentarios según se requiera.
- Los ejemplos de aditivos alimentarios pueden incluir los anteriores aditivos alimentarios que se pueden añadir al alimento y la bebida de la presente invención, tales como un edulcorante, un agente colorante, un conservante, un estabilizante para el espesamiento, un antioxidante, un agente desarrollador del color, un agente blanqueante, un agente antifúngico, una base de goma, un agente de amargor, una enzima, cera, un agente de amargor, un condimento, un emulsionante, un suplemento nutritivo, un agente facilitador de la fabricación, un aroma y un extracto de especias.
- El alimento de la presente invención se puede usar como alimento para prevenir o tratar enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Coronavirus en mamíferos o pájaros, por ejemplo, como alimento para ganadería tal como vacas, caballos y cerdos y como alimento para aves de corral tales como pollos y pavos.
- El alimento de la presente invención se puede procesar y producir mediante métodos generales para la producción de alimentos excepto que se añade al alimento el glutatión o el aditivo alimentario de la presente invención.
- Los ejemplos de alimentos incluyen cereales, paja y salvado, tortas con aceites vegetales, alimentos derivados de animales, otros alimentos, productos purificados, una de sus mezclas y similares.
- Los ejemplos de cereales incluyen mijo, trigo, cebada, avena, centeno, arroz integral, alforfón, setaria de Italia, mijo común, mijo japonés, maíz, soja y similares.
- Los ejemplos de paja y salvado incluyen salvado de arroz, salvado de arroz desgrasado, salvado de trigo, harina de trigo, germen de trigo, salvado de cebada, aglomerado, salvado de maíz, germen de maíz y similares.
- Los ejemplos de tortas de aceite vegetal incluyen totas de aceite de soja, harina de soja, torta de aceite de linaza, torta de aceite de semillas de algodón, torta de aceite de cacahuete, torta de aceite de cártamo, torta de aceite de coco, torta de aceite de palma, torta de aceite de sésamo, torta de aceite de girasol, torta de aceite de semillas de colza, torta de aceite de kapok, torta de aceite de mostaza y similares.
- Los ejemplos de alimentos derivados de animales incluyen harina de pescado tal como harina de océanos septentrionales, harina de pescado importada, harina de pescado completa y harina de pescado de zonas costeras, componentes solubles de pescado, harina de carne, harina de carne y de animales pequeños, harina de sangre, pelo descompuesto, harina de huesos, subproductos de deshecho de ganadería, harina de plumas, pupas de gusanos de seda, leche en polvo desnatada, caseína, suero en polvo y similares.
- Los ejemplos de otros alimentos incluyen tallos y hojas de plantas tales como alfalfa, pacas de heno, harina de hojas de alfalfa y polvo de falsa acacia, subproductos de la industria de procesamiento del maíz, tales como gluten de maíz, harina, alimento de gluten de maíz y licor de maíz picado, productos de almidón procesado tales como

almidón, productos industriales de la fermentación tales como levaduras, afrecho cervecero, raicillas de malta, torta de alcohol y torta de salsa de soja, subproductos del procesamiento de productos agrícolas tales como torta de frutos cítricos procesados, torta de *tofu* (cuajada de soja), torta de café y torta de cacao, yuca, habas, harina de guar, algas, krill, espirulina, chlorella, minerales y similares.

5 Los ejemplos de productos purificados incluyen proteínas tales como caseína y albúmina, aminoácidos, almidón, celulosa, azúcares tales como sacarosa y glucosa, minerales, vitaminas y similares.

10 El alimento de la presente invención puede producirse utilizando, por ejemplo, métodos de granulación tales como granulación en lecho fluidizado, granulación por agitación, granulación por extrusión, granulación por compactación, granulación por corriente de aire, granulación mediante moldeo por compresión, granulación por aplastamiento, granulación mediante pulverización y granulación por chorro, revestimiento en bandejas, revestimiento mediante lecho fluidizado y revestimiento húmedo, métodos de purificación tales como secado por soplado, método de vaporización en exceso, método de la esterilla de espuma y método de calentamiento por microondas, métodos de extrusión que utilizan un granulador por extrusión o una extrusora, o similares.

15 La cantidad de glutatión o del aditivo alimentario que se va a añadir al alimento de la presente invención se selecciona de manera adecuada de acuerdo con el tipo de alimento, el efecto deseado de la ingestión del alimento y similares. Es usualmente de 0,001 a 100 % en peso, preferentemente de 0,01 a 80 % en peso, de forma especialmente preferente de 0,1 a 60 % en peso como glutatión. Se describen también en el presente documento aditivos alimentarios que comprenden catequina.

20 La dosis oral, concretamente la cantidad a ingerir del alimento de la presente invención varía dependiendo del modo de ingestión, el tipo, la edad y el peso corporal del animal que lo va a ingerir, y similares. Es usualmente de 0,1 mg a 10 g, preferentemente de 1 mg a 5 g, más preferentemente de 10 mg a 1 g por kg de peso corporal por día para los animales como glutatión. Se describe también en el presente documento un alimento que comprende la dosis oral de usualmente entre 0,1 µg a 0,5 g, preferentemente de 1 µg a 0,25 g, más preferentemente de 10 µg a 0,5 g por kg de peso corporal por día para animales como catequina. El alimento de la presente invención se ingiere en una vez o en varias porciones al día. Aunque el periodo de ingestión no está particularmente limitado, es usualmente de un día a cinco años, preferentemente de dos semanas a un año.

30 El efecto inhibitor del crecimiento del glutatión para el virus que pertenece a la familia de los Coronavirus se demostró en el Ejemplo de ensayo 1.

35 Ejemplo de ensayo 1

Se incubaron células Madin Darby Bovin Kidney (MDBK) (ATCC CCL-22) en una placa de 48 pocillos de tal manera que las células fueron confluentes en un 90 %, y a continuación se lavaron dos veces con una solución salina tamponada con fosfato (PBS).

40 Cada cepa Kakegawa de coronavirus bovino (BCV) (procurada de Nippon Zenyaku Kogyo Co., Ltd.) [2,56 a 256 títulos de hemaglutinina (HA)/25 µl] y la cepa Mebus (ATCC VR-874) (0,064 y 0,64 títulos de HA /25 µl) en diversas concentraciones, se diluyeron estas cepas con medio esencial mínimo (MEM) exento de suero de feto bovino (FBS) [Science, 122, 501 (1952)], se inoculó en una cantidad de 200 µl/pocillo, y se incubó a 37 °C durante 90 minutos moviendo a la vez una placa a intervalos de 15 minutos. Tras lavar la solución de cultivo tres veces con PBS, se añadieron al anterior 500 µl/pocillo de MEM que contenía FBS al 5 % que contenía 1, 5, 10, 20 o 30 mmol/l de glutatión reducido, y la mezcla se incubó adicionalmente a 37 °C. Durante la incubación, se recuperaron 100 µl del sobrenadante a las 24, 48, 72 y 96 horas para medir los títulos de hemaglutinina (HA).

50 Se midieron los títulos de HA añadiendo 25 µl de PBS que contenía BSA al 0,03 % a cada pocillo, añadiendo 25 µl del sobrenadante del cultivo de BCV a la anterior mediante diluciones múltiples, añadiendo glóbulos rojos de inmovilización de ratón al 0,8 % al anterior y midiendo una reacción de aglutinación de glóbulos rojos después de 3 horas.

55 Los resultados se muestran en la Fig. 1. Además, en la Fig. 2 se muestran los resultados de medir el título de HA en el curso del tiempo tras la adición de glutatión reducido.

Las Figs. 1 y 2 revelan que el glutatión reducido tiene el efecto de inhibir el crecimiento de coronavirus.

60 Se demostró un efecto de prevención de la infección vírica por la catequina en los Ejemplos de ensayo 2 y 3 siguientes.

Ejemplo de ensayo 2

65 Se incubaron células MDBK en placas de 48 pocillos de tal manera que las células fueron confluentes hasta el 90 %, y a continuación se lavaron dos veces con PBS.

La cepa BCV Kakegawa con una dosis infecciosa de cultivo de tejido al 50 % (TCID₅₀) de 1,8 x 10⁸/ml y 1 mg/ml de catequina (EGCg: procurada de Pharma Foods International Co., Ltd.) se puso en contacto a 25 °C o 37 °C durante 30, 60 o 90 minutos respectivamente, y a continuación se realizaron diluciones en serie 10 veces con MEM.

La solución diluida del virus se inoculó en células MDBK, y se incubó a 37 °C durante 90 minutos moviendo a la vez una placa a intervalos de 15 minutos. Después, las células se lavaron tres veces con PBS, se añadió MEM que contenía FBS al 5 % en una cantidad de 500 µl/pocillo, y se realizó la incubación durante 72 horas. Posteriormente, las células infectadas con el virus se identificaron con un efecto de desnaturalización celular para medir la TCID₅₀. Los resultados se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1

Condiciones		10 ⁽ⁿ⁾ TCID ₅₀ /ml	
Temperatura	Tiempo de contacto (min)	Control (sin tratamiento de EGCg)	Virus tratado con EGCg
25 °C	30	7,25	5,75
	30	8,25	4,25
37 °C	60	7,75	<2,75
	90	6,50	<2,00

La Tabla 1 revela que la catequina tiene un efecto de prevenir las enfermedades infecciosas de coronavirus.

Ejemplo de ensayo 3

Se incubaron células MDBK en placas de 48 pocillos de tal manera que las células fueron confluentes hasta el 90 %, y a continuación se lavaron dos veces con PBS.

BVDV(ATCC VR524) con 1,4 x 10⁵ TCID₅₀/ml y 1 mg/ml de catequina (EGCg: procurado de Pharma Foods International Co., Ltd.) se pusieron en contacto a 37 °C durante 30, 60 o 90 minutos, a continuación se inocularon en células MDBK, y se incubaron durante 90 minutos moviendo a la vez una placa a intervalos de 15 minutos. Se lavaron las células tres veces con PBS, y se añadió al anterior MEM que contenía FBS al 5 %. La incubación se realizó además a 37 °C durante 6 días.

Tras la finalización de la incubación, se detectó ADN derivado de BVDV en las células MDBK mediante RT-PCR para confirmar si las células se infectaron o no con el virus. En consecuencia, el ADN derivado de BVDV no fue detectable dependiendo del tiempo de tratamiento con catequina, y no se detectó en toda la zona experimental para el contacto durante 90 minutos.

Los resultados revelan que la catequina tiene un efecto de prevenir las enfermedades infecciosas por flavivirus.

Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 son gráficas que muestran los efectos de inhibición del crecimiento de coronavirus por el glutatión reducido. La gráfica A muestra los resultados en el caso de usar la cepa Kakegawa como BCV, y la gráfica B muestra los resultados en el caso de usar la cepa Mebus como BCV. ●, ○ y □ en la gráfica A indican los resultados de las cepas Kakegawa con HA 256, HA 25,6 y HA 2,56, respectivamente. ● y ○ en la gráfica B indican los resultados de las cepas Mebus con HA 0,64 y HA 0,064, respectivamente. El eje de abscisas de las gráficas indica la concentración del glutatión reducido, y el eje de ordenadas del mismo indica los títulos de hemaglutinina (HA).

La Fig. 2 es una gráfica que muestra el efecto de inhibición del crecimiento de coronavirus en el curso del tiempo por el glutatión reducido. La gráfica A muestra los resultados en el caso de usar la cepa Kakegawa como BCV, y la gráfica B muestra los resultados en el caso de usar la cepa Mebus como BCV. ●, ○, ◆, □, ◇, y Δ en las gráficas indica los resultados del glutatión reducido en cantidades de 0, 1, 5, 10, 20 y 30 mmol/l, respectivamente. El eje de abscisas de las gráficas indica el tiempo que transcurre entre el contacto de las células y el coronavirus, y el eje de ordenadas del mismo indica los títulos de hemaglutinina (HA).

Se describen a continuación ejemplos de la presente invención.

Mejor modo de llevar a cabo la invención

Ejemplo 1

Preparación de un agente de pulverización intranasal para prevenir o tratar enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Coronavirus. Se describe también el presente documento un agente de

pulverización intranasal para prevenir o tratar las enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Flavivirus

5 Se preparó un agente de pulverización intranasal que contenía glutatión oxidado o glutatión reducido añadiendo y disolviendo 3 mg de glutatión oxidado o de glutatión reducido en 1 ml de una solución salina fisiológica [solución acuosa de cloruro de sodio al 0,9 % (en p/v)].

Se describe también en el presente documento un agente de pulverización intranasal que contiene catequina, que se prepara disolviendo 3 mg de catequina en 1 ml de solución salina fisiológica.

10 Se describe también en el presente documento un agente de pulverización intranasal que contiene glutatión oxidado o glutatión reducido y catequina, que se prepara disolviendo 3 mg de glutatión oxidado o glutatión reducido y 3 mg de catequina en 1 ml de solución salina fisiológica.

Ejemplo 2

15 Preparación de un agente de pulverización intranasal para prevenir o tratar enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Coronavirus o a la familia de los Flavivirus (1)

20 Se preparó un agente de pulverización intranasal que contenía glutatión reducido que contiene los siguientes ingredientes.

Glutatión reducido	1,0 g
Acetato de sodio	0,3 g
Metilparabeno	0,1 g
propilparabeno	0,02 g
Cloruro sódico	cantidad requerida para la tensión
Ácido clorhídrico o hidróxido de sodio	cantidad requerida para ajuste del pH
Agua pura	cantidad para ajustar un volumen total a 100 ml

25 Se describe también en el presente documento un agente de pulverización intranasal que contiene catequina, que se prepara utilizando 1 g de catequina en vez de glutatión reducido en la anterior composición.

Se describe también en el presente documento un agente de pulverización intranasal que contiene glutatión reducido y se prepara catequina añadiendo 1 g de catequina a la anterior composición.

Ejemplo 3

30 Preparación de un agente de pulverización intranasal para prevenir o tratar enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Coronavirus. Se describe también en el presente documento una preparación de un agente de pulverización intranasal para prevenir o tratar las enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Flavivirus (2)

35 Se preparó un agente de pulverización intranasal que contenía glutatión que contiene los siguientes ingredientes.

Glutatión oxidado	1,0 g
Acetato de sodio	0,3 g
Metilparabeno	0,1 g
propilparabeno	0,02 g
Cloruro sódico	cantidad requerida para la tensión
Ácido clorhídrico o hidróxido de sodio	cantidad requerida para ajuste del pH
Agua pura	cantidad para ajustar un volumen total a 100 ml

40 Se describe también en el presente documento un agente de pulverización intranasal que contiene glutatión oxidado y catequina, que se prepara añadiendo 1 g de catequina a la anterior composición.

Ejemplo 4

45 Preparación de gotas para prevenir o tratar enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Coronavirus. Se describe también en el presente documento una preparación de gotas para prevenir o tratar las enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Flavivirus (1)

50 Las gotas que contienen glutatión reducido se preparar usando la siguiente base de gulosinas y de mezcla de fármacos.

Base de gulosinas:
Maltitol (tamaño de grano medio) 35,0 kg

ES 2 542 985 T3

Jarabe de maíz 43°Be 21,0 kg

Mezcla de fármacos:

Polietilenglicol (peso molecular 6000)	2,75 kg
Glutación reducido	5,0 kg
Ácido cítrico	60,0 kg
Aroma artificial a cereza silvestre	60,0 g

La preparación de la base de golosina se realizó como sigue.

5 Se disolvió el maltitol en 5,5 litros de agua, se añadió al anterior el jarabe de maíz que contenía la glucosa, y a continuación se mezclaron completamente. En este momento se añade cualquier colorante deseado según sea necesario para proporcionar el color deseado. Se usa un colorante que se pueda disolver bien.

10 La mezcla se introdujo en un hervidor con camisa de vapor calentado a 125 °C. Desde el hervidor, la mezcla se trasvasó a un recipiente de almacenamiento mediante una bomba, y se alimentó a una olla continua. Mientras el jarabe pasaba a través de un serpentín de la olla, la temperatura alcanza 125 a 150 °C. A continuación, el producto se alimentó a un hervidor de recepción que se mantuvo a vacío de 28 a 29 pulgadas (71,12 a 73,66 cm) mediante un eyector de vapor a vacío durante aproximadamente 6 a 7 minutos. Durante este tiempo, se eliminó el agua hasta que el contenido de agua se redujo a aproximadamente un 1 % o menos para formar una base de golosina fundida adecuada. La base de golosina fundida se enfrió lentamente para preparar una base de golosina.

20 Posteriormente, se añadieron el glutación reducido, el ácido cítrico y el aroma artificial (en polvo) al polietileno para formar una mezcla de fármaco. La mezcla se calienta a continuación a aproximadamente 90 °C para la fluidización de la misma. La mezcla de fluido caliente resultante se añadió rápidamente a la base de golosina fundida (cuya temperatura se redujo a aproximadamente 100 °C o a una temperatura ligeramente inferior que la de la temperatura) mientras que se mezclaba adecuadamente. A continuación, todo el trozo se amasó completamente, y se llevó a una hiladora. El producto resultante se extruyó a un troquel formador de pastillas para chupar para preparar gotas que contenían glutación reducido.

25 Se describen también en el presente documento gotas que contienen catequina, que se preparan utilizando 5,0 kg de catequina en vez de glutación reducido en el método anterior.

30 Se describen también en el presente documento gotas que contienen glutación reducido y catequina, que se preparan utilizando 5,0 kg de catequina en vez de glutación reducido en el método anterior.

Ejemplo 5

35 Preparación de gotas para prevenir o tratar enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Coronavirus. Se describe también en el presente documento una preparación de gotas para prevenir o tratar las enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Flavivirus (2)

40 La mezcla de fármaco que contiene el trozo de golosina fundido obtenido en el Ejemplo 4 se vertió en una mesa de enfriamiento, se solidificó en un trozo semisólido en la mesa de enfriamiento, y a continuación se conformó en la forma deseada para ingerir una cantidad de ingestión unitaria de glutación reducido para preparar gotas que contienen glutación reducido. Se describen también en el presente documento gotas que contienen catequina o gotas que contienen glutación reducido y catequina.

Ejemplo 6

45 Preparación de gotas para prevenir o tratar enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Coronavirus. Se describe también en el presente documento la preparación de gotas para prevenir o tratar las enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Flavivirus (3)

50 Las gotas que contienen glutación oxidado se preparan usando la siguiente base de golosinas y de mezcla de fármacos.

Base de golosinas:

Maltitol (tamaño de grano medio]	35,0 kg
Jarabe de maíz 43°Be	21,0 kg
Mezcla de fármacos:	
Polietilenglicol (peso molecular 6000)	2,75 kg
Glutación oxidado	5,0 kg
Ácido cítrico	60,0 kg
Aroma artificial a cereza silvestre	60,0 g

La preparación de la base de golosina se realizó como sigue.

5 Se disolvió el maltitol en 5,5 litros de agua, se añadió al anterior el jarabe de maíz que contenía la glucosa, y a continuación se mezclaron completamente. En este momento, se añadió cualquier colorante deseado según se requiera para dar el color deseado. Se usa un colorante que se pueda disolver bien. Se usa un colorante que se pueda disolver bien.

10 La mezcla se introdujo en un hervidor con camisa de vapor calentado a 125 °C. Desde dicho hervidor, la mezcla se trasvasó a un recipiente de almacenamiento mediante una bomba, y se alimentó a una olla continua. Mientras el jarabe pasaba a través de un serpentín de la olla, la temperatura alcanza 125 a 150 °C. A continuación, el producto se alimentó a un hervidor de recepción que se mantuvo a vacío de 28 a 29 pulgadas (71,12 a 73,66 cm) mediante un eyector de vapor a vacío durante aproximadamente 6 a 7 minutos. Durante este tiempo, se eliminó el agua hasta que el contenido de agua se redujo a aproximadamente un 1 % o menos para formar una base de golosina fundida adecuada. La base de golosina fundida se enfrió lentamente para preparar una base de gotas.

15 Posteriormente, se añadieron el glutatión oxidado, el ácido cítrico y el aroma artificial (en polvo) al polietilenglicol para formar una mezcla de fármaco. A continuación se calentó la mezcla a aproximadamente 90 °C para fluidizar esta. La mezcla de fluido caliente resultante se añadió rápidamente a la base de golosina fundida (cuya temperatura se redujo a aproximadamente 100 °C o a una temperatura ligeramente inferior que la de la temperatura) mientras que se mezclaba adecuadamente. A continuación, todo el trozo se amasó completamente, y se llevó a una hiladora. El producto resultante se extruyó a un troquel formador de pastillas para chupar para preparar gotas que contenían glutatión reducido.

25 Se describen también en el presente documento gotas que contienen catequina, que se preparan utilizando 5,0 kg de catequina en vez de glutatión oxidado en el método anterior.

30 Se describen también en el presente documento gotas que contienen glutatión oxidado y catequina, que se preparan utilizando 5,0 kg de catequina junto con glutatión oxidado en el método anterior.

Ejemplo 7

35 Preparación de gotas para prevenir o tratar enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Coronavirus. Se describe también en el presente documento la preparación de gotas para prevenir o tratar las enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Flavivirus (4)

40 La mezcla de fármaco que contiene el trozo de golosina fundido obtenido en el Ejemplo 6 se vertió en una mesa de enfriamiento, y se solidificó en un trozo semisólido en la mesa de enfriamiento. A continuación, el trozo se conformó en la forma deseada para ingerir una cantidad de ingestión unitaria de glutatión oxidado para preparar gotas que contienen glutatión oxidado. Se describe también en el presente documento una preparación de gotas que contienen catequina o glutatión oxidado y catequina.

Disponibilidad industrial

45 La presente invención proporciona una composición para prevenir o tratar enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Coronavirus, que comprende al menos un miembro seleccionado entre el grupo que consiste en glutationes reducidos y oxidados, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición para su uso en la prevención de enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Coronavirus que comprende un miembro seleccionado entre glutaciones reducidos y oxidados, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.
- 10 2. La composición para su uso en la prevención de enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Coronavirus de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende glutatión reducido u oxidado, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 15 3. La composición para su uso en la prevención de las enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Coronavirus de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que comprende además uno o más antioxidantes.
- 20 4. La composición para su uso en la prevención de enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Coronavirus de acuerdo con uno cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que el virus que pertenece a la familia de los Coronavirus es el virus del síndrome respiratorio agudo grave (abreviado a partir de ahora en el presente documento como SARS).
- 25 5. Una composición para su uso en la prevención de enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Coronavirus de acuerdo con uno cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que es una preparación farmacéutica.
- 30 6. Una composición para su uso en la prevención de enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Coronavirus de acuerdo con la reivindicación 5, en la que la preparación farmacéutica es una preparación oral, una solución de inyección, un aerosol nasal o un inhalador.
- 35 7. Una composición para su uso en la prevención de enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Coronavirus de acuerdo con uno cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que es un alimento, una alimentación, un aditivo alimentario o un aditivo para alimentación.
- 40 8. La composición para su uso en la prevención de enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Coronavirus de la reivindicación 6, que es un aerosol nasal.
9. Uso de al menos un miembro seleccionado entre el grupo que consiste en glutaciones reducidos y oxidados, sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la fabricación de una composición para su uso en la prevención de las enfermedades infecciosas de un virus que pertenece a la familia de los Coronavirus.
10. Uso de acuerdo con la reivindicación 9, en el que al menos un miembro seleccionado entre el grupo que consiste en glutaciones reducidos y oxidados, las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos son glutatión reducido o glutatión oxidado, o sales farmacéuticamente aceptable de los mismos.
11. El uso de acuerdo con las reivindicaciones 9 y 10, en el que el virus que pertenece a la familia de los Coronavirus es el virus SARS.

Figura 1

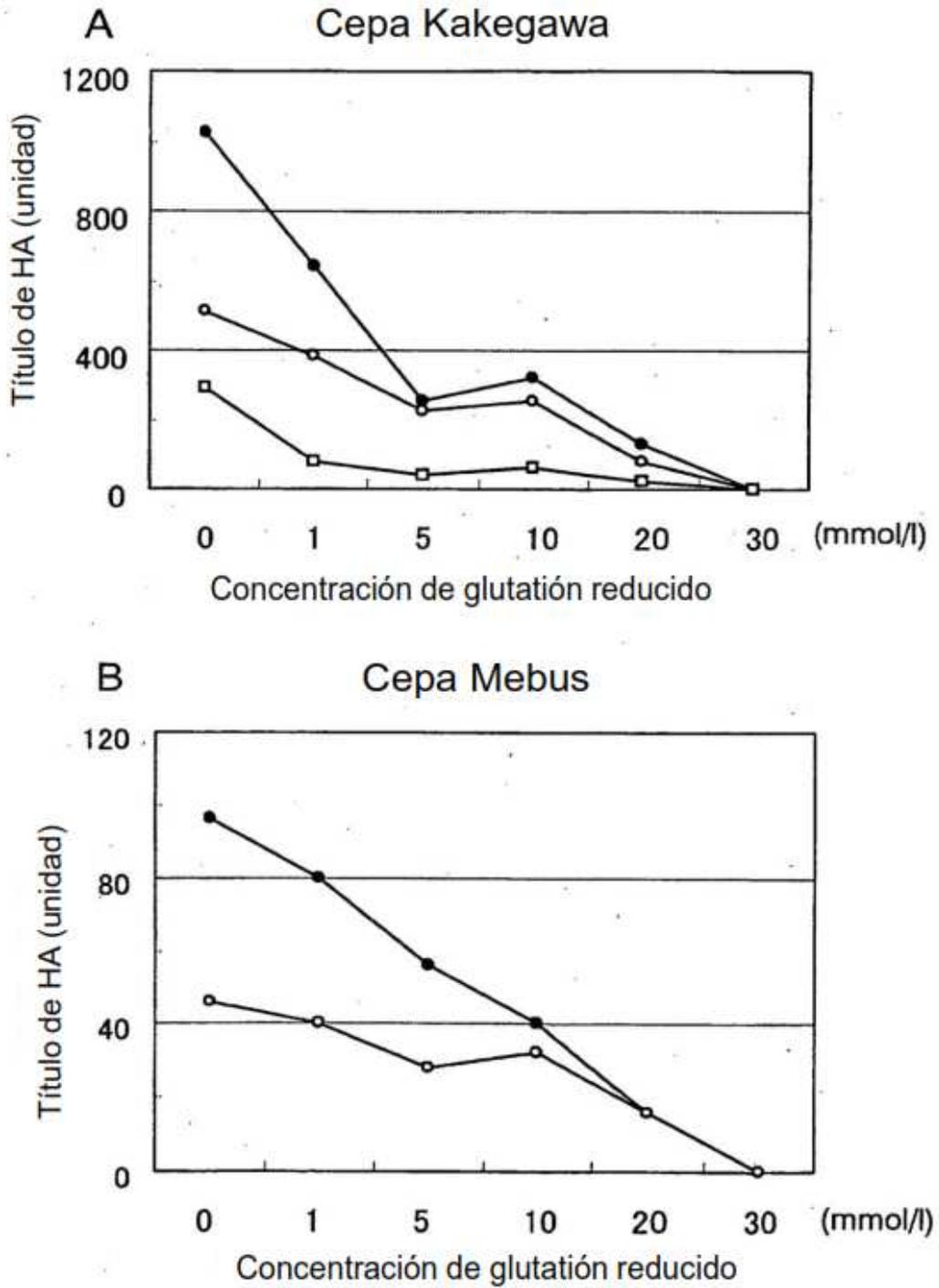


Figura 2

