

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 929 379**

51 Int. Cl.:

A61K 31/4196 (2006.01)
A61K 31/427 (2006.01)
A61K 31/4706 (2006.01)
A61K 31/513 (2006.01)
A61K 31/706 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01)
A61K 31/685 (2006.01)
A61K 38/21 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.05.2020** **E 20305525 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.09.2022** **EP 3912627**

54 Título: **Métodos para el tratamiento de infecciones por coronavirus**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
28.11.2022

73 Titular/es:

INSERM (INSTITUT NATIONAL DE LA SANTÉ ET DE LA RECHERCHE MÉDICALE) (25.0%)
101 rue de Tolbiac
75013 Paris, FR;
UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD LYON 1 (25.0%);
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE -CNRS- (25.0%) y
ECOLE NORMALE SUPÉRIEURE DE LYON (25.0%)

72 Inventor/es:

VIDALAIN, PIERRE-OLIVIER;
LOTTEAU, VINCENT;
JANIN, YVES LOUIS;
NOUGAIREDE, ANTOINE;
TOURET, FRANCK;
DE LAMBALLERIE, XAVIER y
ANDRE, PATRICE

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 929 379 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

Métodos para el tratamiento de infecciones por coronavirus

5 **Campo**

La presente divulgación se encuentra en el campo de la medicina, en particular de la virología.

10 **Antecedentes**

10 *Coronaviridae* es una familia de virus envueltos de ARN monocatenario de sentido positivo. El genoma viral tiene una longitud de 26-32 kilobases. Las partículas están compuestas normalmente por proyecciones superficiales claviformes o con forma de pétalo grandes (~20 nm) (“peplómeros” o “espículas”), que en las micrografías electrónicas de partículas esféricas crean una imagen que recuerda a la corona solar. A finales de diciembre de 15 2019, surgió un nuevo betacoronavirus SARS-CoV-2 en Wuhan, China [1-3]. La Organización Mundial de la Salud ha denominado a la grave neumonía provocada por este nuevo coronavirus COVID-19 (para enfermedad por coronavirus de 2019, OMS, 2020). Desde su aparición, el SARS-CoV-2 se ha propagado a 159 países a través de los cinco continentes provocando, en el momento de la redacción, aproximadamente 213.254 infecciones en seres humanos con 81.238 casos en China (ECDC, 19 de marzo de 2020). Europa se ha 20 convertido recientemente en el epicentro de la epidemia de COVID-19 con 82.869 casos confirmados; informándose la mayoría de ellos en Italia con 35.713 casos y 2978 muertes. En Francia, el número de casos confirmados está aumentando con aproximadamente 10.995 y 372 muertes a mediados de marzo de 2019 (Salud Pública de Francia). Para luchar contra la pandemia de COVID-19 a largo plazo, además de las medidas de contención implementadas en muchos países, se han puesto en marcha varios proyectos en todo el mundo 25 para comprender la evolución viral y las consecuencias fisiopatológicas de la infección para identificar dianas terapéuticas e implementar terapias innovadoras.

30 R. Xiong *et al.* dan a conocer inhibidores de DHODH y sus efectos antivirales contra diversos virus de ARN, incluyendo SARS-CoV-2 (Rui Xiong *et al.* “Novel and potent inhibitors targeting DHODH, a rate-limiting enzyme in de novo pyrimidine biosynthesis, are broad-spectrum antiviral against RNA viruses including newly emerged coronavirus SARS-CoV-2”, bioRxiv 2020.03.11.983056).

35 S. Christian *et al.* dan a conocer BAY2402234 como un novedoso inhibidor de dihidroorotato deshidrogenasa (DHODH) eficaz en el tratamiento de neoplasias malignas mielógenas, tales como leucemia mielógena aguda (S. Christian *et al.* “The novel dihydroorotate dehydrogenase (DHODH) inhibitor BAY 2402234 triggers differentiation and is effective in the treatment of myeloid malignancies”. *Leukemia* 33, 2403-2415 (2019).

40 S. Awadhesh Kumar *et al.* dan a conocer remdesivir como agente terapéutico en el tratamiento de COVID-19 (Singh, (Awadhesh Kumar *et al.* “Remdesivir in COVID-19: A critical review of pharmacology, pre-clinical and clinical studies.” *Diabetes & metabolic syndrome* vol. 14,4 (2020): 641-648).

50 **Sumario**

45 Tal como se define mediante las reivindicaciones, la presente invención se refiere a N-(2-cloro-6-fluorofenil)-4-[4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-1,2,4-triazol-1-il]-5-fluoro-2-[(2S)-1,1,1-trifluoropropan-2-il]oxibenzamida para su uso en un método de tratamiento de una infección por coronavirus en un sujeto que lo necesita. La descripción detallada, las figuras y el ejemplo siguientes no están dentro del alcance de la presente invención y se presentan sólo con fines de comprensión e ilustración. En particular, la presente invención se define mediante las 50 reivindicaciones.

Descripción detallada

55 La presente divulgación se refiere a N-(2-cloro-6-fluorofenil)-4-[4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-1,2,4-triazol-1-il]-5-fluoro-2-[(2S)-1,1,1-trifluoropropan-2-il]oxibenzamida para su uso en un método de tratamiento de una infección por coronavirus en un sujeto que lo necesita.

60 Tal como se usa en el presente documento, el término “coronavirus” tiene su significado general en la técnica y se refiere a cualquier miembro de los miembros de la familia *Coronaviridae*. El coronavirus es un virus cuyo genoma es ARN de cadena positiva de aproximadamente 27 kb a aproximadamente 33 kb de longitud dependiendo del virus particular. El ARN de virión tiene una caperuza en el extremo 5' y una cola de poli A en el extremo 3'. La longitud del ARN hace que los coronavirus sean los genomas de virus de ARN más largos. En particular, los ARN de coronavirus codifican para: (1) una ARN polimerasa dependiente de ARN; (2) una N-proteína; (3) tres glicoproteínas de la envoltura; más (4) tres proteínas no estructurales. Estos coronavirus infectan a una variedad de mamíferos y aves. Provocan infecciones respiratorias (comunes), infecciones 65 intestinales (principalmente en lactantes >12 meses) y posiblemente síndromes neurológicos. Los coronavirus se transmiten por los aerosoles de las secreciones respiratorias. Los coronavirus se ejemplifican por, pero no se

limitan a, coV intestinal humano (n.º de registro de ATCC VR-1475), coV 229E humano (n.º de registro de ATCC VR-740), coV OC43 humano (n.º de registro de ATCC VR-920), coronavirus relacionado con el síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS-Cov) y SARS-coronavirus (Centro para el Control de Enfermedades), en particular SARS-Cov1 y SARS-Cov2.

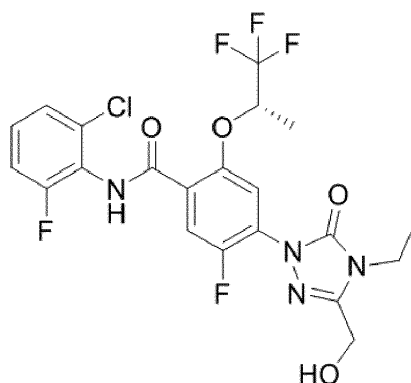
5 Según la presente divulgación, el compuesto de la presente divulgación es particularmente adecuado para inhibir la replicación del coronavirus tal como se demuestra en el ejemplo.

10 En particular, el compuesto de la presente divulgación es adecuado para el tratamiento de síndrome respiratorio agudo grave (SARS). Más particularmente, el compuesto de la presente divulgación es adecuado para el tratamiento de COVID-19.

15 En particular, el sujeto puede ser un ser humano o cualquier otro animal (por ejemplo, aves y mamíferos) susceptible de infección por coronavirus (por ejemplo, animales domésticos tales como gatos y perros; animales de ganado y granja tales como caballos, vacas, cerdos, pollos, etc.). Normalmente dicho sujeto es un mamífero incluyendo un no primate (por ejemplo, un camello, un burro, una cebra, una vaca, un cerdo, un caballo, una cabra, una oveja, un gato, un perro, una rata y un ratón) y un primate (por ejemplo, un mono, un chimpancé y un ser humano). En particular, el sujeto es un animal no humano. En particular, el sujeto es un animal de granja o una mascota. En particular, el sujeto es un ser humano. En particular, el sujeto es un lactante humano. En particular, el sujeto es un niño. En particular, el sujeto es un adulto humano. En particular, el sujeto es un humano anciano. En particular, el sujeto es un lactante humano prematuro.

25 Tal como se usa en el presente documento, el término “tratamiento” o “tratar” se refiere tanto a un tratamiento profiláctico o preventivo, así como a un tratamiento curativo o que modifica la enfermedad, incluyendo el tratamiento de un paciente en riesgo de contraer la enfermedad o que se sospecha que ha contraído la enfermedad, así como pacientes que están enfermos o a los que se les ha diagnosticado que padecen una enfermedad o un estado médico, e incluye la supresión de recaída clínica. El tratamiento puede administrarse a un paciente que tiene un trastorno médico o que finalmente puede adquirir el trastorno, para prevenir, curar, retrasar la aparición de, reducir la gravedad de, o mejorar uno o más síntomas de un trastorno o trastorno recurrente, o para prolongar la supervivencia de un paciente más allá de la esperada en ausencia de tal tratamiento. Por “régimen terapéutico” se entiende el patrón de tratamiento de una enfermedad, por ejemplo, el patrón de dosificación usado durante la terapia. Un régimen terapéutico puede incluir un régimen de inducción y un régimen de mantenimiento. La expresión “régimen de inducción” o “periodo de inducción” se refiere a un régimen terapéutico (o la parte de un régimen terapéutico) que se usa para el tratamiento inicial de una enfermedad. El objetivo general de un régimen de inducción es proporcionar un alto nivel de fármaco a un paciente durante el periodo inicial de un régimen de tratamiento. Un régimen de inducción puede emplear (en una parte o en su totalidad) un “régimen de carga”, que puede incluir administrar una mayor dosis del fármaco que la que emplearía un médico durante un régimen de mantenimiento, administrar un fármaco de manera más frecuente que la que un médico administraría el fármaco durante un régimen de mantenimiento, o ambos. La expresión “régimen de mantenimiento” o “periodo de mantenimiento” se refiere a un régimen terapéutico (o la parte de un régimen terapéutico) que se usa para el mantenimiento de un paciente durante el tratamiento de una enfermedad, por ejemplo, para mantener al paciente en remisión durante largos periodos de tiempo (meses o años). Un régimen de mantenimiento puede emplear terapia continua (por ejemplo, administrar un fármaco en un intervalo regular, por ejemplo, semanalmente, mensualmente, anualmente, etc.) o terapia intermitente (por ejemplo, tratamiento interrumpido, tratamiento intermitente, tratamiento en la recaída o tratamiento tras alcanzar unos criterios predeterminados particulares [por ejemplo, dolor, manifestación de la enfermedad, etc.]).

50 El compuesto de la presente divulgación también se denomina BAY-2402234 y se describe en el documento WO2018077923 y en Christian S, Merz C, Evans L, *et al.* The novel dihydroorotate dehydrogenase (DHODH) inhibitor BAY 2402234 triggers differentiation and is effective in the treatment of myeloid malignancies. *Leukemia*. 2019;33(10):2403 - 2415, así como en Andreas Janzer, *et al.* Abstract DDT02-04: BAY 2402234: A novel, selective dihydroorotate dehydrogenase (DHODH) inhibitor for the treatment of myeloid malignancies. AACR Annual Meeting 2018; 14-18 de abril de 2018; Chicago, IL. El compuesto tiene la fórmula de:



En particular, el compuesto de la presente divulgación se administra al sujeto en combinación con al menos otro agente terapéutico, preferiblemente en combinación con al menos otro agente antiviral, más preferiblemente en combinación con al menos otro agente antiviral seleccionado del grupo que consiste en remdesivir, lopinavir, ritonavir, hidroxicloroquina y cloroquina.

En particular, el compuesto de la presente divulgación se administra al sujeto en combinación con un polipéptido de interferón.

Tal como se usa en el presente documento, el término "polipéptido de interferón" o "polipéptido de IFN" se pretende que incluya cualquier polipéptido definido como tal en la bibliografía, que comprende por ejemplo cualquier tipo de IFN (tipo I y tipo II) y, en particular, IFN-alfa, IFN-beta, IFN-omega e IFN-gamma. El término polipéptido de interferón, tal como se usa en el presente documento, también se pretende que incluya sales, derivados funcionales, variantes, muteínas, proteínas fusionadas, análogos y fragmentos activos del mismo. Las secuencias de polipéptido para interferón-alfa humano están depositadas en las bases de datos con los números de registro: AAA 52716, AAA 52724 y AAA 52713. Las secuencias de polipéptido para interferón-beta humano están depositadas en las bases de datos con los números de registro AAC41702, NP_002167, AAH 96152, AAH 96153, AAH 96150, AAH 96151, AAH 69314 y AAH 36040. Las secuencias de polipéptido para interferón-gamma humano están depositadas en las bases de datos con los números de registro AAB 59534, AAM 28885, CAA 44325, AAK 95388, CAA 00226, AAP 20100, AAP 20098, AAK 53058 y NP-000610.

En particular, el interferón es interferón-alfa (IFN-a). El término "IFN-a" abarca derivados de IFN-a que se derivatizan (por ejemplo, se modifican químicamente en relación con el péptido que se produce de manera natural) para alterar determinadas propiedades tales como la semivida en suero. Como tal, el término "IFN-a" incluye IFN-a derivatizado con polietilenglicol ("IFN-a pegilado"), y similares. El IFN-a pegilado, y los métodos para preparar el mismo, se comentan, por ejemplo, en las patentes estadounidenses n.ºs 5.382.657; 5.951.974; y 5.981.709. El IFN-a pegilado abarca conjugados de PEG y cualquiera de las moléculas de IFN-a anteriormente descritas, incluyendo, pero sin limitarse a, PEG conjugado con interferón alfa-2a (Roferon, Hoffman La-Roche, Nutley, N.J.), interferón alfa-2b (Intron, Schering-Plough, Madison, N.J.), interferón alfa-2c (Berofor Alpha, Boehringer Ingelheim, Ingelheim, Alemania); e interferón de consenso tal como se define mediante la determinación de una secuencia consenso de interferones alfa que se producen de manera natural (Infergen®, InterMune, Inc., Brisbane, CA.). Por tanto, en particular, el IFN-a se ha modificado con uno o más restos de polietilenglicol, es decir, se ha pegilado. Dos formas de interferón pegilado, PEG-interferón alfa-2a (40 kD) (Pegasys, Hoffmann-La Roche) y PEG-interferón alfa-2b (12 kD) (PegIntron, Merck), están disponibles comercialmente, que difieren en cuanto a su farmacocinética, cinética viral, perfiles de tolerabilidad y, por tanto, dosificación. En particular, el PEG-interferón alfa-2a (Pegasys) consiste en interferón alfa-2a (~20 kD) unido covalentemente a un polietilenglicol (PEG) ramificado de 40 kD. El resto de PEG está unido en un único sitio al resto de interferón alfa a través de un enlace amida estable a lisina. El PEG-interferón alfa-2a tiene un peso molecular aproximado de 60.000 Dalton. La actividad biológica de PEG-interferón-alfa-2a deriva de su resto de interferón alfa-2a que influye en las respuestas inmunitarias tanto adaptativas como innatas contra determinados virus. En comparación con el interferón alfa-2a nativo, el PEG-interferón alfa-2a tiene absorción sostenida, aclaramiento retardado. El PEG-interferón alfa-2a se usa como dosis semanal fija. El PEG-interferón alfa-2a tiene una absorción relativamente constante después de la inyección y se distribuye principalmente en la sangre y los órganos.

Por una "cantidad terapéuticamente eficaz" del compuesto de la presente divulgación se entiende una cantidad suficiente del compuesto para tratar una infección por coronavirus a una relación beneficio/riesgo razonable aplicable a cualquier tratamiento médico. Sin embargo, se entenderá que el médico responsable decidirá el uso diario total de los compuestos y las composiciones de la presente divulgación dentro del alcance de la opinión médica razonable. El nivel de dosis terapéuticamente eficaz específico para cualquier paciente particular dependerá de una variedad de factores, incluyendo el trastorno que va a tratarse y la gravedad del trastorno; la actividad del compuesto específico empleado; la composición específica empleada, la edad, el peso corporal, la

salud general, el sexo y la dieta del paciente; el momento de la administración, la vía de administración y la tasa de excreción del compuesto específico empleado; la duración del tratamiento; los fármacos usados en combinación con el agonista específico empleado; y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas. Por ejemplo, se conoce bien dentro de los conocimientos de la técnica comenzar las dosis del compuesto a

5 niveles menores que los requeridos para lograr el efecto terapéutico deseado y aumentar gradualmente la dosificación hasta que se logra el efecto deseado. Sin embargo, la dosificación diaria de los productos puede variarse a lo largo de un amplio intervalo de desde 0,01 hasta 1.000 mg por adulto al día. Preferiblemente, las composiciones contienen 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1,0, 2,5, 5,0, 10,0, 15,0, 25,0, 50,0, 100, 250 y 500 mg del principio

10 activo para el ajuste sintomático de la dosificación al paciente que va a tratarse. Un medicamento contiene normalmente desde aproximadamente 0,01 mg hasta aproximadamente 500 mg del principio activo, preferiblemente desde 1 mg hasta aproximadamente 100 mg del principio activo. Una cantidad eficaz del fármaco se administra normalmente a un nivel de dosificación de desde 0,0002 mg/kg hasta aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal al día, especialmente desde aproximadamente 0,001 mg/kg hasta 7 mg/kg de peso corporal al día.

15 Normalmente, el compuesto de la presente divulgación puede combinarse con excipientes farmacéuticamente aceptables, y opcionalmente matrices de liberación sostenida, tales como polímeros biodegradables, para formar composiciones terapéuticas. "Farmacéuticamente" o "farmacéuticamente aceptable" se refiere a entidades moleculares y composiciones que no producen una reacción adversa, alérgica u otra desfavorable cuando se

20 administran a un mamífero, especialmente a un ser humano, según sea apropiado. Un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable se refiere a una carga sólida, semisólida o líquida, un diluyente, un material de encapsulación o un agente auxiliar de formulación no tóxicos de cualquier tipo. En las composiciones farmacéuticas de la presente divulgación para administración oral, sublingual, subcutánea, intramuscular, intravenosa, transdérmica, local o rectal, el principio activo, solo o en combinación con otro principio activo,

25 puede administrarse en una forma de administración unitaria, como mezcla con soportes farmacéuticos convencionales, a animales y seres humanos. Las formas de administración unitarias adecuadas comprenden formas para administración por vía oral tales como comprimidos, cápsulas de gelatina, polvos, gránulos y suspensiones o disoluciones orales, formas de administración sublinguales y bucales, aerosoles, implantes, formas de administración subcutáneas, transdérmicas, tópicas, intraperitoneales, intramusculares, intravenosas,

30 subdérmicas, transdérmicas, intratecales e intranasales y formas de administración rectales. Pueden realizarse adaptaciones galénicas para la administración específica en el intestino delgado o el colon. Preferiblemente, las composiciones farmacéuticas contienen vehículos que son farmacéuticamente aceptables para una formulación que puede inyectarse. Estas pueden ser en particular soluciones salinas estériles isotónicas (fosfato de monosodio o disodio, cloruro de sodio, potasio, calcio o magnesio, y similares o mezclas de tales sales), o

35 composiciones secas, especialmente secadas por congelación, que tras la adición, dependiendo del caso, de agua esterilizada o solución salina fisiológica, permiten la constitución de disoluciones inyectables. Las formas farmacéuticas adecuadas para el uso inyectable incluyen disoluciones o dispersiones acuosas estériles; formulaciones que incluyen aceite de sésamo, aceite de cacahuete o propilenglicol acuoso; y polvos estériles para la preparación extemporánea de disoluciones o dispersiones inyectables estériles. En todos los casos, la

40 forma debe ser estéril y debe ser fluida hasta tal grado que exista una fácil jeringabilidad. Debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y debe conservarse contra la acción contaminante de microorganismos, tales como bacterias y hongos. Las disoluciones que comprenden el compuesto de la divulgación como base libre o sales farmacológicamente aceptables pueden prepararse en agua mezcladas adecuadamente con un tensioactivo, tal como hidroxipropilcelulosa. Las dispersiones también pueden prepararse

45 en glicerol, polietilenglicoles líquidos, y mezclas de los mismos, y en aceites. En condiciones habituales de almacenamiento y uso, estas preparaciones contienen un conservante para impedir el crecimiento de microorganismos. El compuesto de la divulgación puede formularse en una composición en forma neutra o de sal. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales de adición de ácido (formadas con los grupos amino libres de la proteína) y que se forman con ácidos inorgánicos tales como, por ejemplo, ácidos clorhídrico o fosfórico, o ácidos orgánicos tales como acético, oxálico, tartárico, mandélico, y similares. Las sales formadas con los grupos carboxilo libres también pueden derivarse de bases inorgánicas tales como, por ejemplo, hidróxidos de sodio, potasio, amonio, calcio o férrico, y bases orgánicas tales como isopropilamina, trimetilamina, histidina, procaína y similares. El portador también puede ser un disolvente o medio de dispersión que contiene,

50 por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido, y similares), mezclas adecuadas de los mismos, y aceites vegetales. Puede mantenerse la fluidez apropiada, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento, tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de la dispersión y mediante el uso de tensioactivos. La prevención de la acción de microorganismos puede realizarse mediante diversos agentes antibacterianos y antifusolubles, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, timerosal, y similares. En muchos casos, será preferible incluir

60 agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares o cloruro de sodio. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede realizarse mediante el uso en las composiciones de agentes que retrasan la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina. Las disoluciones inyectables estériles se preparan incorporando los polipéptidos activos en la cantidad requerida en el disolvente apropiado con diversos de los otros componentes enumerados anteriormente, según se requiera, seguido de esterilización por filtración.

65 Generalmente, las dispersiones se preparan incorporando los diversos principios activos esterilizados en un vehículo estéril que contiene el medio de dispersión básico y los otros componentes requeridos de los

- enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de disoluciones inyectables estériles, los métodos de preparación preferidos son técnicas de secado a vacío y secado por congelación que producen un polvo del principio activo más cualquier componente deseado adicional a partir de una disolución previamente esterilizada por filtración de los mismos. Tras la formulación, las disoluciones se administrarán de una manera compatible con la formulación de dosificación y en tal cantidad que sea terapéuticamente eficaz. Las formulaciones se administran fácilmente en una variedad de formas de dosificación, tales como el tipo de disoluciones inyectables descritas anteriormente, pero también pueden emplearse cápsulas de liberación de fármacos y similares. Para la administración parenteral en una disolución acuosa, por ejemplo, la disolución debe tamponarse de manera adecuada si es necesario y, en primer lugar, el diluyente líquido se vuelve isotónico con suficiente solución salina o glucosa. Estas disoluciones acuosas particulares son especialmente adecuadas para administración intravenosa, intramuscular, subcutánea e intraperitoneal. A este respecto, los medios acuosos estériles que pueden emplearse serán conocidos por los expertos en la técnica a la luz de la presente divulgación. Por ejemplo, una dosificación podría disolverse en 1 ml de disolución isotónica de NaCl y o bien añadirse a 1000 ml de fluido de hipodermoclastis o bien inyectarse en el sitio de infusión propuesto. Se producirá necesariamente alguna variación en la dosificación dependiendo del estado del sujeto que va a tratarse. La persona responsable de la administración determinará, en cualquier caso, la dosis apropiada para el sujeto individual. El compuesto de la divulgación puede formularse dentro de una mezcla terapéutica para comprender aproximadamente de 0,0001 a 1,0 miligramos, o de aproximadamente 0,001 a 0,1 miligramos, o de aproximadamente 0,1 a 1,0 o incluso aproximadamente 10 miligramos por dosis más o menos. También pueden administrarse múltiples dosis. Además del compuesto formulado para administración parenteral, tal como inyección intravenosa o intramuscular, otras formas farmacéuticamente aceptables incluyen, por ejemplo, comprimidos u otros sólidos para administración oral; formulaciones liposomales; cápsulas de liberación programada; y cualquier otra forma actualmente usada.
- La divulgación se ilustrará adicionalmente mediante las siguientes figuras y ejemplos.

Figuras

- Figura 1. Efectos de remdesivir (A) y BAY-2402234 (B) sobre la replicación de SARS-CoV-2 después de dos días de cultivo en células Vero. Los efectos sobre la replicación de SARS-CoV-2 se expresan como porcentajes de inhibición en comparación con cultivos infectados no tratados. Las líneas de puntos indican los valores de inhibición de CE50 y CE90. La viabilidad celular se expresa como porcentajes de células no tratadas.

Ejemplo

Material y métodos

Material:

- Se obtuvo una cepa BavPat1 de SARS-CoV-2 del Pr. Drosten a través de EVA GLOBAL (<https://www.european-virus-archive.com/>). Se adquirió remdesivir (GS-5734), un análogo de adenosina, de BLDpharm (China). También se sintetizó BAY-2402234.

Métodos:

- Determinación de las concentraciones eficaces del 50 y el 90% (CE50 y CE90)*

Un día antes de la infección, se sembraron 5×10^4 células Vero E6 en 100 μ l de medio de ensayo (que contenía suero de ternero fetal [FCS] al 2,5%) en placas de 96 pocillos. Al día siguiente, se añadieron ocho diluciones en serie de dos veces de compuestos, por triplicado, a las células (25 μ l/pocillo, en medio que contenía FCS al 2,5%). Se complementaron cuatro pocillos de control de virus (por virus) con 25 μ l de medio y se complementaron cuatro pocillos de control de células con 50 μ l de medio. Después de 15 min, se añadieron 25 μ l de una mezcla de virus diluida en medio a los pocillos a la MOI correcta (0,002), determinada de tal manera que el crecimiento de replicación está todavía en la curva de crecimiento logarítmico para la lectura en el día 2. Se incubaron placas durante 2 días a 37°C, después de lo cual se recogieron 100 μ l del sobrenadante para la purificación de ARN viral.

Tabla 1: Cebadores y sonda usados para la RT-qPCR

Cebador/sonda	Secuencia (5' - 3')	Diana
NCoV_AN_F	GGCCGCAAATTGCACAAT (SEQ ID NO:1)	SARS-CoV-2
NCoV_AN_R	CCAATGCGCGACATTCC (SEQ ID NO:2)	SARS-CoV-2

NCoV_AN_P	FAM-CCCCCAGCGCTTCAGCGTTCT- BHQ1 (SEQ ID NO:3)	SARS-CoV-2
Los elementos indicadores de colorante (FAM) y extinguidor (BHQ1) se indican en negrita y cursiva		

Las concentraciones eficaces del 50% y el 90% (CE50, CE90; la concentración de compuesto que se requiere para inhibir la replicación de ARN viral en el 50% y el 90%) se determinaron usando interpolación logarítmica.

5 Resultados:

Los efectos del compuesto antiviral de referencia, remdesivir, que actúa como inhibidor de polimerasa viral, y de BAY-2402234 se presentan en la figura 1. En este ensayo, la CE50 de remdesivir fue de 2,7 μ M (figura 1A). En estas condiciones, BAY-2402234 tiene una CE50 mucho menor que remdesivir (figura 1B; <40 nM). En conjunto, los datos indican que BAY-2402234 puede reprimir la replicación de SARS-CoV-2 de una manera significativa y, por tanto, es adecuado para el tratamiento de infección por coronavirus.

Bibliografía

15 En toda esta solicitud, diversa bibliografía describe el estado de la técnica a la que pertenece esta divulgación.

LISTA DE SECUENCIAS

<110> INSERM

5 <120> MÉTODOS PARA EL TRATAMIENTO DE INFECCIONES POR CORONAVIRUS

<130> BIO20267 VIDALAIN / MC

<160> 3

10 <170> PatentIn versión 3.3

<210> 1

<211> 18

15 <212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> Cebador

20 <400> 1

ggccgcaaat tgcacaat 18

<210> 2

25 <211> 17

<212> ADN

<213> Artificial

<220>

30 <223> cebador

<400> 2

ccaatgcgcg acattcc 17

35 <210> 3

<211> 21

<212> ADN

<213> Artificial

40 <220>

<223> sonda

<400> 3

45 cccccagcgc ttcagcgttc t 21

REIVINDICACIONES

- 5 1. N-(2-Cloro-6-fluorofenil)-4-[4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-1,2,4-triazol-1-il]-5-fluoro-2-[(2S)-1,1,1-trifluoropropan-2-il]oxibenzamida para su uso en un método de tratamiento de una infección por coronavirus en un sujeto que lo necesita.
- 10 2. N-(2-Cloro-6-fluorofenil)-4-[4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-1,2,4-triazol-1-il]-5-fluoro-2-[(2S)-1,1,1-trifluoropropan-2-il]oxibenzamida para su uso según la reivindicación 1, en la que el compuesto se administra al sujeto en combinación con al menos otro agente terapéutico, preferiblemente en combinación con al menos otro agente antiviral, más preferiblemente en combinación con al menos otro agente antiviral seleccionado del grupo que consiste en remdesivir, lopinavir, ritonavir, hidroxicloroquina y cloroquina.
- 15 3. N-(2-Cloro-6-fluorofenil)-4-[4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-1,2,4-triazol-1-il]-5-fluoro-2-[(2S)-1,1,1-trifluoropropan-2-il]oxibenzamida para su uso según la reivindicación 1, en la que el compuesto se administra al sujeto en combinación con un polipéptido de interferón.

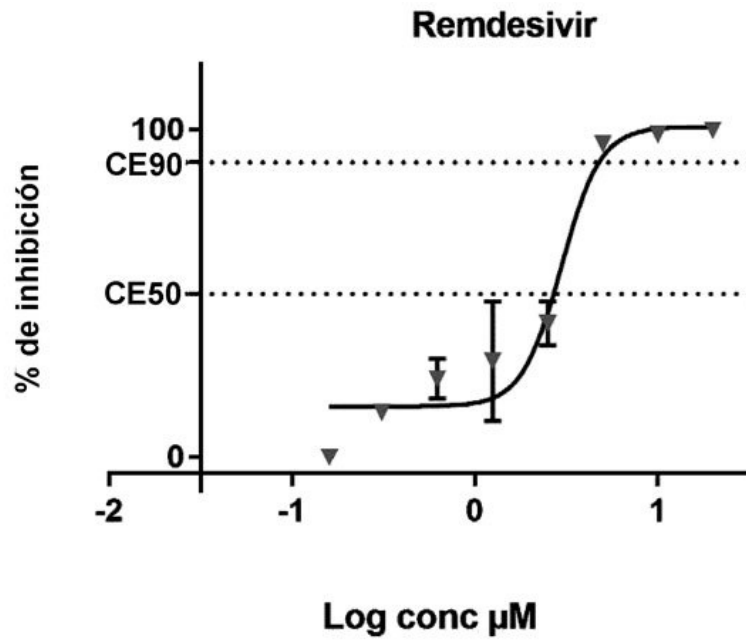


Figura 1A

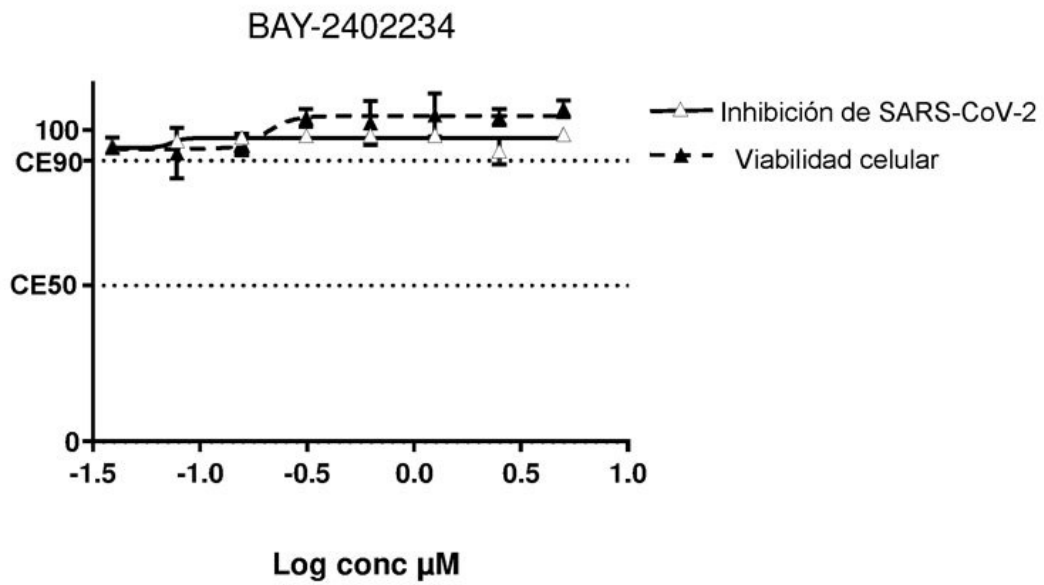


Figura 1B