



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

Delegatura de propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

PCT
SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

- PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL -

21. EXPEDIENTE No.

06-122961

54. TÍTULO

UNA COMPOSICION FARMACEUTICA ANTIMICOBACTERIANA

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

A61K31/496 // 31/131 // 31/496

A61K31/4965 // 31/4409

71. SOLICITANTE

LUPIN LIMITED

A61P31/06 // A61K45/06

DOMICILIO

159, CST Road, Kalina, Santacruz (East), Mumbai 400 098,
Maharashtram INDIA

74. APODERADO

DRA. MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO

22. BOGOTÁ, D. C.,

06 DIC. 2006

5.12.12.2006
Publicar

SS

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIAS Y COMERCIO
Rad 06-122901 -00000-0000
Feb 2006-12-08 15:03:23 Dep. 2020 NUECREACIONES
Tm 11 PATENTE/II
Lvs 3/8 FASE NACIONAL
Pag 411 PRESENTACION Folios 150

**FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL**

SOLICITUD DE:

①

☒ Patente de Invención.☐ Patente de Modelo de Utilidad.☒ Capítulo I☐ Capítulo II

②

SOLICITANTE (71)

Nombre LUPIN LIMITED

Dirección 189, CST Road Kallina, Santacruz
(East), Mumbai 400 098 Maharashtra - INDIA
Nacionalidad o Domicilio Mumbai,
Maharashtra INDIA
Lugar de Constitución INDIA

Teléfono _____ Fax _____
E-mail _____

IDENTIFICACIÓN

C C. ☐ NIT ☐C E ☐ Otro ☐

Número _____ Cual _____

③

REPRESENTANTE
O APODERADO (74)

Nombre MARGARITA CASTELLANOS A.

Dirección Calle 94 A No 7 A-09

Teléfono 610 74 20 Fax 610 07 06

E-mail info@castellanosyco.com

IDENTIFICACIÓN

C C ☒ NIT ☐C E ☐ Otro ☐

Número 39779 654 TPA 70 819 CSJ

④

INVENTOR (ES) (72)

Nombre SUDERSHAN KUMAR ARORA, NEELIMA SINHA, RAKESH SINHA, RAM SHANKAR UPADHYAYA

Dirección Lupin Ltd (Research Park) 48A/47A, Nande Village Taluka Mulshi Pune 411 042, Maharashtra INDIA

Nacionalidad o Domicilio INDIA

⑤

PCT (88)

Solicitud Internacional No PCT/IN2004/000286

Fecha 27/06/2004

Publicación Internacional No WO 2006/107809 A2

Fecha 17/11/2005

⑥

Título (54)

UNA COMPOSICION FARMACEUTICA ANTIMICOBACTERIANA

⑦

Clasificación Internacional (51) A61K 45/06, 31/496, 31/4965, 31/131, 31/4409, A61P 31/06

⑧

Prioridad

(33) País de Origen

(32) Fecha

(31) Número de Solicitud

SI ☒ NO ☐

US

12/06/2004

10/844,992

⑨

Comprobante de pago No. 06-31 317

Fecha Octubre 20 de 2006

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página

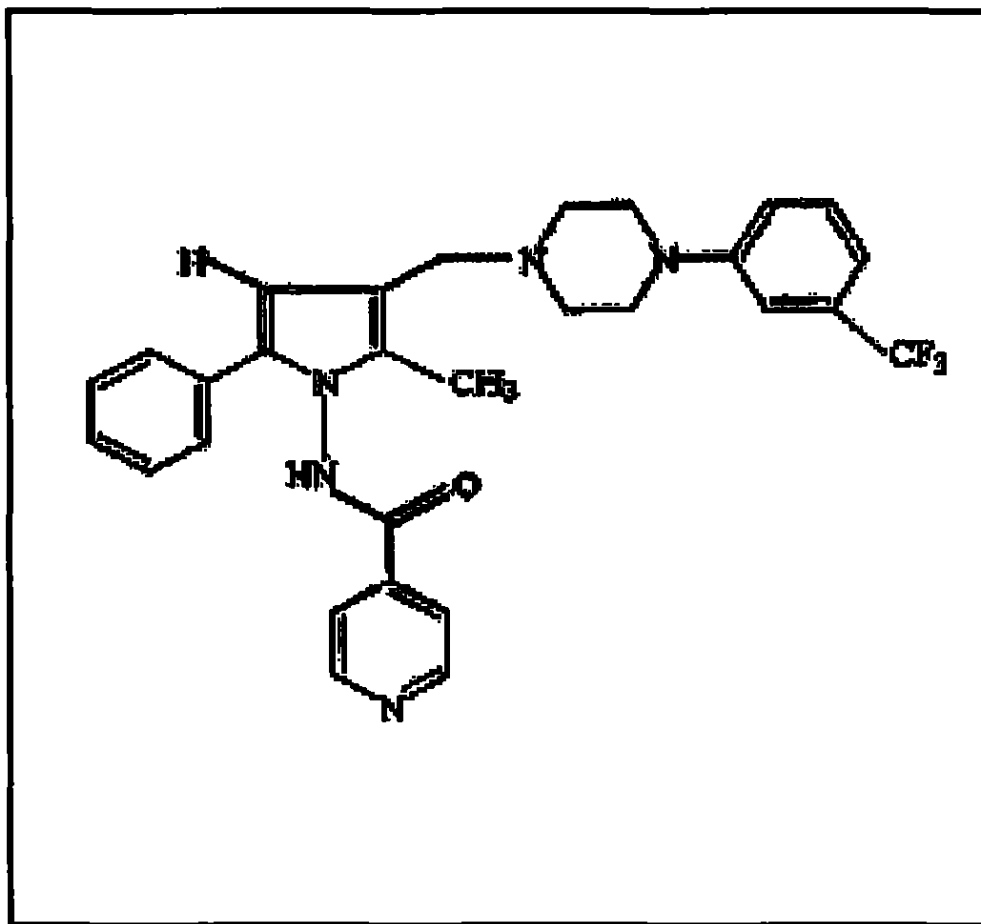
10

Anexos

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- ☒ Documento que acredite la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Poderes, si fuere el caso, junto con la sustitución del mismo a mi favor
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones.
- ☒ Copia de la solicitud internacional (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).
- ☐ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- ☐ Arte final 12x12
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- ☒ Otros Tarjeta Propietario, Tarjeta Temática y Extracto para la Publicación, Formatos PCT/IB/304 y PCT/ISA/237

11

FIGURA CARACTERISTICA:



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: MARGARITA CASTELLANOS ABONDANOFIRMA: *Margarita Castellanos*

C.C. No. 39779.654 Usaquén - TPA 70.819 C.S.J.

06 DIC. 2006

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 06-122961- -00000-0000
Fee: 2006-12-08 16:03:23 Dep. 2020 NUECREACIONES
Tm. 11 PATENTEYU
Eve: 37u FASENACIONALI
Act 411: PRESENTACION Folios: 150

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 06 - 81,317
FECHA : OCTUBRE 20 DE 2006

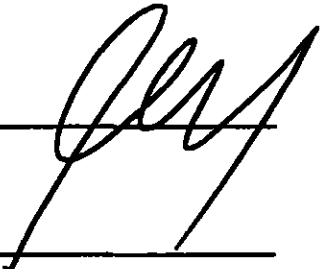
***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	Nº. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
ALVARO CASTELLANOS	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	53373344	20/10/2006	3,153,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
1		TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	463,000.00
		TOTAL :	463,000.00

SON: CUATROCIENTOS SESENTA Y TRES MIL PESOS

RESPONSABLE : 
RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

CASTELLANOS & CO LTDA
ABOGADOS
Calle 94 A No. 7 A-09
Bogotá, D.C. - COLOMBIA

Señor

Jefe de la División de Nuevas Creaciones

Superintendencia de Industria y Comercio

Ministerio de Comercio, Desarrollo, Industria y Turismo

E. S. D.

Ref.: PODER conferido por LUPIN LIMITED

Yo, **XIMENA CASTELLANOS ABONDANO**, mayor de edad, identificada y domiciliada como aparece al pie de mi firma, atentamente manifiesto a Uds. que sustituyo en la Dra. **MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO**, el poder que me confirió LUPIN LIMITED, con domicilio en **Mumbai 400 098, Maharashtra, INDIA**, debidamente legalizado por el Ministerio de Relaciones Exteriores bajo el No. 511896 el día 30 de Octubre de 2006, con las mismas facultades que me fueron conferidas, para tramitar la solicitud de Patente PCT Entrada en Fase Nacional, para: **COMPOSICION FARMACEUTICA ANTIMICOBACTERIAL AN.-**

Del Señor Jefe,

Acepto


Ximena Castellanos Abondano
C.C. No. 39.773.330 de Usaquén
T.P.A. No. 58.236 del C.S.J.
Calle 94 A No. 7 A-09 - Bogotá
PBX: 610 74 20


Margarita Castellanos Abondano
C.C. No. 39.779.654 de Usaquén
T.P.A. No. 70.819 del C.S.J.
Calle 94 A No. 7 A-09 - Bogotá
PBX: 610 74 20

Bogotá, D.C.
XCA/MCA/gcb/6083-FNPCT

GAUSER/DEPTO PAT/PATENTES/60/6083-FNPCT/MEMORIAL SUSTITUCION PODER

**AUTENTICACIÓN DE FIRMA
MEDIANTE COMPARECENCIA PERSONAL**
(Art. 84 C.R.C. mod. Decr. 2282 de 1988, art. 1 mod. 38)

Ante el Notario Cuarenta y Uno (41) del círculo
de esta ciudad compareció personalmente:
WILSON OSORIO ABONDO
Identificado con C.C. **39773320**
expedida en **Osoguen** y tarjeta profesio-
nal de abogado No. **58236** del Consejo
Superior de la Judicatura, con documento di-
rigido a **Superindustria y C.**
y declaró que la firma puesta en este escrito es
suya.

Wilson Osorio Abondo
Firma del declarante

En Bogotá D.C. a **31 OCT. 2006**
AUTORIZÓ ESTA DILIGENCIA EL SUSCRITO NOTARIO

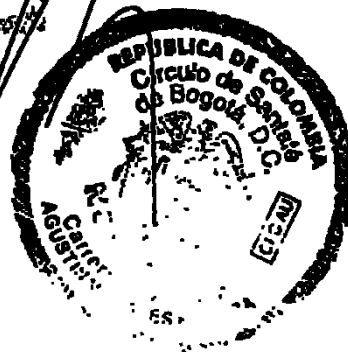


**AUTENTICACIÓN DE FIRMA
MEDIANTE COMPARECENCIA PERSONAL**
(Art. 84 C.R.C. mod. Decr. 2282 de 1988, art. 1 mod. 38)

Ante el Notario Cuarenta y Uno (41) del círculo
de esta ciudad compareció personalmente:
WILSON OSORIO ABONDO
Identificado con C.C. **39773320**
expedida en **Osoguen** y tarjeta profesio-
nal de abogado No. **58236** del Consejo
Superior de la Judicatura, con documento di-
rigido a **Superindustria**
y declaró que la firma puesta en este escrito es
suya.

Wilson Osorio Abondo
Firma del declarante

En Bogotá D.C. a **31 OCT. 2006**
AUTORIZÓ ESTA DILIGENCIA EL SUSCRITO NOTARIO



COLOMBIA

PODER

El (los)

LUPIN LIMITED

Domiciliados en

Mumbai 400 098, Maharashtra, INDIA

Nombran por el presente a XIMENA CASTELLANOS A. y/o MARGARITA CASTELLANOS A. abogadas con oficinas en la Calle 94 A No. 7 A-09, Bogotá-Colombia para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad industrial y con este fin autorizamos a dichos apoderados para que nos representen ante cualesquiera autoridades o personas de los órdenes administrativo, contencioso-administrativo y judicial en todo lo relacionado con los siguientes actos y gestiones:

- Obtención de patentes de invención, modelos y dibujos industriales; registro de marcas de fábrica, de servicio, colectivas o defensivas y de denominaciones de origen, depósito de nombres y enseñas comerciales; su renovación, prórroga, inscripción de traspaso y cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria y el registro de licencias de uso de esos derechos;
- Para la obtención de registros sanitarios;
- Acciones de oposición, observación, cancelación, nulidad, medidas cautelares y en general los juicios civiles, penales, administrativos o contencioso-administrativos que promovamos o se nos promuevan.

Pudiendo en todos los actos y gestiones arriba mencionados sustituir éste mandato, transigir, desistir, recibir, cancelar, renunciar, aceptar notificaciones y nombrar apoderados judiciales y extrajudiciales.

Finalmente, este poder ratifica la validez de todos los actos y solicitudes que, a nombre de la poderdante hubieren realizado los apoderados en relación con las facultades anteriormente enumeradas, antes de la suscripción del presente poder

Dado y firmado hoy 28 de Agosto de 2006

en Mumbai, Maharashtra, INDIA

por LUPIN LIMITED

(El notario debe suscribir el documento en la pagina siguiente)

(Se requiere legalización consular o mediante apostilla)

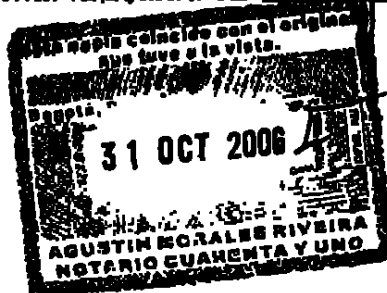


CASTELLANOS & CO

ABOGADOS COLOMBIA

Calle 94A No. 7A-09 - P.O. Box 6249 - Bogotá, Colombia

Tels.: (071) 616 74 29 / Fax (071) 616 67 08 - e-mail: info@castellanos.com

POWER OF ATTORNEY

I (we) the undersigned

LUPIN LIMITED

Of

Mumbai 400 098, Maharashtra, India

hereby grant(s) Power of Attorney to XIMENA CASTELLANOS A. and for MARGARITA CASTELLANOS a. attorneys residing at Calle 94 A No. 7 A-09, Bogotá-Colombia, to obtain the protection of my (our) Industrial Property, for which purpose we authorize the said attorneys to represent us before any authorities, or persons, specially those, administrative, contentious and judicial, in all matters concerning the following:

- Obtainment of patents, models and designs, registration of trademarks, service, collective and defensive marks, and of designations of origin; the deposit of trade names and emblems; its renewal, extension, record of assignments, change of name or domicile, voluntary cancellation, and the registration of licenses of use of the above rights;
- For the obtainment of Sanitary registrations;
- Actions of opposition, cancellation, nullity, infringement, granting of licenses; and in general the civil, criminal and administrative suits related to those rights; actions and suits instituted by us or against us;

In all the above matters they may substitute this power of attorney, compromise, desist, cancel, receive, renounce, accept notifications and appoint attorneys in fact, in or out of court.

Finally, this power of attorney ratifies the validity of all acts and applications made by the representatives in the name of the signatory of this power of attorney, with regard to the faculties above given, before the execution of the present power of attorney.

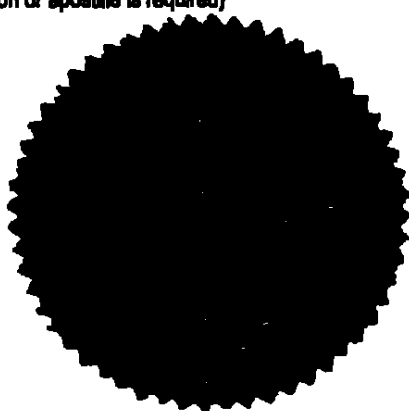
Given and signed this August 28, 2006

in For LUPIN LIMITED (Research Pvt. Ltd.)

by

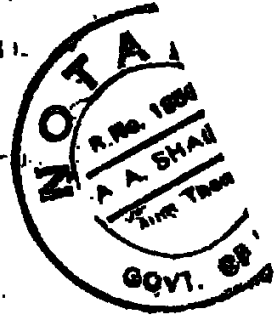
Dr. B. N. ROY,
Technical Advisor
(Notary shall execute on the next page)

(Consular legalization or apostille is required)



RECEIVED 1991

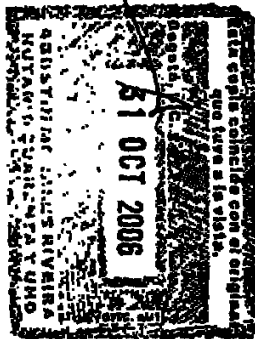
A 11 14112 110 1300 003 14112



No. 10 OCT 2006
 वाणिज्य मन्त्रालय के प्रधान सचिव के कार्यालय
 सचिव के कार्यालय के तहत कार्यालय में
 The Ministry of Commerce and Industries
 Deputy Secretary / Secretariat of Commerce
 of Commerce Attached



(बालकृष्ण कुमार/ANIL KUMAR)
 सचिव (गो.पद.)
 Assistant Officer (N.I.)
 (गो.पद.) सचिव/CPV Divn.)
 सचिव, नई दिल्ली
 Ministry of External Affairs, New Delhi



COLOMBIA

CERTIFICADO NOTARIAL (Sociedad)

Hoy 28 de Agosto del año 2006
compareció (eron) personalmente
B.N. ROY

a quienes conozco como la(s) personas que firma(n) en
representación de la Sociedad (Compañía) denominada

Certifico:

a) Que
LUPIN LIMITED

es una sociedad/Compañía legalmente constituida
existente de acuerdo con las leyes de INDIA

b) Que el domicilio de dicha Sociedad/Compañía es
159, CST Road, Kalina, Santacruz,
(East), Mumbai 400 098 Maharashtra, IN

c) Que el objeto u objetos para los cuales se otorga el
presente poder están comprendidos dentro del objeto
social de la mencionada Sociedad /Compañía.

d) Que el Sr. B.N. ROY
está autorizado para otorgar el presente poder. Lo anterior
está probado por medio de los siguientes documentos, que
certifico he visto

(Ciudad) PUNE

(Estado) Maharashtra

Hoy 28 del Agosto de 2006

(Notario Público)

*Los documentos debe identificarse con fecha y origen.

ALFOMBOJO 30 OJAJU2HCO
IF 230 AVJCL

NOTARIAL CERTIFICATION (Corporation)

On this 28th day of August of 2006
personally appeared
B.N. ROY

whom I know to be the person(s) who signed this document as
representative(s) of the Corporation /Company named

I certify:

a) That

LUPIN LIMITED

is a corporation (Company legally constituted and in
existence in accordance with the laws of INDIA

b) That the domicile of said Corporation/Company is
159, CST Road, Kalina, Santacruz (East), Mumbai 400
098, Maharashtra, INDIA.

c) That the purpose or purposes for which the present
Power of Attorney is granted are comprised within the
object set forth in the charter of the mentioned
Corporation/Company.

d) That Mr. B.N. ROY
is (are) authorized to grant the present Power of Attorney. The
aforementioned was duly proven through the following
documents and I duly certify having seen them:

(City) Pune

(State) Maharashtra

this 28 day of Aug of the year

(Notary Public)

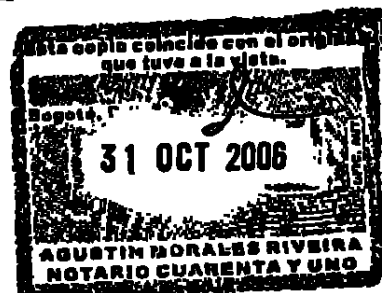
*Documents must be identified with date and origin

CASTELLANOS & CO

ABOGADOS COLOMBIA

Calle 54A No. 7A-66 - P.O. Box 6348 - Bogotá, Colombia

Tels.: (571) 610 74 20 / - Fax (571) 610 07 06 - e-mail info@castellanosyca.com



PAGADO IMPUESTO DE TIMBRE US\$ 9=

PAGADOS DERECHOS CONSULARES US\$ 15=

6057124

**CONSULADO DE COLOMBIA
NUEVA DELHI**

No. 2536 / 2006

El suscrito Consol de Colombia CERTIFICA
que el señor ANIL KUMAR

que suscribió el presente documento, ejercía
la función en la fecha allí expresada las

funciones de
(O) Min. Rel. Ext.

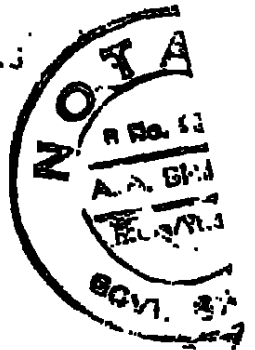
que la firma y sello que en el documento
aparecen son los que usa y
autoriza en sus actos oficiales.

El Consol no asume responsabilidad alguna
por el contenido del documento.

17 OCT 2006



PEDRO PABLO DE BÉDOUT GORI
Ambassador, E.F.C.



6057124

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2006 OCT 27 A 10:04

JEFE DE LEGALIZACIONES
BUDHIA D.C.

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

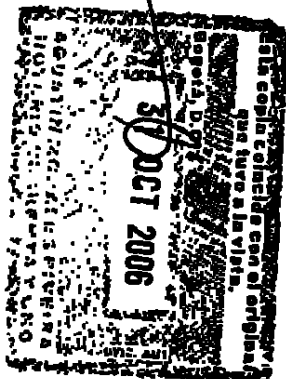
Pedro de Bedout
511897
CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS



17 OCT 2006

No.
वर्तमान पत्र के पदार्थ के लिए / के लिए
रखित के द्वारा का संरक्षण के लिए है।
The No.
Deputy / Secretary of Commerce, Attached

(अनिल कुमार / ANIL KUMAR)
वर्तमान पत्र के लिए (नो. 13)
वर्तमान पत्र (O.I.)
(नो. 13) / CPV Divn.)
विदेश मंत्रालय, नई दिल्ली
Min. of External Affairs, New Delhi



CONSULADO DE COLOMBIA
NUEVA DELHI

No.82/2006

EL SUSCRITO EMBAJADOR ENCARGADO DE LAS
FUNCIONES CONSULARES ANTE LA EMBAJADA DE COLOMBIA EN NUEVA
DELHI, INDIA,
VISTOS LOS DOCUMENTOS PRESENTADOS POR LOS INTERESADOS

CERTIFICA:

QUE EL SEÑOR ANIL KUMAR, OFICIAL REGIONAL (OI) DEL
MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES DE INDIA, QUIEN AUTENTICO LA
FIRMA DEL SEÑOR B.N. ROY DE LA EMPRESA LUPIN LTD FIRMANTE
DEL PRESENTE DOCUMENTO, EJERCA EN LA FECHA LAS FUNCIONES
INDICADAS Y SU FIRMA CORRESPONDE A LA REGISTRADA EN ESTE
CONSULADO; QUE LA EMPRESA LUPIN LTD ESTA CONSTITUIDA DE
ACUERDO CON LAS LEYES DE INDIA Y CUMPLE SU OBJETO CONFORME A
LAS MISMAS, (SEGÚN CERTIFICADO NOTARIAL ADJUNTO AL DOCUMENTO)
DOMICILIADA EN MUMBAI (INDIA); QUE EL SEÑOR B.N. ROY EN SU
CARÁCTER DE CONSEJERO TECNICO DE LA EMPRESA ARRIBA
MENTIONADA, ESTA FACULTADO PARA FIRMAR EL PRESENTE
DOCUMENTO.

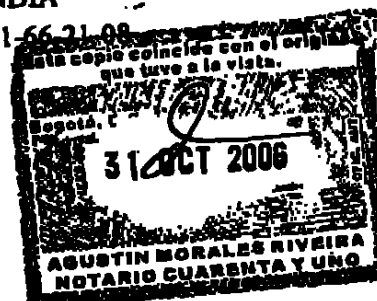
DADO EN NUEVA DELHI EL DIA DIECISIETE DIAS (17) DEL MES DE
OCTUBRE DE DOS MIL SEIS (2006).

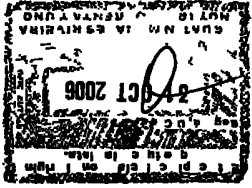

PEDRO PABLO DE BEDOUT GORI
EMBAJADOR E.F.C.



PAGADO IMPUESTO DE TIMBRE Y
DERECHOS CONSULARES: US \$109.00
(Ciento nueve Dólares Americanos)

3, Palam Marg, First Floor, Vasant Vihar, New Delhi-110057 INDIA
Tel.: 91-11-51-66-21-03, 51-66-21-05 Fax: 91-11-51-66-21-04, 51-66-21-08
e-mail: emcolin@bol.net.in





MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

511896
Pedro de Bedout
LA FIRMA APOYADA EN EL
DOCUMENTO D'SEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2006 OCT 27 A 10:04
MCS
EFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTÁ D.C.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12

TRADUCCIÓN OFICIAL No. 236-06 DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLÉS, SELLADO CON EL SELLO DEL SUSCRITO TRADUCTOR OFICIAL, HOY OCTUBRE 29 DEL 2006, EN LA CIUDAD DE BOGOTÁ D.C., REPÚBLICA DE COLOMBIA.

PODER DE LUPIN LIMITED.../...

Escrito en Inglés y Español

Firmado

Por Lupin Limited (Research park)

Dr. B.N. Roy

Asesor Técnico

Sello redondo estampado y sello rojo en alto relieve de Notario del Gobierno de India.

A.A SHAIKH

ADJUNTO AL DOCUMENTO SE ENCUENTRE UN CERTIFICADO NOTARIAL.

Sello del Ministerio de Relaciones Exteriores Anulado.

Sello redondo impreso de la Cámara de Industria y Comercio de Bombay

ADJUNTO AL DOCUMENTO HAY DOS SELLOS DEL CONSULADO DE COLOMBIA EN NUEVA DELHI, No. 82/06 Y SELLO IMPRESO No. 2536/2006. FECHA: OCT. 17, 2006. CERTIFICANDO FIRMA DE ANIL KUMAR.

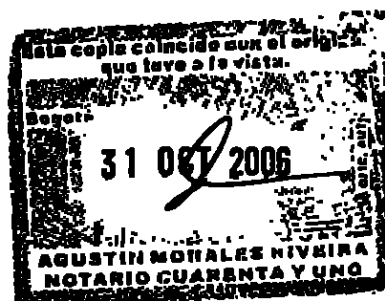
FIRMADO POR

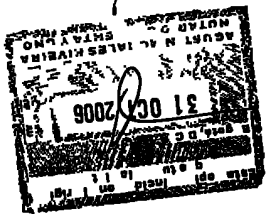
PEDRO PABLO DE DEDOUT GORI

EMBAJADOR E.F.C.

ESTE DOCUMENTO FUE LEGALIZADO ANTE EL MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES BAJO EL NUMERO 511896 Y 511897 ESTE OCT. 27, 2006.

Sergio Eleuterio Lafont Mendonza
Traductor e Interpreté Oficial
Resol. No. 2879 Minjusticia 1991





MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

13300

DOCUMENTO DE
RELACIONES EXTERIORES

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2006 OCT 30 P 17

LEGALIZACIONES
CIUDAD C

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property
Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
17 November 2005 (17.11.2005)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2005/107809 A2

(51) International Patent Classification⁷: A61K 45/06,
31/496, 31/4965, 31/131, 31/4409, A61P 31/06

(74) Agents: MAJUMDAR, Subhatoosh et al.; 5, Harish
Mukherjee Road, Calcutta 700 025 (IN).

(21) International Application Number:
PCT/IN2004/000266

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN,
CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,
GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,
MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG,
PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM,
TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM,
ZW.

(22) International Filing Date: 27 August 2004 (27.08.2004)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
10/844,992 12 May 2004 (12.05.2004) US

(71) Applicant (for all designated States except US): LUPIN
LIMITED [IN/IN]; 159, C.S.T. Road, Kalina, Santacruz
(East), Maharashtra, Mumbai 400 098 (IN).

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI,
SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(72) Inventors; and

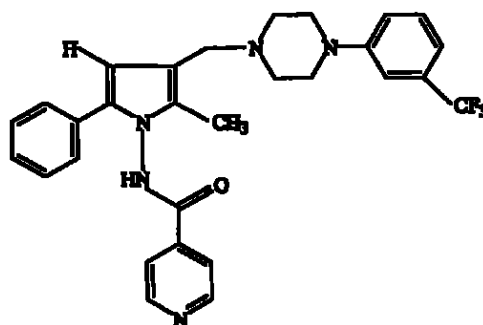
(75) Inventors/Applicants (for US only): ARORA, Sud-
ershan, Kumar [US/IN]; Lupin Ltd (Research Park),
46A/47A, Nande Village, Taluka Mulshi, Maharashtra,
Pune 411 042 (IN). SINHA, Neelima [IN/IN]; Lupin
Ltd (Research Park), 46A/47A, Nande Village, Taluka
Mulshi, Maharashtra, Pune 411 042 (IN). SINHA, Rakesh
[IN/IN]; Lupin Ltd (Research Park), 46A/47A, Nande
Village, Taluka Mulshi, Maharashtra, Pune 411 042 (IN).
UPADHYAYA, Ram, Shankar [IN/IN]; Lupin Ltd (Re-
search Park), 46A/47A, Nande Village, Taluka Mulshi,
Maharashtra, Pune 411 042 (IN).

Published:

— without international search report and to be republished
upon receipt of that report

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guid-
ance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the begin-
ning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: AN ANTIMYCOBACTERIAL PHARMACEUTICAL COMPOSITION



(I)

(57) Abstract: An antimycobacterial combination and composition for treating tuberculosis are described. The compounds used are N-(3-[[4-(3-(trifluoromethyl)phenyl)piperazinyl]methyl]-2-methyl-5-phenyl-pyrrolyl)-4-pyridylcarboxamide of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof and an amount of one or more first line antitubercular drugs.

WO 2005/107809 A2

AN ANTIMYCOBACTERIAL PHARMACEUTICAL COMPOSITION**FIELD OF THE INVENTION**

The present invention relates to a combination comprising an effective amount of N-(3-[[4-(3-trifluoromethylphenyl)piperazinyl]methyl]-2-methyl-5-phenyl-pyrrolyl)-4-pyridylcarboxamide of formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof and one or more of first line antitubercular drugs for the treatment of tuberculosis, including multi-drug resistant varieties and latent tuberculosis.

The present invention also relates to a pharmaceutical composition, comprising a combination of an effective amount of N-(3-[[4-(3-trifluoromethylphenyl)piperazinyl]methyl]-2-methyl-5-phenyl-pyrrolyl)-4-pyridylcarboxamide of formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof with one or more of first line antitubercular drugs in admixture with one or more pharmaceutically acceptable excipients. The composition may be used for treatment of tuberculosis, including multi-drug resistant varieties and latent tuberculosis.

The present invention further relates to a method for treatment of tuberculosis, including multi-drug resistant varieties and latent tuberculosis.

BACKGROUND OF THE INVENTION

Worldwide, tuberculosis remains a leading cause of death. There are approximately 8 million active cases of tuberculosis per year, with 3 million deaths annually. About 1.7 billion people (one-third of world's population) are estimated to harbor the latent *Mycobacterium tuberculosis* infection [Kochi, A. *Tubercle*. 1991, 72, 1- 6]. Individuals with latent tuberculosis carry 2 to 23 % lifetime risk of reactivation of the disease later in life [Parrish, NM., Dick, JD., and Bishai, WR., *Trends. Microbial*. 1980, 6, 107 -112]. In addition, immunosuppressive conditions including human immunodeficiency virus (HIV) infection has dramatically increased the risk of reactivation of tuberculosis.

The emergence of drug resistant pathogens renders the current mode of treatment very difficult and in many cases completely ineffective. Treatment of multi-drug resistant varieties of tuberculosis is difficult, and the disease often carries a high rate of mortality, particularly in

developing countries. It is estimated that in the next twenty years over one billion people will be newly infected with tuberculosis with nearly 35 million people succumbing to the disease [WHO Fact Sheet No. 104, Global Alliance For TB Drug Development: Executive Summary of the Scientific Blueprint for TB Development; <http://www.who.int/inf-fs/en/fact104.html>].

- 5 With the emergence of HIV related tuberculosis, the disease is assuming alarming proportions as one of the killer diseases in the world today. The World Health Organization (WHO) has declared as a priority the need to immediately control tuberculosis infection for prevention of the spread of drug resistant strains.

- 10 One problem with current tuberculosis therapies is the shift of *M. tuberculosis* into a dormant or latent state. Thus, while the treatment of active tuberculosis with the currently prescribed combination drug regimen reduces the bacterial burden by a substantial amount, a proportion of bacilli shift into dormancy and survive in the host for months or years without producing any overt disease. However, later the bacilli can reactivate resulting in active tuberculosis once again. The recurrence of tuberculosis these days is considered to be the result
15 of the reactivation of latent organisms which survive in the host [Stead, WW., *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1982, 95, 729-745; Stead, WW., Kerby, GR., Schleuter, and Jordahl, CW., *Ann. Intern. Med.*, 1968, 68, 731-745].

- The first drug used to combat *M. tuberculosis* was streptomycin in 1944, which was found to inhibit the growth of *M. tuberculosis*. A few classes of compounds have been
20 introduced into clinical practice in the last 30 years, such as :

- a) Long acting rifamycins e.g., rifapentine, rifabutin, and rifalazil [Javis, B., Lamb, HM., *Drugs*, 1998, 56, 607-616; McGregor, MM., Olliaro, P., Wolmarans, L., *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1996, 154, 1462-1467; Shoen, CM., DeStefano, MS., Cynamon, MH., *Clin. Infect. Dis.*, 2000, 30(Suppl. 3), S288-S29];
- 25 b) Fluoroquinolone compounds e.g. levofloxacin, moxifloxacin, and gatifloxacin [Ji, B., Lounis, N., Truffiot-Pernot, C., Grosset., *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1995, 39, 1341-1344; Miyazaki, E., Miyazaki, M., Chen, JM., Chaisson, RE., Bishai, WR., *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1999, 43, 85-89; Fung-Tomc, J., Minassian, B., Kolek, B., Washo, T., Huczko, E., Boner, D., *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2000, 45, 437-446];

c) Oxazolidinone compounds [Cynamon, MH., Klemens, SP., Sharpe, CA., Chase, SC., *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1999, 43, 1189-1191]; and

d) Nitroimidazopyrans [Strover, CK., Warrenner, P., VanDevanter, D., *Nature*, 2000, 405, 962-966].

5 However, none of these compounds has shown the desired potential to effectively treat multi-drug resistant and/or latent tuberculosis.

Rifapentine and rifalazil have shown effectiveness in treating tuberculosis through administration of lesser (intermittent therapy) doses of the drugs and a combination of the two drugs is also reported to be more effective in preventing latent tuberculosis than rifampicin.

10 However, since these drugs have the same pharmacophore as rifampicin their activity spectrum against the resistant strains has not improved significantly. These molecules are rather ineffective against multi-drug resistant strains of *M. tuberculosis*. Further, many of these compounds have proved to be toxic.

15 A number of drugs, such as p-aminosalicylic acid, isoniazid, pyrazinamide, ethambutol, ethionamide, rifampicin etc. have been used either alone or in combination for treatment of tuberculosis. These drugs were found to be more effective than streptomycin in treating patients infected with the streptomycin resistant strains, thereby ushering in an era of effective treatment of tuberculosis.

20 Currently, the treatment of tuberculosis consists of administering a combination of four first line drugs, viz. isoniazid, rifampicin, ethambutol and pyrazinamide, administered individually as a single drug formulation or as a fixed dose combination. For effective treatment the abovementioned four first line drugs are given to a patient in the initial or induction phase, during which the drugs are used in combination to kill the rapidly multiplying population of *M. tuberculosis* as well as to prevent the emergence of drug
25 resistance. This is followed by a continuation phase during which sterilizing drugs, viz. isoniazid, rifampicin, and pyrazinamide are given to kill the intermittently dividing population of *M. tuberculosis* [Jindani, A., Aber, VR., Edwards, EA., Mitchison, DA., *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1980, 121, 39-49; Grosset, J., *Tubercule.*, 1978, 52, 287-297; East African/British Medical Research Council Study in *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1977, 115, 3-8; Singapore

Tuberculosis Service/British Medical Research Council in *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1979, 119, 579-585; British Thoracic Society and Tuberculosis Association in *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1982, 126, 460-462; Snider, DE., Rogowski, J., Zierski, M., Bek, E., Long, MW., *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1982, 125, 265-267].

- 5 While the abovementioned combination of first line drugs together provide treatment against sensitive *M. tuberculosis* infection in 4 to 6 months time, such a combination therapy is not always successful, especially in patients harbouring multi-drug resistant strains. Also the long duration of treatment consisting of six months, more often than not, leads to unpleasant side effects. Further, compliance with the relatively long course of treatment is
- 10 generally poor. Such non-compliance leads, more often than not, to treatment failure resulting in development of drug resistance.

The second line drugs, such as cycloserine, clofazimine, capreomycin etc. used for treatment, on the other hand, are more expensive, may cause severe side effects and are inferior to the first line drugs.

- 15 Substituted pyrrole derivatives constitute another class of compounds, which hold promise as antimycobacterial agents. Many pyrrole derivatives have been synthesized and tested for antitubercular activity [Deidda, D., et al., *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1998, 3035-3037; Biava, M., et al., *J. Med. Chem. Res.*, 1999, 19-34; Biava, M., et al., *Bioorg. & Med. Chem. Lett.*, 1999, 9, 2983-2988; Cerreto, F., et al., *Eur. J. Med. Chem.*, 1992, 27, 701-
- 20 708; Gillet, C., et al., *Eur. J. Med. Chem.-Chimica Therapeutica.*, 1976, 11(2), 173-181; Raagno, R., et al., *Bioorg. & Med. Chem.*, 2000, 8, 1423-1432]. At best, the compounds disclosed therein are drug candidates not drugs since the reports contain no mention of *in vivo* activity and toxicity of the compounds disclosed therein against experimental tuberculosis in animal models. Hence, the compounds are more of academic rather than any commercial
- 25 interest.

Hence, there is an urgent need to develop newer regimens that can be used to prevent, treat and/or reduce tuberculosis and/or eliminate the threat of multi-drug resistant tuberculosis and/or latent tuberculosis.

An alternative regimen should be superior to the existing regimen so as to:

- a) shorten the total duration of treatment and/or significantly reduce the total number of doses;
- b) provide an effective treatment of the multi-drug resistant varieties;
- c) provide more effective treatment of latent tuberculosis; and
- d) minimize or prevent side effects.

In our PCT Application No. PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) we have described several substituted pyrrole derivatives and pharmaceutically acceptable salts thereof, which have demonstrated good to excellent inhibitory activity against the susceptible and drug resistant strains of *M. tuberculosis*. The MIC value of some of the most active compounds against sensitive and multi-drug resistant strains of *M. tuberculosis* were in the range of 0.12 to 0.5 µg/ml. Further, some of the compounds have also demonstrated therapeutically significant *in vivo* activity against *M. tuberculosis* infected animals and also found to be safe having an LD₅₀ value of about 700 mg/kg in mice as against 133 mg/kg for isoniazid. Moreover, the pharmacokinetic profile of the compounds are excellent. The subject matter of PCT Application No. PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A) is incorporated herein by reference.

The present inventors have found that a number of the pyrrole derivatives disclosed in PCT Application No. PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) provide a synergistic effect when used in combination with some of the front line drugs, thereby providing a new treatment of tuberculosis, including multi-drug resistant varieties and latent tuberculosis. The treatments described herein are superior to the drug regimens known in the prior art.

OBJECTS OF THE INVENTION

An object of the present invention is to provide a combination comprising one or more pyrrole derivatives disclosed in our PCT Application No. PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) and one or more of other antitubercular drugs for effective treatment of tuberculosis including multi-drug resistant varieties and latent tuberculosis.

A further object of the present invention is to provide a novel combination comprising a synergistically effective amount of a pyrrole derivative disclosed in PCT Application No.

PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) and an effective amount of one or more first line antitubercular drugs.

Another object of the present invention is to provide a combination comprising one or more pyrrole derivatives disclosed in our PCT Application No. PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) and one or more of other antitubercular drugs, which is effective in the inhibition and/or treatment of mycobacterial conditions/ cells including but not limited to one or more of sensitive and multi-drug resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium - intracellular complex*, *M. fortuitum*, *M. kansasii* or other related mycobacterial species.

Still another object of the present invention is to provide an effective treatment of tuberculosis.

Yet another aspect is to reduce the treatment time from six months.

A still further object is provide a treatment of tuberculosis comprising administration to a patient in need thereof a combination comprising a pyrrole derivative disclosed in our PCT Application No. PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) and one or more of first line antitubercular drugs.

Yet another object is provide a treatment of tuberculosis that results in complete eradication of sensitive and drug resistant strains comprising administration to a patient in need thereof a combination comprising a pyrrole derivative disclosed in our PCT Application No. PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) and one or more of first line antitubercular drugs.

Still another object of the present invention is to provide an effective treatment of tuberculosis which results in complete eradication of sensitive and drug resistant *M. tuberculosis* comprising administration to a patient in need thereof a combination of a pyrrole derivative disclosed in our PCT Application No. PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) with one or more first line antitubercular drugs.

Yet another object of the present invention is to provide an effective treatment of tuberculosis which results in complete eradication of one or more sensitive and drug resistant strains such as *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium - intracellular complex*, *M. fortuitum*, *M. kansasii* or other related mycobacterial species comprising administration to a

patient in need thereof a combination comprising a pyrrole derivative disclosed in our PCT Application No. PCT/IN02/00189(WO 04/026828 A1) and one or more of first line antitubercular drugs.

5 Another further object of the present invention is to provide a method for treatment and/or inhibition of one or more multi-drug resistant strains including but not limited to *M. tuberculosis* *Mycobacterium avium - intracellular complex*, *M. fortuitum*, *M. kansasii* and other related mycobacterial species comprising administration a pharmaceutical composition comprising a combination of a pyrrole derivative disclosed in PCT Application No. PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) with one or more first line antitubercular drugs to a
10 patient in need thereof.

A further object of the present invention is to provide a method to prevent relapse of tuberculosis after the withdrawal of the treatment comprising administration to a patient in need thereof a combination comprising a pyrrole derivative disclosed in our PCT Application No. PCT/IN02/00189(WO 04/026828 A1) and one or more of first line antitubercular drugs.

15 A further object of the present invention is to provide a method to prevent relapse of *M. tuberculosis* infection after the withdrawal of the treatment comprising administration to a patient in need thereof a combination comprising a pyrrole derivative disclosed in our PCT Application No. PCT/IN02/00189(WO 04/026828 A1) and one or more of first line antitubercular drugs.

20 Another further object of the present invention is to provide a pharmaceutical composition comprising a combination of a pyrrole derivative disclosed in our PCT Application No. PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) with one or more of first line antitubercular drugs for effective treatment of tuberculosis including multi-drug resistant varieties and latent tuberculosis.

25 Yet another object of the present invention is to provide a pharmaceutical composition comprising a synergistically effective amount of the pyrrole derivatives disclosed in our PCT Application No. PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) in combination with an effective amount of one or more first line antitubercular drugs.

Yet another further object of the present invention is to provide a pharmaceutical composition comprising a combination of a pyrrole derivative disclosed in our PCT Application No. PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) with one or more first line antitubercular drugs, which is effective in inhibition and/or treatment of mycobacterial
5 conditions/ cells including but not limited to one or more sensitive and multi-drug resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium - intracellular complex*, *M. fortuitum*, *M. kansasii* and other related mycobacterial species.

Another object of the present invention is to provide an effective treatment of tuberculosis comprising administration to a patient in need thereof a pharmaceutical
10 composition comprising a combination of a pyrrole derivative disclosed in our PCT Application No. PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) with one or more first line antitubercular drugs.

Yet another object is provide a treatment of tuberculosis that results in complete eradication of sensitive and drug resistant strains comprising administration to a patient in need
15 thereof a pharmaceutical composition comprising a pyrrole derivative disclosed in our PCT Application No. PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) and one or more of first line antitubercular drugs.

Still another object of the present invention is to provide an effective treatment of tuberculosis which results in complete eradication of sensitive and drug resistant *M. tuberculosis* comprising administration to a patient in need thereof a pharmaceutical
20 composition comprising a combination of a pyrrole derivative disclosed in our PCT Application No. PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) with one or more first line antitubercular drugs.

Yet another object of the present invention is to provide an effective treatment of tuberculosis which results in complete eradication of one or more sensitive and drug resistant
25 strains such as *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium - intracellular complex*, *M. fortuitum*, *M. kansasii* or other related mycobacterial species comprising administration to a patient in need thereof a pharmaceutical composition comprising a combination comprising a

pyrrole derivative disclosed in our PCT Application No. PCT/IN02/00189(WO 04/026828 A1) and one or more of first line antitubercular drugs.

A further object of the present invention is to provide a method to prevent relapse of tuberculosis after the withdrawal of the treatment comprising administration to a patient in need thereof a pharmaceutical composition comprising a combination comprising a pyrrole derivative disclosed in our PCT Application No. PCT/IN02/00189(WO 04/026828 A1) and one or more of first line antitubercular drugs.

A further object of the present invention is to provide a method to prevent relapse of *M. tuberculosis* infection after the withdrawal of the treatment comprising administration to a patient in need thereof a pharmaceutical composition comprising a combination of a pyrrole derivative disclosed in our PCT Application No. PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) with one or more first line antitubercular drugs.

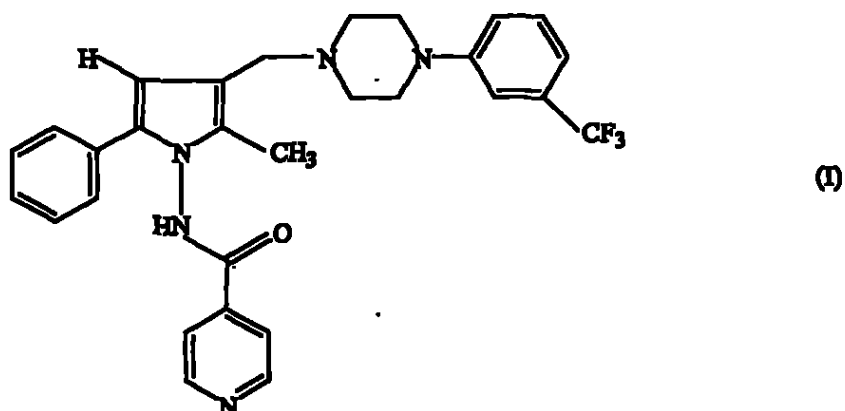
Another further object of the present invention is to provide a method for treatment and/or inhibition of one or more multi-drug resistant strains including but not limited to *M. tuberculosis Mycobacterium avium - intracellular complex, M. fortuthum, M. kansasii* and other related mycobacterial species comprising administration a pharmaceutical composition comprising a combination of a pyrrole derivative disclosed in PCT Application No. PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) with one or more first line antitubercular drugs to a patient in need thereof.

Yet further object of the present invention is to provide a process for preparation of a composition comprising an effective amount of a pyrrole derivative disclosed in our PCT Application No. PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) in combination with an effective amount of one or more first line antitubercular drugs.

SUMMARY OF THE INVENTION

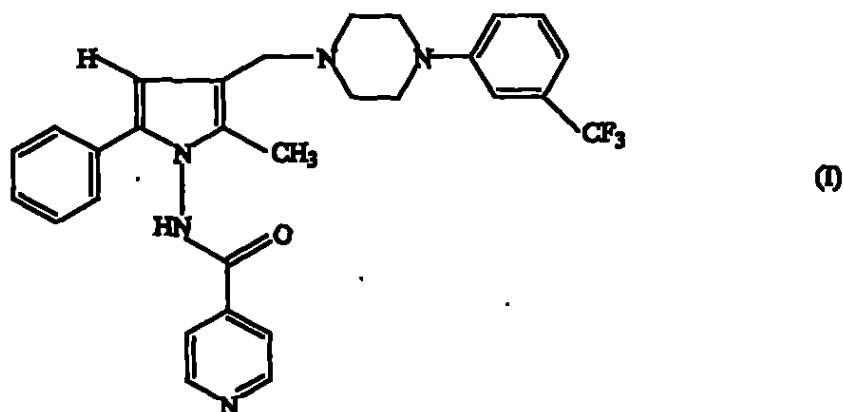
Thus the invention relates to an antimycobacterial combination comprising a therapeutically effective amount of N-(3-[[4-(3-trifluoromethylphenyl)piperazinyl]methyl]-2-methyl-5-phenyl- pyrrolyl)-4-pyridylcarboxamide of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non- toxic salt thereof

10



and a therapeutically effective amount of one or more first line antitubercular drugs selected from the group consisting of isoniazid, rifampicin, ethambutol and pyrazinamide.

- 5 Further according to the invention there is provided a process for preparation of an antimycobacterial pharmaceutical composition comprising combining a compound of formula I or a pharmaceutically acceptable salt thereof

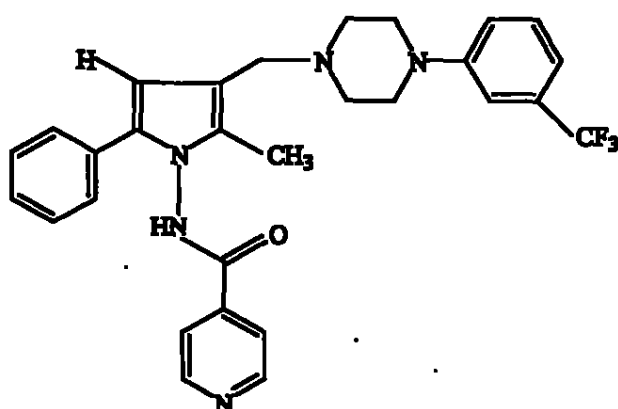


- 10 and one or more of the first line antitubercular drugs using a dry granulation method, a wet granulation method or a direct compression method.

The present invention further provides an antimycobacterial combination comprising a therapeutically effective amount of N-(3-[[4-(3-trifluoromethylphenyl)piperazinyl]methyl]-2-methyl-5-phenyl-pyrrolyl)-4-pyridylcarboxamide of formula (I) the compound of formula (I) or

- 15 a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof

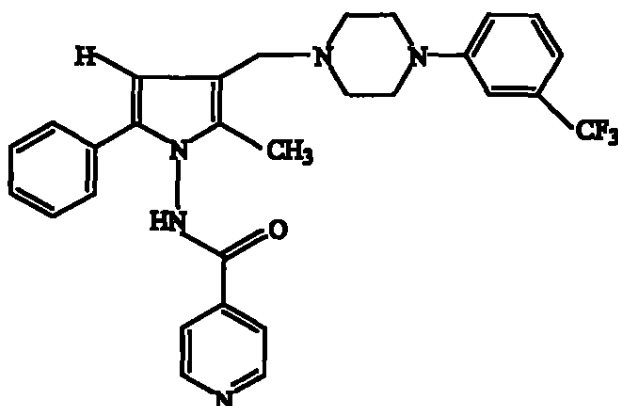
11



(I)

and a therapeutically effective amount of one or more first line antitubercular drugs selected from isoniazid, rifampicin, ethambutol and pyrazinamide for treatment of multi-drug resistant tuberculosis including latent tuberculosis.

- 5 The present invention provides an antimycobacterial combination comprising a therapeutically effective amount of N-(3-[[4-(3-trifluoromethylphenyl)piperazinyl]methyl]-2-methyl-5-phenyl-pyrrolyl)-4-pyridylcarboxamide of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof



(I)

- 10 and a therapeutically effective amount of one or more first line antitubercular drugs selected from isoniazid, rifampicin, ethambutol and pyrazinamide for treatment and/or inhibition of one or more mycobacterial conditions/ cells including but not limited to sensitive and multi-drug resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium* - intracellular complex, *M. fortuitum*, *M. kansasii* and other related mycobacterial species.

15

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

Unless defined otherwise, technical and scientific terms used herein have the same meaning as commonly understood by one of ordinary skill in the art in which this invention belongs. Any methods and materials similar or equivalent to those described herein can be used in the practice or testing of the present invention.

Unless stated to the contrary, any use of the words such as "including," "containing," "comprising," "having" and the like, means "including without limitation" and shall not be construed to limit any general statement that it follows to the specific or similar items or matters immediately following it.

Embodiments of the invention are not mutually exclusive, but may be implemented in various combinations. The described embodiments of the invention and the disclosed examples are given for the purpose of illustration rather than limitation of the invention as set forth the appended claims.

For purposes of the present invention, the following terms are defined below.

The terms "administering to", "administration of" and "administering a" compound, combination or composition should be understood to mean providing a compound, combination or composition or a prodrug of a compound to the patient in need of treatment.

The term "co-administration" as used herein is intended to encompass administration of the individual compounds present in the combination together or separately. Co-administration can also encompass combinations of administration of two or more of the compounds of the combination together with other of compounds of the combination being administered separately or together or variations thereof. Separate administration of each compound, at different times and by different routes may also be considered co-administration. Co-administration can also include the combined administration of two or more compounds of the combination, if the route of administration of each individual compound is same. For example, if the route of administration of all the individual compounds is the same, eg. oral route then one or more of the individual compounds in the combination can be formulated into a dosage form suitable for the same route of administration. The term "co-administration" can also be

construed to encompass to administration of one or more of the compounds of the combination together (e.g. in a single dosage form) or one or more of each compound separately.

The term "composition" as used herein is intended to encompass a product comprising the specified ingredients, as well as any product which results, directly or indirectly, from a combination of the specified ingredients. A "composition" may contain a single compound or more than one compound. A "composition" may contain one or more active ingredients.

The term "complete eradication" means there is no culturable mycobacterium after the designated incubation period in the target organs i.e. lungs or spleen of the infected animal or person following treatment according to this invention.

The term "excipient" means a component of a pharmaceutical product or composition that is not the active ingredient, such as a filler, diluent, carrier, and so on. The excipients that are useful in preparing a pharmaceutical composition are preferably pharmaceutically acceptable.

The term "pharmaceutically acceptable" as used herein means that the carrier, filler, diluent or excipient must be compatible with the other ingredients of the formulation and not deleterious to the recipient thereof.

The term "pharmaceutical composition" is intended to encompass a product comprising the active ingredient(s), pharmaceutically acceptable excipient(s) as well as any product which results, directly or indirectly, from combination, complexation or aggregation of any two or more of the ingredients, or from dissociation of one or more of the ingredients and/or excipients, or from other types of reactions or interactions of one or more of the ingredients and/or excipients. Accordingly, the pharmaceutical compositions of the present invention encompass any composition made by admixing the active ingredient, additional active ingredient(s), and pharmaceutically acceptable excipients.

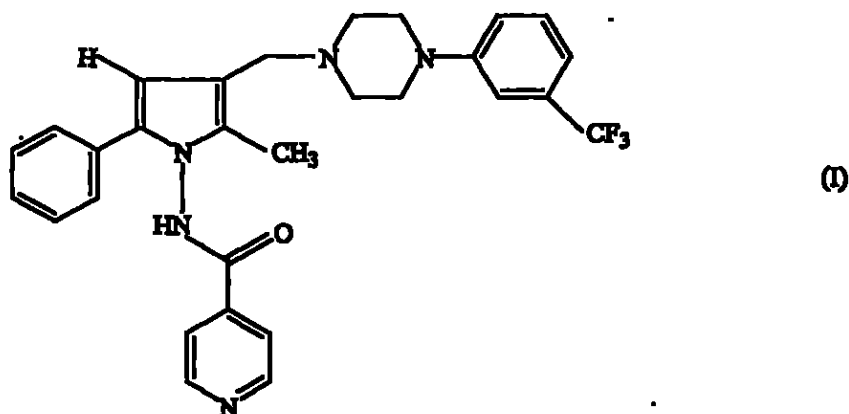
The term "synergy" or "synergistic" includes but is not limited to

(i) a quantity or amount, whereby a particular compound, active ingredient or drug can be administered in a lesser dosage when present in combination with one or more other active ingredients, compounds or drugs than the dosage required when it is administered individually; and/or

(ii) nature/time, whereby a particular active ingredient, compound, or drug present in a combination either exhibits improved efficacy or results in reduced time of treatment than when it is administered individually.

5

Our PCT Application No. PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) discloses pyrrole derivatives, which exhibit antimycobacterial activity. These derivatives were found to be superior to those of previously known compounds as would be evident from their *in vivo* efficacy and low toxicity. Of all the ninety odd compounds disclosed therein, Compound No. 12, viz. N-(3-[[4-(3-trifluoromethylphenyl) piperazinyl]methyl]-2-methyl-5-phenyl-pyrrolyl)-4-pyridylcarboxamide and its pharmaceutically acceptable non-toxic salts, designated as compound of formula (I) in the present application, was found to exhibit excellent antimycobacterial activity against sensitive and multi-drug resistant strains of *M. tuberculosis*.



It should be noted that reference to a compound of formula (I) includes its non-toxic pharmaceutically acceptable acid addition salts thereof. Suitable salts are formed both with organic and inorganic acids and include those formed with maleic, fumaric, benzoic, ascorbic, pantoic, succinic, salicylic, methanesulfonic, ethanedisulfonic, acetic, propionic, tartaric, citric, gluconic, stearic, palmitic, itaconic, glycolic, p-aminobenzoic, glutamic, benzenesulfamic, benzenesulfonic, p-toluenesulfonic, phosphoric, sulfuric, nitric, hydrochloric, hydrobromic acids etc.

15

20

A therapeutically effective amount of the compound of formula (I) was found to possess the desired antitubercular properties. However, a synergistic effect is observed when a compound of formula (I) is co-administered with some of the first line antitubercular drugs, such as isoniazid, rifampicin, ethambutol and pyrazinamide. By synergistic effect it is meant the therapeutic effect of co-administering a compound of formula (I) and one or more of the first line antitubercular drugs, mentioned hereinabove above is greater than the therapeutic effect obtained on administration of an effective amount of either compound (I), or the therapeutic effective amount of any of the first line antitubercular drugs administered individually. Further, the therapeutic effect of co-administering a compound of formula (I) and one or more of the first line antitubercular drugs, mentioned hereinabove above is greater than the therapeutic effect obtained on administration of the first line antitubercular drugs, when administered in combination with one another.

Such synergy is advantageous in that it allows for administration of each of the components in the combination in an amount less than that would be required if administered individually. Thus the therapy can be affected for subjects who for example, do not respond adequately to the use of one component at the maximal strength dose.

Thus, co-administration of both the pyrrole compound of formula (I) and one or more of isoniazid, rifampicin, ethambutol and pyrazinamide was found to produce an effect, which results in improved treatment of tuberculosis as compared to the effect when the compound of formula (I) or the first line antitubercular drugs are administered individually or when the first line antitubercular drugs are administered in combination with one another.

Co-administration of both the pyrrole compound of formula (I) and one or more of isoniazid, rifampicin, ethambutol and pyrazinamide was found to produce an effect, which results in complete eradication of tuberculosis vis-à-vis incomplete eradication when the compound of formula (I) or the first line antitubercular drugs are administered individually or when the first line antitubercular drugs are administered in combination with one another.

The term, "complete eradication" means no culturable mycobacterium could be observed in the target organs i. e. lungs or spleen of the infected animals after the treatment regimen with the combination of the present invention. It is noted that at the end of treatment

of infected animals with the existing drug regimen i. e. a combination of one or more of the first line antitubercular drugs, viz. ethambutol, isoniazid, pyrazinamide and rifampicin a significantly culturable amount of tubercle bacilli is recovered from the target organs i. e. lungs and spleen. This would be evident from the data given in Tables - X, XI, and XII below.

5 One method for quantification of any culturable mycobacterium comprises sacrificing the treated animals at the end of the treatment regimen, wherein the target organs i. e. the lungs and spleen are aseptically removed, homogenized in sterile medium, and serial tenfold dilutions of the homogenate are then placed onto a media plate. The residual homogenate from the original tube is also plated on a media containing plate for enumeration of total count. No
10 growth of mycobacteria after the incubation period is thus considered to mean complete eradication of *M. tuberculosis*. A person skilled in the art could use other known methods for quantification of culturable mycobacterium.

The current therapy for treating tuberculosis comprises providing a combination of isoniazid, rifampicin, pyrazinamide and ethambutol in amounts of 25.0, 20.0, 150.0 and 100.0
15 mg/kg of body weight respectively which amounts to an administration of a total of 295mg/kg of the drugs [Enquire, JAF., Jann, LC., and Cynamon, MH., *Antimicrob Agents Chemother.* 2002, 46, 1022-1025; Anne, MJ., Lenerts, A., Sharon, EC., Chmielewski AJ., and Cynamon MH., *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1999, 43, 2356-2360; Cynamon MH., and Klemens, SP., *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1996, 40, 298-301]. In contrast, in one embodiment of this
20 invention the therapy utilizing the compound of formula (I) in combination with the first line antitubercular drugs can be achieved with less than a total amount of 295 mg/kg of isoniazid, rifampicin, pyrazinamide and ethambutol. For example, in one embodiment a total amount of about 200 mg/kg of isoniazid, rifampicin, pyrazinamide and ethambutol may be administered, which is less than the amount used in the current therapy.

25 Additionally, by administering the individual components in lower amount, side effects can, in many cases, be minimized or avoided.

In short, the combination of co-administration of compound of formula (I) with one or more of the known first line antitubercular drugs adds a new dimension to the treatment of tuberculosis, hitherto not reported.

It was further found that the combination mentioned hereinbefore modulates the response to the drug resistant strains of *M. tuberculosis* and is "fast acting". Thus, the time taken to provide complete and effective eradication of *Mycobacterium* from a subject compared to that taken by the known drugs currently in practice, either taken alone or in combination with each other is reduced significantly. In one embodiment the treatment with the combination of this invention is found to take only one third the time taken for treatment comprising the currently prescribed regimen of a combination of the first line antitubercular drugs.

More significantly, our studies show that on administration of a combination of a compound of formula (I) with known antitubercular drugs like rifampicin and pyrazinamide there is an approximately twelve fold increase in the C_{max} value of the compound of formula (I) in blood. Similar improvement is also observed for the $T_{1/2}$ and AUC values.

Significantly, in one embodiment of the invention combinations of the compound of formula I or a pharmaceutically acceptable salt thereof and one or more of the first line antitubercular drugs was found to prevent the relapse of the mycobacterial infection after discontinuation of the treatment.

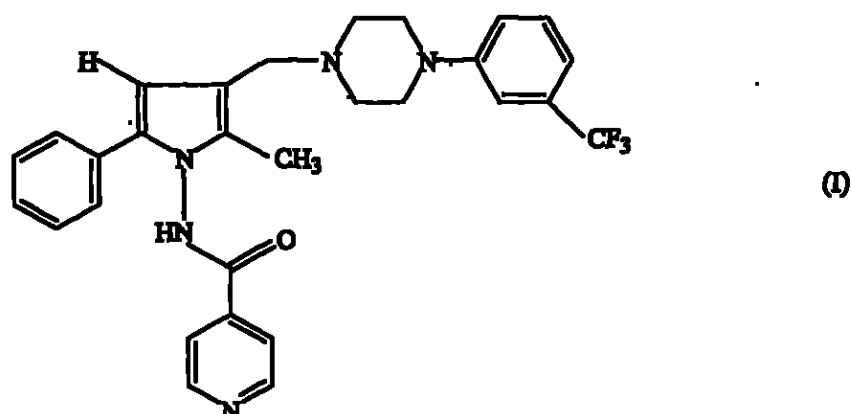
Separate administration of each compound, at different times and by different routes, in some cases would be advantageous. Thus, the components in the combination i. e. the pyrrole derivative of formula (I) and one or more of the first line antitubercular drugs need not be necessarily be administered at essentially same time or in any order. The administration can be so timed that the peak pharmacokinetic effect of one compound coincides with the peak pharmacokinetic effect of the other.

All the active ingredients can be formulated into separate or individual dosage forms which can be co-administered one after the other. Another option is that if the route of administration is the same (e.g. oral) two or more of the active compounds can be formulated into a single form for co-administration, both methods of co-administration, however, being part of the same therapeutic treatment or regimen.

In one embodiment of the invention, the pyrrole compound of formula (I) and the first line antitubercular drugs are co-administered orally and separately through suitable dosage forms.

The formulations, combinations and compositions of the present invention is effected using suitable pharmaceutically acceptable excipients.

The treatment of tuberculosis comprises co-administration to a patient in need thereof the antimycobacterial combination comprising a therapeutically effective amount of N-(3-[[4-(3-trifluoromethylphenyl)piperazinyl]methyl]-2-methyl-5-phenyl-pyrrolyl)-4-pyridylcarboxamide of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof



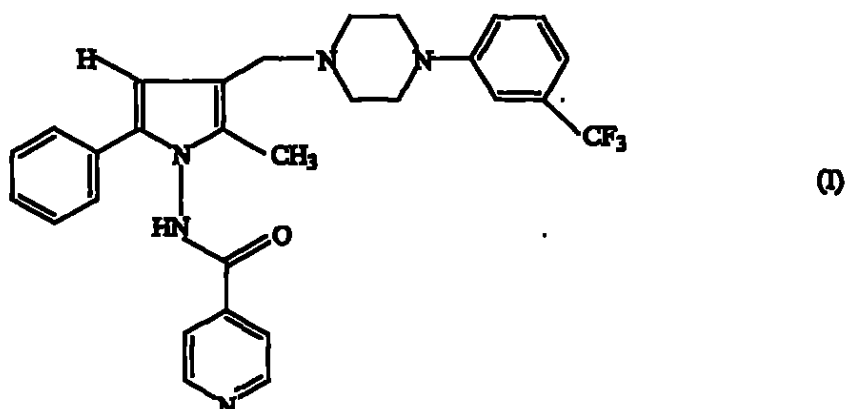
and a therapeutically effective amount of one or more first line antitubercular drugs selected from isoniazid, rifampicin, ethambutol.

In yet another further aspect, the present invention provides an effective treatment of tuberculosis in reduced treatment time.

In one example of the invention the treatment time is reduced to two to three months. In another example of the invention there is complete eradication of sensitive and drug resistant strains which cause tuberculosis. Examples of sensitive and drug resistant strains are *M. tuberculosis*, *Mycobacterium avium* - *intracellular complex*, *M. fortuitum*, *M. kansasii* and other related mycobacterial species.

In another further aspect, the present invention provides a method to prevent relapse of tuberculosis after the cessation of the treatment. The method comprises co-administration to a patient in need of an antimycobacterial combination comprising a therapeutically effective

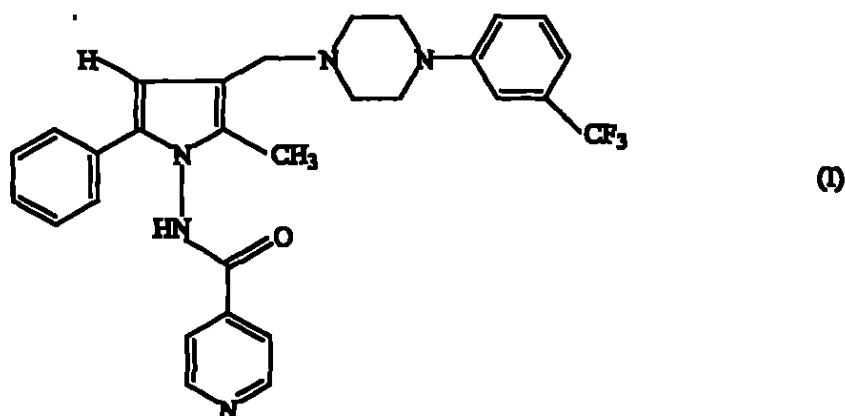
amount of N-(3-[[4-(3-trifluoromethylphenyl) piperazinyl]methyl]-2-methyl-5-phenyl-pyrrolyl)-4-pyridylcarboxamide of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof



- 5 and a therapeutically effective amount of one or more of the first line antitubercular drugs selected from isoniazid, rifampicin, ethambutol and pyrazinamide.

The relapse may be the result of the reactivation of dormant or latent sensitive and multi-drug resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium - intracellular complex*, *M. fortuitum*, *M. kansasii* and other related mycobacterial species.

- 10 In another aspect, the present invention provides a synergistic antimycobacterial combination comprising a synergistically effective amount of compound of N-(3-[[4-(3-trifluoromethylphenyl)piperazinyl]methyl]-2-methyl-5-phenyl-pyrrolyl)-4-pyridylcarboxamide of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof



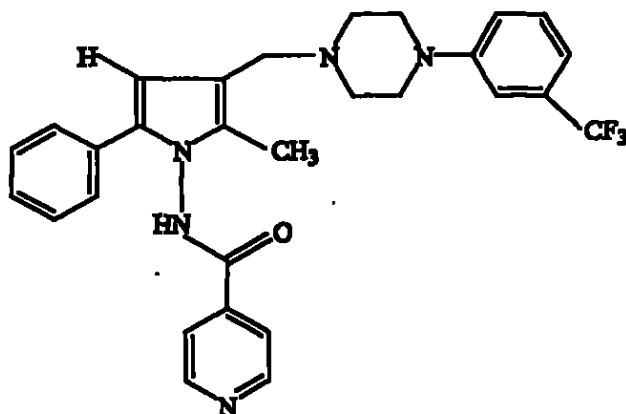
and a therapeutically effective amount of one or more first line antitubercular drugs selected from isoniazid, rifampicin, ethambutol and pyrazinamide for the treatment of tuberculosis including multi-drug resistant varieties and latent tuberculosis.

Another aspect of the invention is achieving a therapeutically synergistic effective treatment of tuberculosis comprising co-administering to a patient in need of such treatment an amount of:

- (i) a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salts thereof, and
- (ii) one or more of first line antitubercular drugs selected from isoniazid, rifampicin, ethambutol and pyrazinamide.

wherein the amount of (i) alone and the amount of isoniazid, rifampicin, ethambutol or pyrazinamide alone is insufficient to achieve the synergistic therapeutically effective level of treatment of tuberculosis but wherein the combined effect of the amount of (i) and one or more of isoniazid, rifampicin, ethambutol or pyrazinamide is greater than the sum of levels of the therapeutic effects of tuberculosis treatment achievable with the individual amounts of (i) and isoniazid, rifampicin, ethambutol or pyrazinamide.

In yet another aspect, the present invention provides an antimycobacterial pharmaceutical composition comprising a combination of a therapeutically effective amount of N-(3-[[4-(3-trifluoromethylphenyl) piperazinyl] methyl]-2-methyl-5-phenyl-pyrrolyl)-4-pyridylcarboxamide of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof.

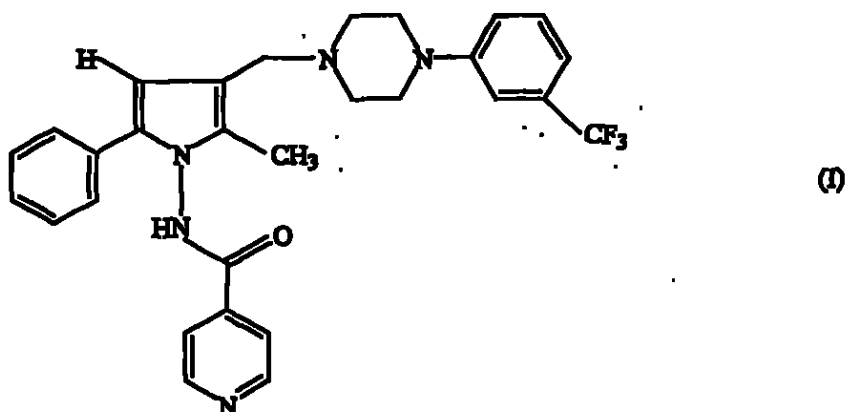


(I)

with a therapeutically effective amount of one or more first line antitubercular drugs selected from isoniazid, rifampicin, ethambutol and pyrazinamide and in admixture with a pharmaceutically acceptable excipient for the treatment of tuberculosis.

This composition can also be used for treatment of multi-drug resistant varieties and latent tuberculosis.

In a further aspect, the present invention provides an antimycobacterial pharmaceutical composition comprising a combination of a therapeutically effective amount of N-(3-[[4-(3-trifluoromethylphenyl) piperazinyl]methyl]-2-methyl-5-phenyl-pyrrolyl)-4-pyridylcarboxamide of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof



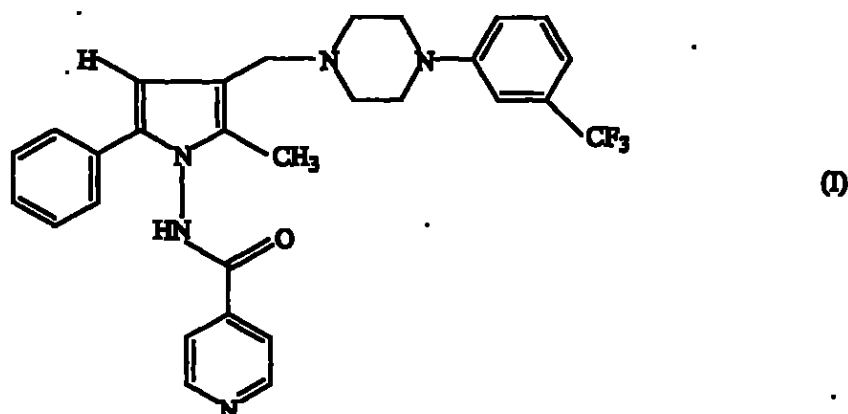
10

with a therapeutically effective amount of one or more first line antitubercular drugs selected from isoniazid, rifampicin, ethambutol and pyrazinamide and in admixture with a pharmaceutically acceptable excipient for treatment and/or inhibition of one or more mycobacterial conditions/ cells including but not limited to sensitive and multi-drug resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium* - intracellular complex, *M. fortuitum*, *M. kansasii* and other related mycobacterial species.

In another further aspect, the present invention provides a method that is useful in preventing relapse of tuberculosis infection after the cessation of the treatment comprising co-administration to a patient in need thereof an antimycobacterial pharmaceutical composition comprising a combination of a therapeutically effective amount of N-(3-[[4-(3-trifluoromethylphenyl)piperazinyl]methyl]-2-methyl-5-phenyl-pyrrolyl)-4-pyridylcarboxamide of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof

20

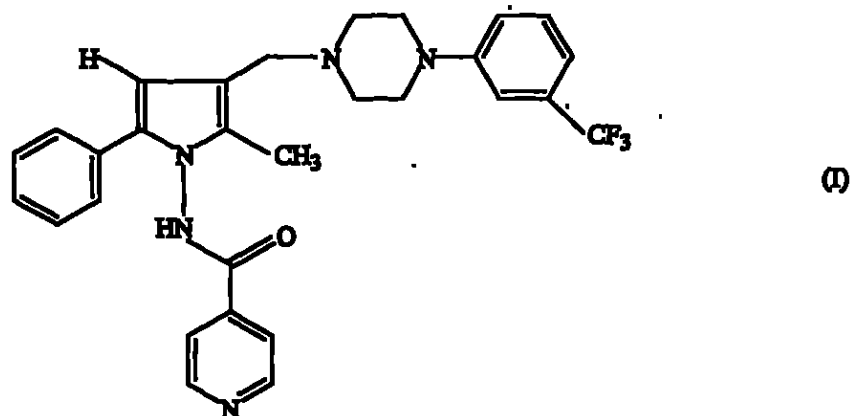
22



with a therapeutically effective amount of one or more first line antitubercular drugs selected from isoniazid, rifampicin, ethambutol and pyrazinamide and in admixture with a pharmaceutically acceptable excipient.

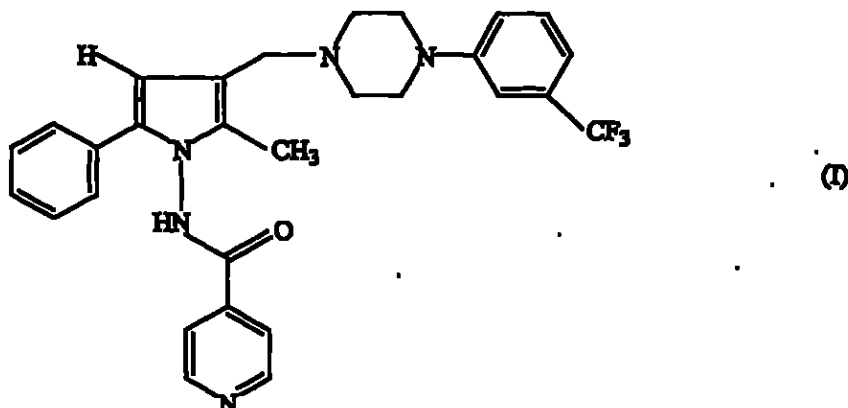
- 5 The relapse may be the result of the reactivation of dormant or latent sensitive and multi-drug resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium* - *intracellular complex*, *M. fortuitum*, *M. kansasii* and other related mycobacterial species

- 10 In yet another further aspect, the present invention provides a effective treatment of tuberculosis which not only reduces the treatment time to two to three months but results in complete eradication of sensitive and drug resistant *M. tuberculosis* comprising co-administration to a patient in need thereof of an antimycobacterial pharmaceutical composition comprising a combination of a therapeutically effective amount of N-(3-[[4-(3-trifluoromethylphenyl)piperazinyl]methyl]-2-methyl-5-phenyl-pyrrolyl)-4-pyridylcarboxamide of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof



with a therapeutically effective amount of one or more first line antitubercular drugs selected from isoniazid, rifampicin, ethambutol and pyrazinamide and in admixture with one or more pharmaceutically acceptable excipients.

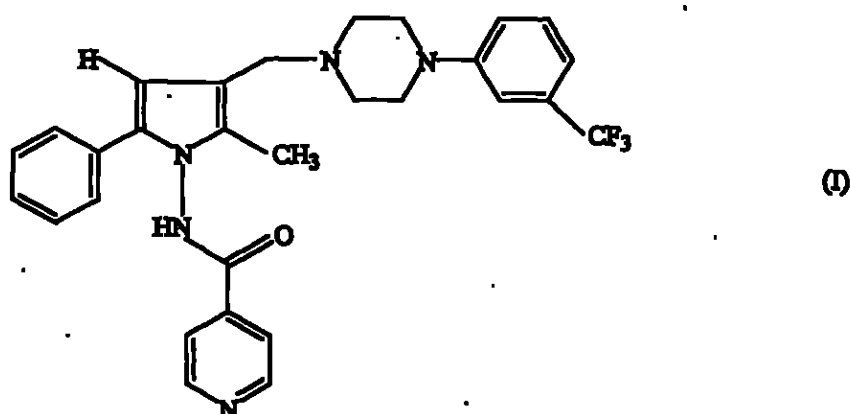
In another aspect, the present invention provides a synergistic antimyco-bacterial pharmaceutical composition comprising a combination of a synergistically effective amount of N-(3-[[4-(3-trifluoromethylphenyl)piperazinyl] methyl]-2-methyl-5-phenyl-pyrrolyl)-4-pyridylcarboxamide of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof



with a therapeutically effective amount of one or more first line antitubercular drugs selected from isoniazid, rifampicin, ethambutol and pyrazinamide and in admixture with one or more pharmaceutically acceptable excipients for the treatment of tuberculosis including multi-drug resistant varieties and latent tuberculosis.

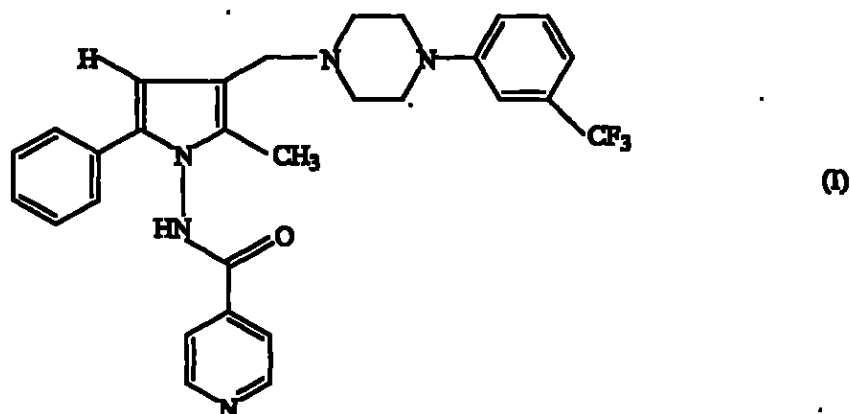
In yet another aspect, the present invention provides a method for treatment and/or inhibition of one or more multi-drug resistant strains selected from but not limited to *M. tuberculosis* *Mycobacterium avium* - intracellular complex, *M. fortuitum*, *M. kansasii* and other related mycobacterial species comprising administering a combination of a therapeutically effective amount of N-(3-[[4-(3-trifluoromethylphenyl)piperazinyl] methyl]-2-methyl-5-phenyl-pyrrolyl)-4-pyridylcarboxamide of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof

24



with a therapeutically effective amount of one or more first line antitubercular drugs selected from isoniazid, rifampicin, ethambutol and pyrazinamide and in admixture with a pharmaceutically acceptable excipient.

5 In a further aspect, of the present invention provides a process for preparation of an antimycobacterial pharmaceutical composition comprising a combination of a therapeutically effective amount of N-(3-[[4-(3-trifluoromethylphenyl) piperazinyl]methyl]-2-methyl-5-phenyl-pyrrolyl)-4-pyridylcarboxamide of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof



10

with a therapeutically effective amount of one or more first line antitubercular drugs selected from isoniazid, rifampicin, ethambutol and pyrazinamide in admixture with one or more pharmaceutically acceptable excipients for treatment of tuberculosis including multi-drug resistant varieties and latent tuberculosis. A pharmaceutical composition comprising a

15 combination of N-(3-[[4-(3-trifluoromethylphenyl)piperazinyl]methyl]-2-methyl-5-phenyl-

pyrrolyl)-4-pyridylcarboxamide of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof with one or more first line antitubercular drugs may be preferably administered orally. Oral administration may be achieved through a tablet form comprising the above ingredients in admixture with one or more pharmaceutically acceptable excipients. Oral formulations are
5 useful in providing accurate dosage, rapid dispensing and importantly encouraging patient compliance.

The pharmaceutically acceptable excipients that can be employed in the formulations or compositions include one or more of antioxidants, fillers, inert diluents, surfactants and conventional additives such as lubricating agents and opacifiers.

10 The antioxidants which can be used include but are not limited to ascorbic acid, butylated hydroxyanisole, butylated hydroxytoluene, fumaric acid, malic acid, propylgallate, sodium ascorbate, sodium metabisulfite etc.

The inert diluents which can be used include but are not limited to calcium carbonate, calcium sulfate, dextrates, dibasic calcium phosphate, hydrogenated vegetable oil, magnesium
15 carbonate, magnesium oxide, mannitol, microcrystalline cellulose, polymethacrylates, powdered cellulose, pregelatinized starch, sorbitol, starch, tribasic calcium phosphate etc.

The surfactants which can be used include but are not limited to ionic surfactants like docusate sodium (dioctyl sodium sulfosuccinate), sodium lauryl sulfate etc. or non-ionic surfactants like glyceryl monooleate, polyoxyethylene etc. or sorbitan fatty acid esters like
20 polysorbate 80, polyvinyl alcohol etc.

Suitable lubricants which can be used in the pharmaceutical composition include but are not limited to magnesium stearate, sodium stearyl fumarate, hydrogenated vegetable oil, hydrogenated castor oil, hydrogenated cottonseed oil, stearic acid and calcium stearate, colloidal silicon dioxide and the like.

25 The lubricant is selected such that it provides an effective lubricating effect. For example, a typical formulation can contain from 0% to 10% percent by weight of the lubricant. In an embodiment the formulation contains from 0.2% to 2% percent by weight of the lubricant.

Suitable opacifiers which can be used in the pharmaceutical composition include but are not limited to titanium dioxide, talc, colloidal silicon dioxide etc.

The pharmaceutical composition in a fixed dose combination comprising a compound of formula (I) and one or more of the antitubercular compounds and pharmaceutically acceptable carriers can be prepared by conventional methods in the art. For e.g., a tablet form of the combination can be prepared by any one of the following non-limiting techniques, viz.

i) *Dry Granulation Method* : This method comprises sifting of the respective active ingredients and the pharmaceutical excipients, followed by granulation of the resulting powder mixture by compression in the absence of heat and solvent [Pharmaceutical Dosage Forms : Tablets, Vol. I, Page 173, ed. H. A. Lieberman, Marcel Dekker Inc., 1980].

ii) *Wet Granulation Method* : This method comprises sifting of the respective active ingredients and the pharmaceutical excipients and the resulting particles are stuck together using an adhesive to produce a granular product with improved flow properties and an increased ability to cohere under pressure.

iii) *Direct Compression Method* : This method comprises direct compression of the respective active ingredients and the pharmaceutical excipients without any preliminary treatment [The Pharmaceutical Codex, Principle and Practice of Pharmaceutics; page 10, ed. W. Lund, The Council of the Royal Pharmaceutical Society of Great Britain].

Some examples of the present invention, are combinations and the pharmaceutical compositions which encompass the following non-limiting mixtures, viz.

- a) A compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof and rifampicin.
- b) A compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof and isoniazid.
- c) A compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof, isoniazid and rifampicin.
- d) A compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof, isoniazid, rifampicin and pyrazinamide.

- e) A compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof, pyrazinamide and ethambutol.
- f) A compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof, rifampicin and pyrazinamide.

5 Other examples of the present invention, are combinations and the pharmaceutical compositions that encompass the following non-limiting mixtures, viz.

- a) 12.5 or 25.0 mg/kg of a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof and 20.0 mg /kg of rifampicin.
- 10 b) 12.5 or 25.0 mg /kg of a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof and 25.0 mg /kg of isoniazid.
- c) 12.5 or 25.0 mg/kg of a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof and 25.0 mg/kg of isoniazid and 20.0 mg/kg of rifampicin.
- 15 d) 12.5 or 25.0 mg /kg of a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof, 25.0 mg/kg of isoniazid, 20.0 mg/kg of rifampicin and 150.0 mg/kg of pyrazinamide.
- e) 12.5 or 25.0 mg/kg of a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof, 150.0 mg /kg of pyrazinamide and 100.0
- 20 mg/kg of ethambutol.
- f) 3.12, 6.25 or 12.5 mg/kg of a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof, 250.0 mg /kg of isoniazid, 20.0 mg/kg of rifampicin and 150.0 mg/kg of pyrazinamide.
- g) 3.12, 6.25 or 12.5 mg/kg of a compound of formula (I) or a
- 25 pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof, 20.0 mg/kg of rifampicin and 150.0 mg/kg of pyrazinamide.

Synthesis of Compound of Formula (I)

The compound of formula (I) and the pharmaceutically acceptable salts thereof can be synthesized by any known method including but not limited to the methods disclosed in our PCT Application No. PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1), which is incorporated herein by
5 reference.

An example of the preparation of N-(3-[[4-(3-trifluoromethylphenyl)piperazinyl]methyl]-2-methyl-5-phenyl-pyrrolyl)-4-pyridylcarboxamide is as follows:

Preparation of N-(3-[[4-(3-trifluoromethylphenyl)piperazinyl]methyl])-2-methyl-5-
10 phenylpyrrolyl)-4-pyridylcarboxamide

Step 1**1-(4-chlorophenyl)pentane-1,4-dione**

15 To a well stirred suspension of anhydrous aluminium chloride (27.0gm, 205.9mmol) in 126ml. of chlorobenzene was added oxopentanoylchloride (23.0gm, 171.6 mmol) drop-wise, over a period of 30-35 minutes at room temperature (25-30EC). The reaction mixture was stirred at the same temperature for 1 hour. After decomposition of the reaction mixture by the addition of solid ice and hydrochloric acid (10ml) the precipitated solid was filtered and the
20 filtrate evaporated on a rotary evaporator to remove all the solvents. The residue was dissolved in ethyl acetate (400 ml.), washed with water (2 x 100ml.), brine (100 ml.) and dried over anhydrous sodium sulfate and the solvent evaporated off. The crude product so obtained was chromatographed over silica gel (100-200 mesh) using chloroform as eluent to give 8.6gm (24.07%) of the title compound.

25

29

Step 2

N-(5-methyl-2-phenylpyrrolyl)-4 pyridylcarboxamide

A mixture of 1- (chlorophenyl)pentane-1,4-dione (6.0g, 28.50 mmol, as obtained in
5 Step-1) and isonicotinic hydrazide (4.30gm, 31.35 mmol) in benzene (6.0 ml.) was refluxed by
over molecular sieves. After two hours, benzene was removed under reduced pressure and the
residue dissolved in ethyl acetate, washed with water (2 x 100 ml.) and brine (1 x 50 ml.). The
ethyl acetate layer was dried over anhydrous sodium sulfate and the solvent evaporated off.
The crude product so obtained as purified by column chromatography over silica gel (100-200
10 mesh) using 0.2% methanol in chloroform as eluent to give 3.50gm (39.42%) of the title
compound.

Step 3

15 N-(3-([4-(3-trifluoromethylphenyl)piperazinyl]methyl)-2-methyl-5-phenylpyrrolyl)-4-
pyridylcarboxamide

To a stirred solution of N-(5-methyl-2-phenylpyrrolyl)-4-pyridylcarboxamide
(0.300gm, 1.083 mmol, as obtained in Step-2) in acetonitrile (5.0 ml.) was added a mixture of
1-(3-trifluoromethylphenyl)piperazine hydrochloride (0.288gm, 1.083mmol), 40%
20 formaldehyde (0.032gm, 1.083 mmol) and acetic acid (0.09 ml), drop-wise. After the
completion of addition, the reaction mixture was stirred at room temperature for 4 hours. The
reaction mixture was neutralized with sodium hydroxide (20% aq. Soln.) and extracted with
ethyl acetate (2 x 50 ml.).

The combined ethyl acetate extract was washed with water (2 x 25 ml.), brine (1 x 20
25 ml.), and dried over anhydrous sodium sulfate and the solvent evaporated off. TLC of the
crude product indicated two spots, which were separated by column chromatography over
silica gel (100-200mesh).

The more polar compound a eluted out using 80% ethyl acetate- hexane mixture was obtained in 24.34 % (0.130 gm) and was identified as N-(3-{[4-(3-trifluoromethylphenyl)piperazinyl]methyl}-2-methyl-5-phenylpyrrolyl)-4- pyridylcarboxamide

5 m.p.80-82°C, MS: m/z 520 (M+1)

¹H NMR(CDCl₃, +): 2.13 (s, 3H,CH₃), 2.60 (bs, 4H, 2xN-CH₂),
3.18 (bs, 4H, 2xN-CH₂), 3.41 (s, 2H, N-CH₂), 6.24 (s, 1H,H-4), 6.97-7.03 (4H, m, ArH),
7.22-7.29 (m, 5H,ArH), 7.53 (d, 2H, J=6Hz, pyridyl ring), 8.50 (bs, 1H,NH D₂O exchangeable),
10 8.70 (d, 2H, J=6Hz, pyridyl ring).

PHARMACOLOGICAL TESTING

The preliminary antimycobacterial activity of the compound of formula (I) has been reported in our co-pending PCT Application No. PCT/IN02/00189. Further microbiological,
15 toxicological and pharmacokinetic studies were carried out and are detailed hereinbelow. The compound of formula I that was used in the tests described below is the hydrochloride salt of the compound of formula (I) (hydrochloride salt of N-(3-{[4-(3-trifluoromethylphenyl)piperazinyl]methyl}-2-methyl-5-phenyl-pyrrolyl)-4-pyridylcarboxamide)).

20

In vitro Studies

Agar Dilution Assay to Determine Minimal Inhibitory Concentrations

MIC of the individual compounds against strains of mycobacterium was determined by
25 a reference agar dilution method as per the NCCLS-M24-T2 recommendations. The compounds were dissolved in DMSO and diluted two fold to obtain ten serial dilutions of each compound. An appropriate volume of the compounds was incorporated into duplicate plates of Middlebrook7H10agar medium supplemented with 10% Middle brook supplement oleic acid-albumin-dextrose (OADC) enrichment at a concentration of 0.03 µg/ml to 16 µg/ml. Test

organisms (mycobacterium strains) were grown in Middle brook 7H9 broth containing 0.05% Tween-80 and 10% ADC supplement. After 7 days of incubation at 37EC the broths were adjusted to the turbidity of 1.0 McFarland standard; the organism were further diluted 10 fold in sterile water containing 0.10%Tween-80. The resulting mycobacterial suspensions were spotted (3-5 µl/spot) onto drug supplemented 7H10 media plates. The plates were sealed and incubated at 37EC for 3-4 weeks in an upright position. The MIC was recorded as the lowest dilution of the compound that completely inhibited the growth of test organisms. Test isolates included clinical isolates that were generally sensitive/resistant to one or more standard anti tubercular drugs. Appropriate reference strains and control drug were included in each batch of the test.

Antimycobacterial Activity of Compound of Formula (I)

The *in vitro* activity exhibited by the hydrochloride salt of the compound of formula (I) (hydrochloride salt of N-(3-[[4-(3-trifluoromethylphenyl)piperazinyl] methyl]-2-methyl-5-phenyl-pyrrolyl)-4-pyridylcarboxamide) against approximately 200 sensitive and resistant clinical isolates of *M. tuberculosis* is summarized in Table-I.

Table I
In vitro* Antimycobacterial Activity Of Compound of Formula (I) Against Clinical Isolates of *M. tuberculosis

Sr. No.	Compound/Drug	MIC (µg/ml) against <i>M. tuberculosis</i> isolates		
		Range	MIC50	MIC90
1	Compound of formula (I)	0.12 – 0.5	0.12	0.25
2	Isoniazid	0.12 - >16.0	4	>16.0
3	Rifampicin	0.12 - >16.0	4	>16.0

Mycobactericidal Activity of Compound of Formula (I)

Fig. 1 shows a kill curve of a compound of formula (I) against *M. tuberculosis* H₃₇Rv .

Fig. 2 shows a kill curve of compound of formula (I) in combination with known
5 antitubercular drugs.

Fig. 3 shows a kill curve of compound of formula (I) in combination with known
antitubercular drugs.

To determine whether the inhibitory activity of the compound of formula (I) is cidal or static the *M. tuberculosis* culture was incubated in the presence of different concentrations (1X,
10 2X, 4X, 8X, 16 MIC) of the compound of formula (I). A fixed volume (0.1ml) of the culture was withdrawn from all the flasks daily for 21 days. The sample was then diluted ten fold and spotted on to Middle brook 7H10 medium for enumeration of tubercle bacilli.

A concentration and time showing 3 log reduction in *M. tuberculosis* count compared to untreated control was considered as cidal concentration. The compound of formula (I) was
15 found to exhibit dose dependent killing of *M. tuberculosis* and hence determined to be cidal (3 log reduction in viable counts) at 8X and 16X MIC concentration. The kill curve of compound of formula (I) against of *M. tuberculosis* H37 Rv strain determined by the variable count estimation method is depicted in Fig-1.

20 Synergistic Studies

The synergistic effect of the compound of formula (I) in the combination was determined using a micro broth checkerboard assay in combination with known antitubercular drugs. To test for synergy, serial dilution of the compound of formula (I) was added to a mycobacterial culture in the presence of another antitubercular drug viz. isoniazid, rifampicin,
25 ethambutol and moxifloxacin. After 28 days all plates were read for complete absence of growth in the wells containing different drug combinations. The highest dilution of the combination not showing visible growth was considered as the MIC value of that combination. A compound was considered to possess synergy with another drug if the MIC of the individual compound improves by four fold or more.

The compound of formula (I) was found to exhibit synergistic activity in the *in vitro* broth micro dilution assay with rifampicin, additive effect with ethambutol but was not found to be affected in presence of isoniazid as summarized in Table- II.

5

Table II
***In vitro* Synergy Of Compound of Formula (I) With Known Antitubercular Drugs By Micro Broth Dilution Method**

COMPOUND		INTERPRETATION
Compound of formula (I)	ISONIAZID	INDIFFERENT
Compound of formula (I)	RIFAMPICIN	SYNERGY
Compound of formula (I)	ETHAMBUTOL	ADDITIVE
Compound of formula (I)	MOXIFLOXACIN	ANTAGONISTIC

10

***In vivo* Studies Alone or in Combination**

The efficacy of the compound of formula (I) was also evaluated in murine model of pulmonary tuberculosis. *Mycobacterium tuberculosis* cultures were grown in Middle Brook 7H9 broth containing 0.05% Tween-80 and 10% ADC supplement at 37EC for 7 days. For animal inoculation liquid culture was declumped by brief sonication and settling and were diluted appropriately in 7H9 broth to obtain a concentration of 1x10⁷ CFU's / 0.2ml.

15

Four-week-old female out bred Swiss albino mice housed in a pathogen free, biosafety level 3 environments within micro isolator cages were used throughout the study. Infections were produced by intravenous inoculation into the caudal tail vein of 0.2ml of declumped *M. tuberculosis* suspension. Following infection mice were randomly distributed in different groups of six each. Treatment began 14 days after infection. For treatment the compound of formula (I) and isoniazid were dissolved in sterile water and rifampicin was dissolved in 10% DMSO and diluted in water. The drugs were prepared every morning prior to administration.

20

Therapy was given 5/7 days per week for one month. All the agents were administered by gavages and were dosed at 50, 25, or 12.5mg/ kg of body weight. The control group of infected but untreated mice was killed at the initiation of therapy (early control) or at the end of the treatment period (late control). Mice were sacrificed by cervical dislocation 5 days after the administration of the last dose of drug. The spleens and right lung were removed aseptically and homogenized in tissue homogeniser. At least 4 - 6 serial ten fold dilutions of the homogenate were plated onto selective Middle brook 7H11 agar plates in duplicate. The colony counts were recorded after incubation at 37°C for 4 weeks. The viable cell counts were converted to Log₁₀ values. A compound showing 2 Log reduction in viable counts compared to the controls was considered significant.

Long term *in vivo* experiments were conducted to evaluate the activity of compound of formula (I) in mono therapy and in combination with first line antitubercular drugs like Isoniazid, rifampicin, ethambutol, and pyrazinamide. In these studies the efficacy of different combination was evaluated at different time points i.e., one, two, three months of treatment.

15

Results of *in vivo* Efficacy Studies

It was observed that monotherapy with the compound of formula (I) resulted in significant (> 2log) reduction in viable bacilli in the target organs as compared to control animals as given in Table-III.

20

The compound of formula (I) demonstrated a 2 log reduction in the organs of the animals that were treated with 12.5 mg/kg body weight dose in animals infected with sensitive/ resistant strains of *M. tuberculosis*, whereas isoniazid gave similar reduction in bacterial load at concentrations 25 mg/kg or more against sensitive strain but was not effective against resistant strains up to 50 mg /kg.

25

Further, studies to determine the long-term effect of treatment (two to three months) with compound of formula (I) were found to result in a decrease of the mycobacterial load in the target organs. Complete absence of mycobacterium was seen in 33% of the animals treated for three months. The results are summarized in Table-IV and Table-V respectively.

Table III

In vivo Efficacy Of Compound of Formula (I) After One Month Of Treatment In Mice
Model Infected With The Sensitive And Resistant Strains Of *M. tuberculosis*.

5

Sr. No.	Compound	Mean Log ₁₀ CFU in organs of mice infected with sensitive strain of MTB		Mean Log ₁₀ CFU in organs of mice infected with resistant strain of MTB	
		Lung	Spleen	Lung	Spleen
1	Compound of formula (I) 12.5mg/kg 25mg/kg 50mg/kg				
		2.5±0.35	2.89±0.32	2.97±0.53	3.02±0.22
		2.3±0.63	2.42±0.15	2.70±0.36	2.54±0.20
		2.1±0.36	2.28±0.38	2.59±0.22	2.32±0.39
2	Isoniazid 12.5mg/kg 25mg/kg 50mg/kg				
		4.56±0.24	4.93±0.42	5.47±0.54	5.01±0.45
		3.19±0.6	3.08±0.44	5.34±0.34	4.97±0.52
		2.97±0.46	2.89±0.27	4.77±0.61	4.83±0.68
3	Control (Untreated)	5.59±0.29	5.95±0.42	5.33±0.37	5.25±0.41

Table IV
In vivo Efficacy Of Compound Of Formula (I) In Mice Model Treated For Two Months

Compound		Mean Log ₁₀ CFU in organs of mice infected with sensitive strain of MTB		Mean Log ₁₀ CFU in organs of mice infected with resistant strain of MTB	
		Lung	Spleen	Lung	Spleen
8 Weeks Treatment	Compound of formula (I) 50mg/kg 25mg/kg 12.5mg/kg				
		2.20±0.56	2.17±0.46	2.51±0.72	2.37±0.61
		2.89±0.73	2.37±0.68	2.83±0.66	2.61±0.56
		3.44±0.69	2.75±0.63	3.32±0.6	3.1±1.13
	Isoniazid 50mg/kg 25mg/kg 12.5mg/kg				
		2.45±0.60	2.30±0.38	5.42±0.74	5.1±0.61
		3.01±0.68	2.68±0.89	5.91±0.35	5.7±0.34
		3.9±0.45	3.73±0.52	6.01±0.9	5.88±0.41
	Control Early Late				
		5.81±0.32	5.6±0.75	5.67±0.35	5.74±0.39
		6.95±0.36	6.69±0.46	7.03±0.18	6.95±0.29

Table V
***In vivo* Efficacy of Compound Of Formula (I) In Mice Model Treated For Three Months**

Compound		Mean Log ₁₀ CFU in organs of mice infected with sensitive strain of MTB		Mean Log ₁₀ CFU in organs of mice infected with resistant strain of MTB	
		Lung	Spleen	Lung	Spleen
12 Weeks Treatment	Compound of formula (I) 50mg/kg 25mg/kg 12.5mg/kg	1.46±1.06	1.56±1.12	1.79±0.92	1.69±0.88
		1.71±1.24	1.63±0.98	1.86±0.97	1.79±0.92
		2.76±0.53	2.68±0.27	2.51±0.18	2.6±0.34
	Isoniazid 50mg/kg 25mg/kg 12.5mg/kg	2.07±0.33	2.68±0.36	4.76±0.20	5.64±0.66
		3.06±0.83	2.41±0.69	4.79±0.55	5.62±0.63
		3.94±0.28	3.9±0.37	5.1±0.7	5.72±0.17
	Control Early Late	5.8±0.32	5.6±0.25	5.67±0.35	5.74±0.38
		7.1±0.41	7.16±0.23	7.2±0.23	7.46±0.27

5

Pharmacokinetic Studies

Preliminary Pharmacokinetics studies of the compound of formula (I) was performed in mice and dog to determine bioavailability and serum levels achieved and maintained by the compounds.

10

The results of the study summarized in Table-VI demonstrate that compound of formula (I) is bioavailable (56.40%) and has better half life and C_{max} than isoniazid and is retained in the serum for longer time at concentration > MIC value.

Table VI
Pharmacokinetic Data Of Compound Of Formula (I) In Mice And Dogs

Compound	Animal	Dose/route	T _{max} (Hr)	T _{1/2} (Hr)	C _{max}	AUC _{last}	Absolute bioavaila- bility
Formula (I)	Mice	25.0 mg	2.00	3.41	2.68	6.88	—
	Mice	(Oral)	1.50	5.34	0.66	2.21	—
	Dog	12.5 mg	3.48	—	8.65	19.98	—
	Dog	(Oral)	0.75	5.07	3.384	10.64	56.40
		12.5mg (I.V.) 12.5mg (Oral)					

5

Toxicity Studies

Acute toxicity of the compound of formula (I) was determined in rodents by oral route. The LD₅₀ was found to be 700mg / kg in mice and 793 mg/kg in rats which is better than the LD₅₀ of isoniazid. The results are summarized in Table-VII.

10

Table VII
Preliminary Acute Toxicity (Oral Route) Studies On Compound Of Formula (I)

Sr. No.	Compound	Animal	LD ₅₀ values (mg /kg)
1	Formula (I)	Mice	700
2	Formula (I)	Rats	793

15

In addition, compound of formula (I) was found to be non mutagenic for all the bacterial strains used in the Ames Mutagenicity test.

Experiments To Demonstrate The Antimycobacterial Activity of Compound of Formula (I)
In Combination With One Or More Antitubercular Drugs

20

In vitro Activity of the Combination

The cidal effect of the combination of the compound of formula (I) of the with one or more first line antitubercular drug was determined in terms of dose and time taken for treatment.

5 The combination of compound of formula (I) with isoniazid, rifampicin and pyrazinamide (LIRZ) was found to exert mycobactericidal (Fig. 2) effect at 8 and 16x MIC on day 10 whereas combination of isoniazid, rifampicin and pyrazinamide without compound of formula (I) [IRZ] produced cidal effect only on day 20.

10 A kill curve of the compound of formula (I) in combination with known antitubercular drugs[Isoniazid (I); Rifampicin (R); and Pyrazinamide (Z)] against *M. tuberculosis* as determined by Viable Count Estimation Method is depicted in Fig-2.

15 Further, similar effect on the mycobactericidal activity was observed in the combination of compound of formula (I) with rifampicin and pyrazinamide without isoniazid comprising compound 'A' The combination demonstrated mycobactericidal activity at 8 and 16x MIC on day 14.

 A kill curve of compound of formula (I) in combination with known antitubercular drugs[Rifampicin (R) and Pyrazinamide (Z)], without isoniazid against *M. tuberculosis* as determined by Viable Count Estimation Method is depicted in Fig-3.

In vivo Activity of the Combination

20 In the mice treated with a combination of compound of formula (I) and one or more of first line antitubercular drugs a significant reduction in the load of tubercle bacilli was observed in all the combinations tested. Maximum reduction was observed in the animals treated with a combination of compound of formula (I) with two or three antitubercular drugs eg. compound
25 (I) in combination with isoniazid and rifampicin and in combination with isoniazid, rifampicin and pyrazinamide after one month.

 The observed *in vivo* efficacy of the combination of compound of formula (I) with known antitubercular drugs in mice model after treatment for one month is summarized in Table-VIII.

Further, treatment for two months resulted in absence of growth in the organs of 66% of the animals infected with sensitive/ resistant strains of *M.tuberculosis* treated with combination of compound of formula (I) with two or three known antitubercular compounds like isoniazid, rifampicin and pyrazinamide.

The observed *in vivo* efficacy of the combination of compound of formula (I) with known antitubercular drugs in mice model after treatment for two months is summarized in Table-IX.

Further, treatment for three months showed complete absence of growth on the animals infected with sensitive/resistant strains of *M.tuberculosis* treated with combination of compound of formula (I) with two or three known antitubercular compounds like isoniazid, rifampicin and pyrazinamide.

The observed *in vivo* efficacy of the combination of compound of formula (I) with known antitubercular drugs in mice model after treatment for three months is summarized in Table-X.

Significantly, lower doses of compound of formula (I) i. e. 12.5, 6.25, and 3.12 mg /kg in combination with the known antitubercular drugs, viz. isoniazid, rifampicin and pyrazinamide is found to exhibit excellent *in vivo* efficacy and completely sterilize the organs of animals infected with sensitive/resistant strains of *M. tuberculosis* after two months of treatment. The results are summarized in Table-XI.

Table VIII

In vivo Efficacy Of Compound Of Formula (I) In Combination With Known Anti tubercular Drugs In Mice Model Treated For One Month

Combination	Dose (mg /kg)	Mean Log ₁₀ CFU in organs of mice infected with sensitive strain of MTB		Mean Log ₁₀ CFU in organs of mice infected with resistant strain of MTB	
		Lung	Spleen	Lung	Spleen
(I) + INH	12.5+25.0	3.10±0.48	2.62±0.34	2.81±0.46	2.72±0.28
(I) +INH	25.0 +25.0	3.05±0.44	2.33±0.20	2.57±0.64	2.52±0.59
(I) +RIF	12.5+20.0	3.24±0.54	2.73±0.34	2.39±0.55	2.47±0.55
(I) +RIF	25 +20.0	3.08±0.4	2.52±0.60	2.34±0.34	2.18±0.43
(I) +INH + RIF	12.5+25.0 +20.0	3.02±0.43	2.95±0.39	1.97±0.37	2.38±0.99
	25.0 +25.0 + 20.0	3.39±0.32	2.94±0.42	2.21±0.58	2.35±0.90
(I) +INH + RIF + PYR	12.5+25.0 +20.0+150.0	2.83±0.46	2.22±0.33	2.99±0.32	2.49±0.39
	25.0 +25.0 + 20.0+ 150.0	2.84±0.48	2.10±0.36	2.73±0.43	2.33±0.24
(I) + ETH + PYR	12.5+100.0+150.0	3.55±0.32	2.85±0.33	3.27±0.42	2.80±0.24
(I) + ETH + PYR	25.0+100.0+150.0	3.28±0.52	2.30±0.40	3.22±0.18	2.57±0.38
INH	25.0	3.20±0.45	2.78±0.30	5.23±0.27	4.61±0.43
RIF	20.0	2.75±0.36	2.78±0.42	3.05±0.43	2.44±0.32
INH + RIF	25.0+20.0	3.09±0.33	3.04±0.36	3.31±0.32	2.82±0.29
INH +RIF +PYR	25.0+20.0 +150.0	3.17±0.33	2.95±0.29	3.18±0.27	3.05±0.37
ETH + PYR	100.0+ 150.0	3.51±0.13	3.25±0.33	3.47±0.30	3.05±0.36
(I)	25.0	3.11±0.38	2.42±0.4	2.86±0.37	2.25±0.18

Combination	Dose (mg /kg)	Mean Log ₁₀ CFU in organs of mice infected with sensitive strain of MTB		Mean Log ₁₀ CFU in organs of mice infected with resistant strain of MTB	
		Lung	Spleen	Lung	Spleen
EARLY CONTROL		5.62±0.72	5.23±0.38	5.41±0.63	5.13±0.68
LATE CONTROL		7.02±0.25	6.51±0.56	6.93±0.42	6.76±0.58

(I)= Compound of Formula (I) ; INH = Isoniazid ; RIF = Rifampicin ; PYR = Pyrazinamide ; ETH = Ethambutol

5

Table IX

In vivo Efficacy Of Compound of Formula (I) In Combination With Known Anti tubercular Drugs In Mice Model Treated For Two Months

Combination	Dose (mg /kg)	Mean Log ₁₀ CFU in organs of mice infected with sensitive strain of MTB		Mean Log ₁₀ CFU in organs of mice infected with resistant strain of MTB	
		Lung	Spleen	Lung	Spleen
(I) +INH	12.5+25.0	1.58±1.1	1.71±0.91	2.23±0.66	1.99±0.95
(I) +INH	25.0 +25.0	1.19±0.9	1.32±1.06	2.29±0.2	1.78±0.92
(I) +RIF	12.5+20.0	1.39±1.12	1.18±0.96	2.42±1.2	1.53±1.17
(I) +RIF	25.0 +20.0	0.99±1.01	1.76±0.99	1.97±1.23	1.32±0.94
(I) +INH + RIF	12.5+25.0+20.0	0.96±1.0	1.51±1.1	1.52±1.03	1.34±1.15
(I) +INH + RIF	25.0 +25.0+ 20.0	0.74±1.16	1.06±0.82	1.82±0.95	1.81±1.11
(I) +INH + RIF + PYR	12.5+25.0+20.0+150.0	0.92±0.76	0.70±0.50	1.20±1.15	1.35±1.09
(I) +INH + RIF + PYR	25.0 + 25.0+ 20.0+ 150.0	0.71±0.62	1.10±0.94	0.98±1.01	1.31±1.03

Combination	Dose (mg /kg)	Mean Log ₁₀ CFU in organs of mice infected with sensitive strain of MTB		Mean Log ₁₀ CFU in organs of mice infected with resistant strain of MTB	
		Lung	Spleen	Lung	Spleen
(I) +ETH + PYR	12.5+100.0+ 150.0	2.34±0.78	2.22±1.2	3.42±0.78	3.89±0.63
(I) + ETH + PYR	25.0+100.0 +150	2.48±0.78	2.61±0.52	3.16±0.68	3.37±0.58
INH	25.0	1.91±0.9	2.43±0.39	5.15±0.42	5.36±0.84
RIF	20.0	1.84±0.95	2.40±0.7	2.45±1.15	2.60±0.59
INH +RIF	25.0+20.0	1.63±1.03	2.28±0.63	2.91±1.05	3.13±0.5
INH+RIF+PYR	25.0+20.0 +150.0	1.41±0.95	3.13±0.98	1.89±1.16	2.18±1.08
ETH +PYR	100.0+150.0	3.23±0.57	4.06±0.74	4.13±0.44	4.18±0.48
(I)	25.0	1.86±0.94	2.60±0.45	2.37±0.81	2.52±0.48
EARLY CONTROL		6.01±0.48	6.47±0.36	6.1±0.34	6.38±0.47
LATE CONTROL		7.20±0.54	6.96±0.72	7.5±0.35	7.21±0.49

(I)= Compound of Formula (I) ; INH = Isoniazid ; RIF = Rifampicin ; PYR =
Pyrazinamide ; ETH = Ethambutol

5

Table X

in vivo Efficacy Of Compound Of Formula (I) In Combination With Known Anti
tubercular Drugs In Mice Model Treated For Three Months

Combination	Dose (mg /kg)	Mean Log ₁₀ CFU in organs of mice infected with sensitive strain of MTB		Mean Log ₁₀ CFU in organs of mice infected with resistant strain of MTB	
		Lung	Spleen	Lung	Spleen
(I) +INH	12.5+25.0	1.42±1.16	1.39±1.1	2.24±0.44	1.90±1.07
(I) +INH	25.0 +25.0	0.62±0.95	0.95±1.04	2.34±1.18	1.19±0.93

Combination	Dose (mg /kg)	Mean Log ₁₀ CFU in organs of mice infected with sensitive strain of MTB		Mean Log ₁₀ CFU in organs of mice infected with resistant strain of MTB	
		Lung	Spleen	Lung	Spleen
(I) +RIF	12.5+20.0	0.61±0.95	0.64±0.99	0.99±1.09	0.82±0.92
(I) +RIF	25.0 +20.0	0.47±0.62	0.63±0.97	0.95±1.05	0.62±0.95
(I) +INH + RIF	12.5+25.0+20.0	0.32±0.55	0.55±0.68	0.28±0.67	0.25±0.60
(I) +INH + RIF	25.0 +25.0+20.0	0.00	0.00	0.00	0.26±0.63
(I) +INH + RIF + PYR	12.5+25.0+20.0+150.0	0.00	0.00	0.00	0.00
(I) +INH + RIF + PYR	25.0+25.0+20.0+150.0	0.00	0.00	0.00	0.00
(I) +ETH + PYR	12.5+100.0+150.0	1.51±1.16	1.64±1.10	2.36±1.02	1.79±1.40
(I) + ETH +PYR	25.0+100.0+150.0	1.28±1.00	1.14±0.92	1.75±0.73	1.39±1.05
INH	25.0	1.20±0.98	1.35±1.09	5.37±0.35	5.19±0.65
RIF	20.0	0.84±1.10	1.21±0.83	0.94±1.04	1.78±1.38
INH +RIF	25.0+20.0	0.78±0.88	0.94±1.05	0.58±0.9	1.16±1.30
INH+RIF+PYR	25.0+20.0+150.0	0.67±1.05	0.59±0.92	0.62±0.96	0.75±1.17
ETH +PYR	100.0+150.0	1.85±1.04	2.82±0.28	2.12±1.06	2.21±1.16
(I)	25.0	0.82±0.91	1.09±0.83	1.30±1.02	1.64±1.12
EARLY CONTROL		6.22±0.46	5.87±0.52	6.28±0.25	6.20±0.53
LATE CONTROL		7.32±0.39	7.37±0.48	7.31±0.38	7.20±0.44

(I)= Compound of Formula (I) ; INH = Isoniazid ; RIF = Rifampicin ; PYR = Pyrazinamide; ETH = Ethambutol

Table XI

In vivo Efficacy Of Compound Of Formula (I) In Combination With Known Anti tubercular Drugs (Isoniazid, Rifampicin and Pyrazinamide) In Mice Model Against *M. tuberculosis* (sensitive and resistant strains) After Two Months Treatment

5

Sr. No.	Compound (mg /kg)	Mean Log ₁₀ CFU in organs of mice infected with sensitive strain of MTB		Mean Log ₁₀ CFU in organs of mice infected with resistant strain of MTB	
		Lung	Spleen	Lung	Spleen
1	(I) in Combination with INH + RIF + PYR				
	12.5	0.00	0.00	0.00	0.00
	6.25	0.23+0.72	0.2 +0.63	0.441 + 0.94	0.49+
	3.12	2.468 + 0.495	2.72 +0.28	2.84 + 0.66	1.035 2.92 +0.43
2	INH + RIF + PYR	2.99 + 0.37	3.20+ 0.22	4.34+0.59	3.802.45
3	Control				
	Early Late	6.037 ±0.45 7.30 + 0.35	5.66 ±0.68 7.04 + 0.21	5.76±0.27 7.037+0.39	5.53±0.40 6.95+0.39

(I)= Compound of Formula (I) ; INH = Isoniazid ; RIF = Rifampicin ; PYR = Pyrazinamide

10

Further, the effect in *in vivo* efficacy on continued treatment of infected animals with the combination of the compound of formula (I) with isoniazid, rifampicin and pyrazinamide are summarized in Table-XII.

15

The effect in *in vivo* efficacy on treatment of mice with another combination comprising the compound of formula (I) with two known antitubercular compounds, viz. rifampicin and pyrazinamide for two months was also found be effective in reducing the mycobacterial load from the target organs as shown in Table-XIII.

Table XII

***In vivo* Efficacy Of Compound Of Formula (I) In Combination With Known Anti tubercular Drugs (Isoniazid, Rifampicin and Pyrazinamide) In Mice Model Against *M. tuberculosis* (sensitive and resistant strains) After Three Months Treatment**

5

Sr. No.	Compound (mg /kg)	Mean Log ₁₀ CFU in organs of mice infected with sensitive strain of MTB		Mean Log ₁₀ CFU in organs of mice infected with resistant strain of MTB	
		Lung	Spleen	Lung	Spleen
1	(I) in				
	Combination with INH				
	+ RIF +				
	PYR	0.00	0.00	0.00	0.00
	12.5	0.00	0.00	0.00	0.00
	6.25	1.562 ±1.05	1.387 ±0.97	2.34±0.78	2.22±1.2
	3.12				
2	INH + RIF + PYR	1.55 ± 1.00	1.33±0.93	3.87±0.59	3.17 ±0.45
3	Control				
	Early	6.037 ±0.45	5.66 ±0.68	5.76±0.27	5.53±0.40
	Late	7.83 ± 0.35	7.46 ± 0.33	7.74 ±0.54	7.28 ±0.68

(I)= Compound of Formula (I) ; INH = Isoniazid ; RIF = Rifampicin ; PYR = Pyrazinamide ;

Table XIII

In vivo Efficacy Of Compound of Formula (I) In Combination With Known Anti tubercular Drugs (Rifampicin and Pyrazinamide) In Mice Model Against *M. tuberculosis* (sensitive and resistant strains) After Two Months Treatment

Sr . No.	Compound (mg /kg)	Mean Log ₁₀ CFU in organs of mice infected with sensitive strain of MTB		Mean Log ₁₀ CFU in organs of mice infected with resistant strain of MTB	
		Lung	Spleen	Lung	Spleen
1	(I) in combination with RIF + PYR				
	12.5	0.52 + 1.06	0.35 + 0.79	0.88 + 1.20	0.90 + 1.02
	6.25	1.768 + 1.6	1.48 + 1.4	1.23 + 1.14	1.6 + 1.08
	3.12	2.35 +0.35	2.16+0.37	2.51 + 0.39	2.49 + 0.38
2	RIF + PYR	2.67 + 0.32	2.47+0.37	3.34 + 0.50	3.2 + 0.32
3	Control				
	Early Late	5.97 + 0.39 7.23+0.34	5.74 + 0.21 7.06+0.21	6.058 + 0.41 7.31 + 0.42	5.83 + 0.30 7.23 + 0.52

(I)= Compound of Formula (I) ; RIF = Rifampicin ; PYR = Pyrazinamide

Pharmacokinetic Studies On The Combination

Preliminary pharmacokinetics studies of the combination of the compound of formula (I) with rifampicin and pyrazinamide was performed in mice and dog to determine bioavailability and serum levels achieved and maintained by the combination of compounds.

The results of the study summarized in Table-XIV show that on administration of the combination of compound of formula (I) with rifampicin and pyrazinamide there is approximately twelve fold increase in the C_{max} value of compound of formula (I) in blood , Similar improvement is also observed for the T_{1/2} and AUC values. The results are summarized in Table-XIV.

Table XIV

The Pharmacokinetic Activity Of A Combination Of Compound Of Formula (I) With Rifampicin And Pyrazinamide In Mice

5

Animal	Route of Administ-ration	Compound	Dose (mg/kg)	C _{max} (µg/ml)	T _{1/2} (hr)	T _{max}	AUC (hr*µg/ml)
Mice	Oral	(I)	25.0	2.68	3.41	2.0	6.88
			12.5	0.66	5.34	1.5	2.21
Mice	Oral	(I)	12.5	7.58	6.73	2.12	36.48
		RIF	20.0	19.26	7.62	3.25	195.40
		PYR	150.0	145.94	2.05	1.0	477.07
Mice	Oral	RIF	20.0	15.21	8.92	2.3	147.82
		PYR	150.0	137.81	2.09	1.5	648.89

(I)= Compound of Formula (I) ; RIF = Rifampicin ; PYR = Pyrazinamide

Acute Toxicity Studies Of The Combination

10

A combination of the compound of formula (I) with isoniazid, rifampicin and pyrazinamide was administrated as a single oral dose in Swiss albino mice. The mice were observed for 14 days. No clinical symptoms or mortality was observed. The mice were sacrificed on day 15, but no pathological changes were seen in any organ. The preliminary results obtained are summarized in Table-XV.

15

20

Table XV
Preliminary Acute Toxicity Studies Of The Combination Of Compound Of Formula (I) With Isoniazid, Rifampicin And Pyrazinamide

S.No.	Compound	Animal	Route of Administration	LD ₅₀ values (mg /kg)
1	(I) + INH + RIF + PYR	Mice	Oral	>2000
2	(I) + INH + RIF + PYR	Mice	IV	>200

5 (I)= Compound of Formula (I) ; INH = Isoniazid ; RIF = Rifampicin ; PYR = Pyrazinamide

In addition, the combination of a compound of formula (I) with the known antitubercular first line drugs is non-genotoxic as it was found to be negative in the *in vivo* micronucleus test.

10 From the foregoing discussion, it is abundantly evident that the combinations and the pharmaceutical composition of the present invention comprising a combination of N-(3-[[4-(3-trifluoromethylphenyl)piperazinyl]methyl]-2-methyl-5-phenyl-pyrrolyl)-4-pyridylcarboxamide of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof with currently prescribed first line antitubercular drugs such as isoniazid, rifampicin, ethambutol and pyrazinamide,

15 a) provides a highly effective treatment of tuberculosis including latent tuberculosis and the multi-drug resistant varieties, which is superior to that obtained with the use of currently prescribed drugs;

b) unlike the currently prescribed drugs the combinations and compositions are highly effective in the inhibition and/or treatment of mycobacterial conditions/ cells including but not limited to sensitive and multi-drug resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium* - intracellular complex, *M. fortuitum*, *M. kansasii* and other related mycobacterial species;

20

c) unlike the currently prescribed drugs, the combinations and compositions are highly effective in prevention of relapse of *M. tuberculosis* infection after the withdrawal of the treatment;

25

d) is "fast acting", thereby reducing significantly the time taken to provide complete and effective eradication of *Mycobacterium* from a subject compared to that taken by the known drugs currently in practice, either taken alone or in combination with each other. The
5 time taken for treatment with the combination or pharmaceutical composition is only one third of that taken by the currently prescribed drugs with complete eradication of sensitive and drug resistant *M. tuberculosis*;

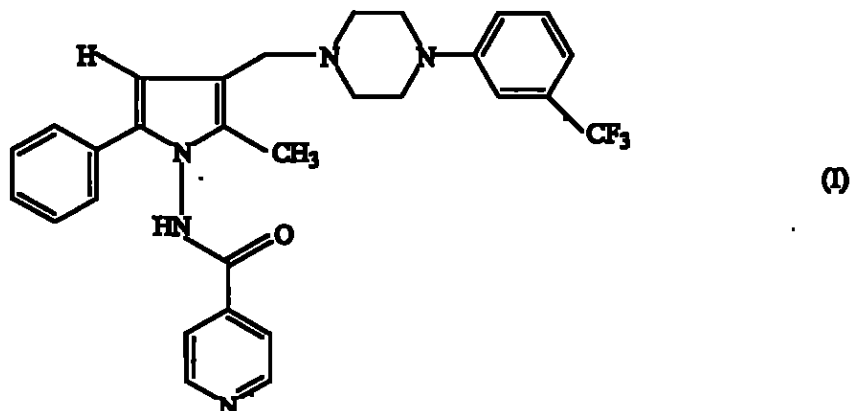
e) a therapeutically effective amount of compound of formula (I) is found to provide a synergistic effect when it is co-administered with some of the currently
10 prescribed first line antitubercular drugs, such as isoniazid, rifampicin, ethambutol and pyrazinamide. The synergistic effect is greater than the therapeutic effect obtained on administration of an effective amount of either compound (I), or the therapeutic effective amount of any of the first line antitubercular drugs administered individually. Further, the therapeutic effect of co-administering a compound of formula (I) and the first line
15 antitubercular drugs, mentioned hereinabove above is greater than the therapeutic effect obtained on administration of the first line antitubercular drugs, when administered in combination of one another;

f) synergy being advantageous in that it allows for administration of each of the component in the combination in an amount less than that would be required if administered
20 individually, thereby making the therapy effective for subjects who for example, do not respond adequately to the use of one component at the maximal strength dose; and/or

g) allowing the administration of the individual components in lower amounts relative to the case where combined effects are additive resulting in minimization of side effects associated with the currently practiced therapy.

CLAIMS

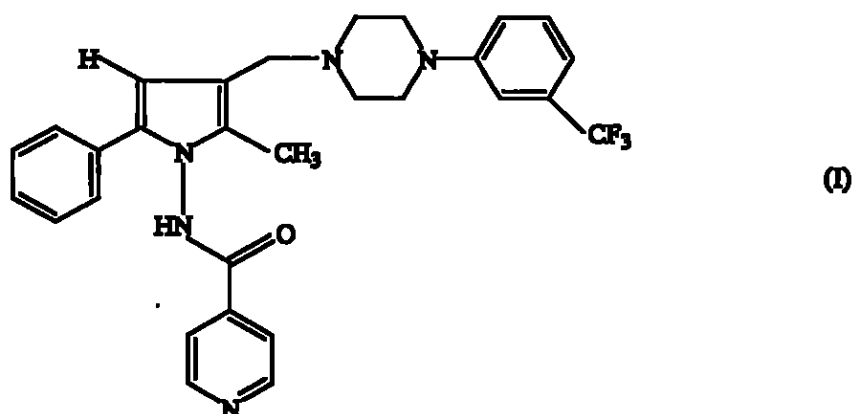
1. An antimycobacterial combination comprising a therapeutically effective amount of N-(3-[[4-(3-trifluoromethylphenyl)piperazinyl]methyl]-2-methyl-5-phenyl-pyrrolyl)-4-pyridylcarboxamide of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof



- and a therapeutically effective amount of one or more first line antitubercular drugs selected from the group consisting of isoniazid, rifampicin, ethambutol and pyrazinamide.
2. An antimycobacterial pharmaceutical composition comprising an antimycobacterial combination of claim 1 in admixture with a pharmaceutically acceptable excipient.
3. An antimycobacterial pharmaceutical composition according to claim 2, wherein the pharmaceutically acceptable excipient is selected from an antioxidant, an inert diluent, a surfactant, a lubricating agent and an opacifier.
4. An antimycobacterial combination according to claim 1, useful for effective treatment of tuberculosis.

5. An antimycobacterial combination according to claim 1, for treatment of mycobacterial conditions/ cells selected from sensitive and multi-drug resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium - intracellular complex*, *M. fortuitum*, *M. kansasii* and other related mycobacterial species.
- 5
6. The antimycobacterial pharmaceutical composition according to claim 2, useful for effective treatment of tuberculosis.
7. The antimycobacterial composition according to claim 2, for treatment of
- 10 mycobacterial conditions/ cells selected from sensitive and multi-drug resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium - intracellular complex*, *M. fortuitum*, *M. kansasii* and other related mycobacterial species.
8. The antimycobacterial combination according to claim 1, which completely eradicates
- 15 sensitive and drug resistant *M. tuberculosis* on completion of the treatment.
9. The antimycobacterial pharmaceutical composition according to claim 2, which completely eradicates sensitive and drug resistant *M. tuberculosis* on completion of the treatment.
- 20
10. A process for preparation of an antimycobacterial pharmaceutical composition comprising combining a compound of formula I or a pharmaceutically acceptable salt thereof

53



and one or more of the first line antitubercular drugs using a dry granulation method, a wet granulation method or a direct compression method.

- 5 11. A combination according to claim 1, comprising a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof and rifampicin.
12. A combination according to claim 1, comprising a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof and isoniazid.
- 10 13. A combination according to claim 1, comprising a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof, isoniazid and rifampicin.
14. A combination according to claim 1, comprising a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof, isoniazid, rifampicin and pyrazinamide.
- 15 15. A combination according to claim 1, comprising a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof, pyrazinamide and ethambutol.
- 20 16. A combination according to claim 1, comprising a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof, rifampicin and pyrazinamide.

17. A combination according to claim 1, comprising 12.5 or 25.0 mg/kg of compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof and 20.0 mg /kg of rifampicin.
- 5 18. A combination according to claim 1, comprising 12.5 or 25.0 mg /kg of compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof and 25.0 mg /kg of isoniazid.
- 10 19. A combination according to claim 1, comprising 12.5 or 25.0 mg/kg of compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof and 25.0 mg/kg of isoniazid and 20.0 mg/kg of rifampicin.
- 15 20. A combination according to claim 1, comprising 12.5 or 25.0 mg /kg of compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof, 25.0 mg/kg of isoniazid, 20.0 mg/kg of rifampicin and 150.0 mg/kg of pyrazinamide.
- 20 21. A combination according to claim 1, comprising 12.5 or 25.0 mg/kg of compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof, 150.0 mg/kg of pyrazinamide and 100.0 mg/kg of ethambutol.
22. A combination according to claim 1, comprising 3.12, 6.25 or 12.5 mg/kg of compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof, 250.0 mg/kg of isoniazid, 20.0 mg/kg of rifampicin and 150.0 mg/kg of pyrazinamide.
- 25 23. A combination according to claim 1, comprising 3.12, 6.25 or 12.5 mg/kg of compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable non-toxic salt thereof , 20.0 mg/kg of rifampicin and 150.0 mg/kg of pyrazinamide.

1/3

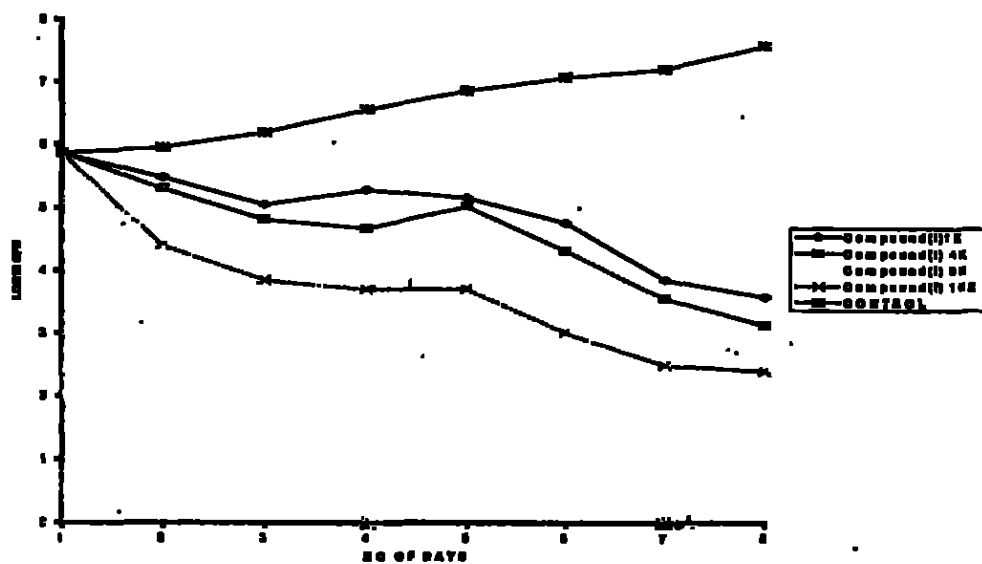


FIGURE 1

2/3

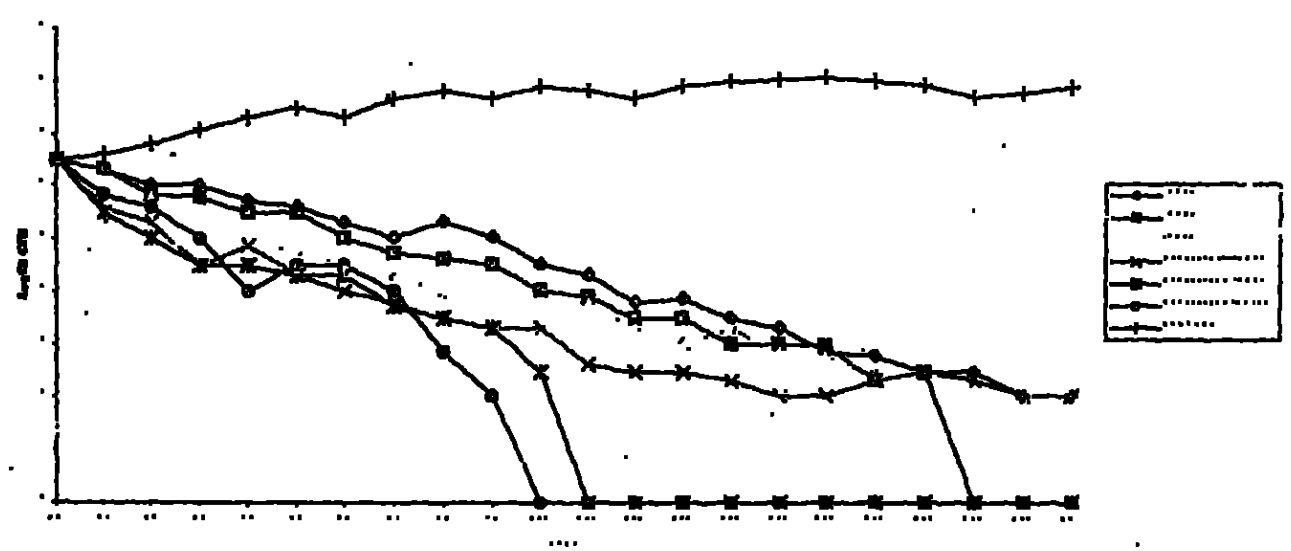


FIGURE 2

3/3

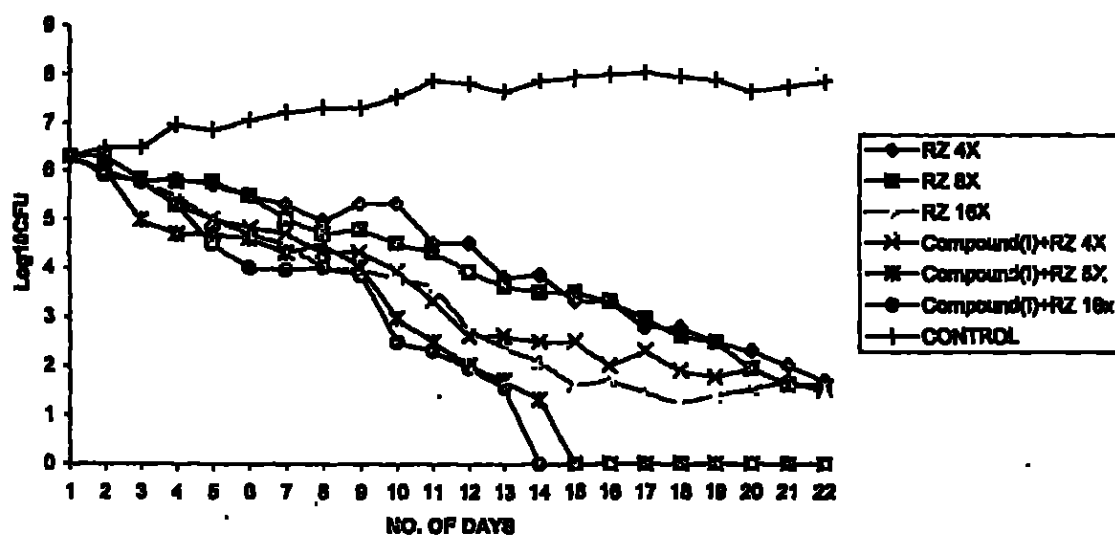


FIGURE 3

UNA COMPOSICIÓN FARMACÉUTICA ANTIMICOBACTERIANA

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a una combinación que comprende una cantidad efectiva de N-(3-[[4-(3-trifluorometilfenil)piperazini]metil]-2-metil-5-fenil-pirrolil)-4-piridilcarboxamida de la fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable y uno o más fármacos antituberculosos de primera línea para el tratamiento de tuberculosis, incluso variedades resistentes a múltiples fármacos y tuberculosis latente.

La presente invención también se refiere a una composición farmacéutica, que comprende una combinación de una cantidad efectiva de N-(3-[[4-(3-trifluorometilfenil)piperazini]metil]-2-metil-5-fenil-pirrolil)-4-piridilcarboxamida de la fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable con uno o más fármacos antituberculosos de primera línea mezclado con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Se puede usar la composición para el tratamiento de tuberculosis, incluso variedades resistentes a múltiples fármacos y tuberculosis latente.

La presente invención se refiere además a un método para el tratamiento de tuberculosis, incluso variedades resistentes a múltiples fármacos y tuberculosis latente.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

A nivel mundial, la tuberculosis sigue siendo una de las principales causales de muerte. Hay aproximadamente 8 millones de casos activos de tuberculosis por año, con 3 millones e muertes anuales. Se estima que aproximadamente 1.700 millones de personas (un tercio de la población mundial) albergan la infección latente por *Mycobacterium tuberculosis* [Kochi, A. *Tubercle*. 1991, 72, 1- 6]. Las personas con tuberculosis latente durante su vida tienen el 2 a 23 % de riesgo reactivación de la enfermedad más adelante [Parrish, NM., Dick, JD., y Bishai, WR., *Trends. Microbial*. 1980, 6, 107 -112]. Además, condiciones de inmunosupresión tales como la infección

por virus de inmunodeficiencia humana (HIV) aumentó notablemente el riesgo de reactivación de tuberculosis.

La emergencia de patógenos resistentes a fármacos hace que el modo actual de tratamiento sea muy difícil, y en muchos casos, totalmente ineficaz. El tratamiento de las variedades de tuberculosis resistentes a múltiples fármacos es difícil, y a menudo la enfermedad acarrea una elevada tasa de mortalidad, en particular en países en vías de desarrollo. Se estima que en los próximos veinte años más de 1.000 millones de personas tendrán una primoinfección por tuberculosis, y casi 35 millones de personas sucumbirán ante la enfermedad [Hoja de información de la OMS N° 104, Global Alliance For TB Drug Development: Executive Summary of the Scientific Blueprint for TB Development; <http://www.who.int/inf-fs/en/fact104.html>]. Con la emergencia de tuberculosis relacionada con HIV, la enfermedad adquiere proporciones alarmantes como una de las enfermedades mortales del mundo actual. La Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró como prioritaria la necesidad del inmediato control de la infección por tuberculosis para prevenir la diseminación de cepas resistentes a fármacos.

Uno de los problemas con las actuales terapéuticas contra la tuberculosis es la variación de *M. tuberculosis* al estado durmiente o latente. En consecuencia, si bien el tratamiento de la tuberculosis activa con el régimen farmacológico combinado que se prescribe actualmente reduce la carga bacteriana en forma sustancial, una proporción de los bacilos varía al estado latente y sobrevive en el huésped durante meses o años sin producir manifestaciones de enfermedad. Sin embargo, más tarde los bacilos se pueden reactivar y volver a producir tuberculosis activa. En la actualidad, la recurrencia de tuberculosis latente se considera el resultado de la reactivación de microorganismos latentes que sobreviven en el huésped [Stead, WW., *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1982, 95, 729-745; Stead, WW., Kerby, GR., Schleuter, y Jordahl, CW., *Ann. Intern. Med.*, 1988, 68, 731-745].

El primer fármaco utilizado para combatir *M. tuberculosis* fue estreptomycin, en 1944, que según se halló, inhibe el desarrollo de *M. tuberculosis*. En los últimos 30

años se han introducido algunas clases de compuestos en la práctica clínica, tales como:

- 5 a) Rifampicinas de acción prolongada, por ejemplo, rifapentina, rifabutina y rifalazil [Javis, B., Lamb, HM., *Drugs*, 1998, 56, 607-616; McGregor, MM., Olliaro, P., Wolmarans, L., *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1996, 154, 1462-1467; Shoen, CM., DeStefano, MS., Cynamon, MH., *Clin. Infect. Dis.*, 2000, 30(Suppl. 3), S288-S29];
- 10 b) Compuestos de fluoroquinolona, por ejemplo levofloxacin, moxifloxacin, y gatifloxacin [Jl, B., Lounis, N., Truffot-Pemot, C., Grosset., *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1995, 39, 1341-1344; Miyazaki, E., Miyazaki, M., Chen, JM., Chaisson, RE., Bishai, WR., *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1999, 43, 85-89; Fung-Tomc, J., Minassian, B., Kolek, B., Washo, T., Huczko, E., Boner, D., *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2000, 45, 437-446];
- 15 c) Compuestos de oxazolidinona [Cynamon, MH., Klemens, SP., Sharpe, CA., Chase, SC., *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1999, 43, 1189-1191]; y
- d) Niroimidazopiranos [Strover, CK., Warrenner, P., VanDevabter, D., *Nature*, 2000, 405, 962-966].

Sin embargo, ninguno de estos compuestos demostró el potencial buscado para el tratamiento efectivo de tuberculosis resistente a múltiples fármacos y/o latente.

- 20 Rifapentina y rifalazil demostraron ser eficaces en el tratamiento de tuberculosis por administración de dosis inferiores (terapéutica intermitente) de los fármacos y también se informó que la combinación de los dos fármacos es más eficaz en la prevención de tuberculosis latente que rifampicina. Sin embargo, dado que estos fármacos tienen igual farmacóforo que rifampicina, su espectro de actividad contra las
- 25 cepas resistentes no mejoró significativamente. Estas moléculas son bastante ineficaces contra cepas resistentes a múltiples fármacos de *M. tuberculosis*. Además, muchos de estos compuestos demostraron ser tóxicos.

Ciertos fármacos, tales como ácido p-aminosalicílico, isoniacida, pirazinamida, etambutol, etionamida, rifampicina, etc. se han usado solos o en combinación con el

tratamiento de tuberculosis. Se halló que estos fármacos son más eficaces que estreptomina en el tratamiento de pacientes infectados por cepas resistentes a estreptomina, por lo que inician una era de tratamiento efectivo de tuberculosis.

En la actualidad, el tratamiento de tuberculosis consiste en la administración de una combinación de cuatro fármacos de primera línea, a saber, isoniacida, rifampicina, etambutol y pirazinamida, administrados en forma individual como formulación de fármaco único o como combinación de dosis fija. Para el tratamiento efectivo, se administran los cuatro fármacos de primera línea antes mencionados en la fase inicial o de inducción, durante la cual se usan los fármacos en combinación para eliminar la población en rápida multiplicación de *M. tuberculosis*, además de prevenir la emergencia de resistencia a fármacos. Luego sigue la fase de continuación, durante la cual se administran fármacos esterilizantes, a saber, isoniacida, rifampicina y pirazinamida, para eliminar la población de división intermitente de *M. tuberculosis* [Jindani, A., Aber, VR., Edwards, EA., Mitchison, DA., *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1980, 121, 39-49; Grosset, J., *Tubercule.*, 1978, 59, 287-297; East African/British Medical Research Council Study en *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1977, 115, 3-8; Singapore Tuberculosis Service/British Medical Research Council en *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1979, 119, 579-585; British Thoracic Society and Tuberculosis Association en *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1982, 126, 460-462; Snider, DE., Rogowski, J., Zierski, M., Bek, E., Long, MW., *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1982, 125, 265-267].

Si bien la antes mencionada combinación de los fármacos de primera línea provee en conjunto el tratamiento contra la infección por *M. tuberculosis* sensibles en 4 a 6 meses, dicha terapéutica combinada no siempre tiene éxito, en especial en pacientes con cepas resistentes a múltiples fármacos. Además, la prolongada duración del tratamiento, que consiste en seis meses, con mucha frecuencia conduce a efectos secundarios desagradables. Además, por lo general el cumplimiento del curso de tratamiento relativamente prolongado es malo. Dicha falta de cumplimiento conduce, con mucha frecuencia, a fracasos terapéuticos que dan por resultado el desarrollo de resistencia farmacológica.

Por otra parte, los fármacos de segunda línea, tales como cicloserina, clofazimina, capreomicina, etc., usados para el tratamiento, son más caros, pueden causar severos efectos secundarios y son inferiores a los fármacos de primera línea.

Los derivados sustituidos de pirrol constituyen otra clase de compuestos prometedores como agentes antimicobacterianos. Muchos derivados de pirrol se han sintetizado y estudiado para su actividad antituberculosa [Deidda, D., et. al., *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1998, 3035-3037; Biava, M., et. al., *J. Med. Chem Res.*, 1999, 19-34; Biava, M., et. al., *Bioorg. & Med. Chem. Lett.*, 1999, 9, 2983-2988; Cerreto, F., et. al., *Eur. J. Med. Chem.*, 1992, 27, 701-708; Gillet, C., et. al., *Eur. J. Med. Chem.-Chimica Therapeutica.*, 1976, 11(2), 173-181; RaagN° R., et. al., *Bioorg. & Med. Chem.*, 2000, 8, 1423-1432]. En el mejor de los casos, los compuestos descritos allí son posibles fármacos, no fármacos establecidos, dado que los informes no contienen mención sobre la actividad y la toxicidad *in vivo* de los compuestos descritos en ellas contra tuberculosis experimental en modelos animales. En consecuencia, los compuestos tienen más interés académico que comercial.

En consecuencia, hay una urgente necesidad para desarrollar regímenes nuevos que se puedan usar para prevenir, tratar y/o reducir la tuberculosis y/o eliminar la amenaza de la tuberculosis resistente a múltiples fármacos y/o tuberculosis latente.

Un régimen alternativo debe ser superior al régimen existente en lo que respecta a:

- a) acortar la duración total del tratamiento y/o reducir significativamente la cantidad total de dosis;
- b) proveer un tratamiento efectivo de las variedades resistentes a múltiples fármacos;
- c) proveer tratamiento más efectivo de tuberculosis latente; y
- d) minimizar o prevenir efectos secundarios.

En nuestra solicitud de PCT N° PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) describimos varios derivados pirro sustituidos y sus sales farmacéuticamente aceptable, que demostraron buena a excelente actividad inhibitoria contra las cepas susceptibles y resistentes a fármacos de *M. tuberculosis*. El valor CIM de algunos de los más activos compuestos contra cepas sensibles y cepas resistentes a múltiples fármacos de *M. tuberculosis* está en el rango de 0,12 a 0,5 µg/ ml. Además, algunos de los compuestos también demostraron actividad terapéuticamente significativa *in vivo* contra animales infectados por *M. tuberculosis* y se halló que también son seguras, con un valor LD₅₀ de aproximadamente 700 mg/kg en ratones, en relación con 133 mg/kg para isoniacida. Además, el perfil farmacocinético de los compuestos es excelente. El tema de la solicitud de PCT N° PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A) se incorpora a la presente como referencia.

Los presentes inventores hallaron que varios de los derivados de pirrol descritos en la solicitud de PCT N° PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) provee un efecto sinérgico cuando se usa en combinación con algunos de los fármacos de primera línea, por lo que provee un nuevo tratamiento de tuberculosis, incluso variedades resistentes a múltiples fármacos y tuberculosis latente. Los tratamientos descritos en la presente son superiores a los regímenes farmacológicos conocidos en el arte previo.

20

OBJETOS DE LA INVENCION

Un objeto de la presente invención es proveer una combinación que comprende uno o más derivados de pirrol descritos en nuestra solicitud de PCT N° PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) y uno o más de otros fármacos antituberculosis para el eficaz tratamiento de tuberculosis, incluso variedades resistentes a múltiples fármacos y tuberculosis latente.

25

Otro objeto de la presente invención es proveer una nueva combinación que comprende una cantidad sinérgicamente eficaz de un derivado de pirrol descrito en la

solicitud de PCT N° PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) y una cantidad efectiva de uno o más fármacos antituberculosos de primera línea.

Otro objeto de la presente invención es proveer una combinación que comprende uno o más derivados de pirrol descritos en nuestra solicitud de PCT N°
5 PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) y uno o más de otros fármacos antituberculosos, que es efectivo en la inhibición y/o el tratamiento de condiciones/células micobacterianas tales como, pero sin limitaciones, uno o más de cepas sensibles y resistentes a múltiples fármacos de *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium* - *intracellular complex*, *M. fortuitum*, *M. kansasii* u otras
10 especies micobacterianas relacionadas.

Aún otro objeto de la presente invención es proporcionar un tratamiento efectivo de tuberculosis.

Aún otro aspecto consiste en reducir el tiempo de tratamiento de seis meses.

Otro objeto es proporcionar un tratamiento de tuberculosis que comprende la
15 administración a un paciente que lo necesite una combinación que comprende un derivado pirrol descrito en nuestra solicitud de PCT N° PCT/IN02/00189(WO 04/026828 A1) y uno o más fármacos antituberculosos de primera línea.

Aún otro objeto consiste en proporcionar un tratamiento de tuberculosis que permita la erradicación completa de cepas sensibles y resistentes a fármacos, que
20 comprenda la administración a un paciente que lo necesite una combinación que comprende un derivado pirrol descrito en nuestra Solicitud de PCT N° PCT/IN02/00189(WO 04/026828 A1) y uno o más fármacos antituberculosos de primera línea.

Aún otro objeto de la presente invención consiste en proveer un tratamiento
25 efectivo de tuberculosis que da por resultado la completa erradicación de *M. tuberculosis* sensibles y resistentes a fármacos que comprende la administración a un paciente que lo necesite una combinación de un derivado pirrol descrito en nuestra solicitud de PCT N° PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) con uno o más fármacos antituberculosos de primera línea.

Aún otro objeto de la presente invención consiste en proveer un tratamiento efectivo de tuberculosis que da por resultado la completa erradicación de uno o más cepas sensibles y resistentes a fármacos tales como *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium* - *intracellular complex*, *M. fortuitum*, *M. kansasii* u otras especies micobacterianas relacionadas, que comprende la administración a un paciente que lo necesite una combinación que comprende un derivado pirrol descrito en nuestra solicitud de PCT N° PCT/IN02/00189(WO 04/026828 A1) y uno o más fármacos antituberculosos de primera línea.

Otro objeto adicional de la presente invención consiste en proveer un método para el tratamiento y/o la inhibición de uno o más cepas resistentes a múltiples fármacos que incluyen, sin limitaciones, *M. tuberculosis* *Mycobacterium avium* - *intracellular complex*, *M. fortuitum*, *M. kansasii* y otras especies micobacterianas relacionadas, que comprende la administración de una composición farmacéutica, que comprende una combinación de un derivado pirrol descrito en la solicitud de PCT N° PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) con uno o más fármacos antituberculosos de primera línea a un paciente que lo necesite.

Otro objeto adicional de la presente invención consiste en proveer un método para prevenir la recurrencia de tuberculosis tras interrumpir el tratamiento, que comprende en la administración a un paciente que lo necesite una combinación que comprende un derivado pirrol descrito en nuestra solicitud de PCT N° PCT/IN02/00189(WO 04/026828 A1) y uno o más fármacos antituberculosos de primera línea.

Otro objeto adicional de la presente invención consiste en proveer un método para prevenir la recurrencia de Infección por *M. tuberculosis* después de interrumpir el tratamiento que comprende la administración a un paciente que lo necesite una combinación que comprende un derivado pirrol descrito en nuestra solicitud de PCT N° PCT/IN02/00189(WO 04/026828 A1) y uno o más fármacos antituberculosos de primera línea.

Otro objeto adicional de la presente invención consiste en proveer una composición farmacéutica que comprende una combinación de un derivado pirrol descrito en nuestra solicitud de PCT N° PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) con uno o más fármacos antituberculosos de primera línea para el eficaz tratamiento de tuberculosis, incluso variedades resistentes a múltiples fármacos y tuberculosis latente.

Aún otro objeto de la presente invención consiste en proveer una composición farmacéutica que comprende una cantidad sinérgicamente efectiva de los derivados de pirrol descritos en nuestra solicitud de PCT N° PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) en combinación con una cantidad efectiva de uno o más fármacos antituberculosos de primera línea.

Aún otro objeto de la presente invención consiste en proveer una composición farmacéutica que comprende una combinación de un derivado pirrol descrito en nuestra solicitud de PCT N° PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) con uno o más fármacos antituberculosos de primera línea, que es efectiva en la inhibición y/o tratamiento de condiciones/células micobacterianas incluso, pero sin limitaciones, una o más cepas sensibles y resistentes a múltiples fármacos de *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium* - *intracellular complex*, *M. fortuitum*, *M. kansasii* y otras especies microbianas relacionadas.

Otro objeto de la presente invención consiste en proporcionar un tratamiento efectivo de tuberculosis, que comprende la administración a un paciente que lo necesite una composición farmacéutica que comprende una combinación de un derivado pirrol descrito en nuestra solicitud de PCT N° PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) con uno o más fármacos antituberculosos de primera línea.

Aún otro objeto consiste en proveer un tratamiento de tuberculosis que permita la completa erradicación de cepas sensibles y resistentes a fármacos que comprende la administración a un paciente que lo necesite una composición farmacéutica que comprende un derivado pirrol descrito en nuestra solicitud de PCT N°

PCT/IN02/00189(WO 04/026828 A1) y uno o más fármacos antituberculosos de primera línea.

5 Todavía otro objeto de la presente invención consiste en proveer un tratamiento efectivo de tuberculosis que permita la completa erradicación de *M. tuberculosis* sensible y resistente a fármacos que comprende la administración a un paciente que lo necesite una composición farmacéutica que comprende una combinación de un derivado pirrol descrito en nuestra solicitud de PCT N° PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) con uno o más fármacos antituberculosos de primera línea.

10 Aún otro objeto de la presente invención consiste en proveer un tratamiento efectivo de tuberculosis que permita la completa erradicación de una o más cepas sensibles y resistentes a fármacos tales como *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium - intracellular complex*, *M. fortuitum*, *M. kansasii* u otras especies micobacterianas relacionadas, que comprende la administración a un
15 paciente que lo necesite una composición farmacéutica que comprende una combinación que comprende un derivado pirrol descrito en nuestra solicitud de PCT N° PCT/IN02/00189(WO 04/026828 A1) y uno o más fármacos antituberculosos de primera línea.

20 Aún otro objeto de la presente invención consiste en proveer un método para prevenir las recurrencias de tuberculosis tras interrumpir el tratamiento, que comprende la administración a un paciente que lo necesite una composición farmacéutica que comprende una combinación que comprende un derivado pirrol descrito en nuestra solicitud de PCT N° PCT/IN02/00189(WO 04/026828 A1) y uno o más fármacos antituberculosos de primera línea.

25 Aún otro objeto de la presente invención consiste en proveer un método para prevenir las recurrencias de infección por *M. tuberculosis* tras interrumpir el tratamiento, que comprende la administración a un paciente que lo necesite una composición farmacéutica que comprende una combinación que comprende un

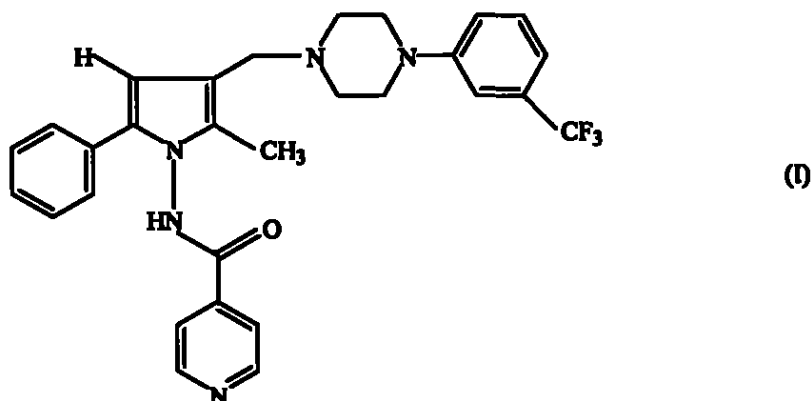
derivado pirrol descrito en nuestra solicitud de PCT N° PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) con uno o más fármacos antituberculosos de primera línea.

Otro objeto de la presente invención consiste en proveer un método para el tratamiento y/o la inhibición de uno o más cepas resistente a múltiples fármacos tales como, sin limitaciones, *M. tuberculosis*, *Mycobacterium avium - intracellular complex*, *M. fortutium*, *M. kansasii* y otras especies micobacterianas relacionadas que comprende la administración de una composición farmacéutica que comprende una combinación de un derivado pirrol descrito en la solicitud de PCT N° PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) con uno o más fármacos antituberculosos de primera línea a un paciente que lo necesite.

Aún otro objeto de la presente invención consiste en proveer un proceso para la preparación de una composición que comprende una cantidad efectiva de un derivado pirrol descrito en nuestra solicitud de PCT N° PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) en combinación con una cantidad efectiva de uno o más fármacos antituberculosos de primera línea.

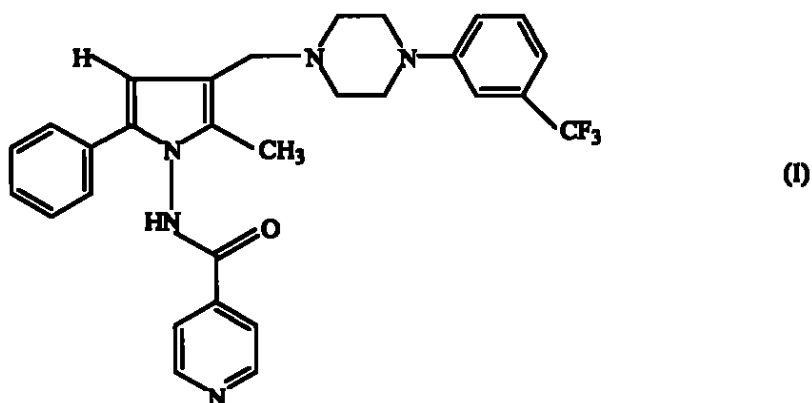
RESUMEN DE LA INVENCION

En consecuencia, la invención se refiere a una combinación antimicobacteriana que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de N-(3-[[4-(3-trifluorometilfenil)piperazini]metil]-2-metil-5-fenil-pirrolil)-4-piridilcarboxamida de la fórmula (I) o una de sus sales no tóxicas farmacéuticamente aceptables



y una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más fármacos antituberculosos de primera línea seleccionado del grupo que consiste en isoniacida, rifampicina, etambutol y pirazinamida.

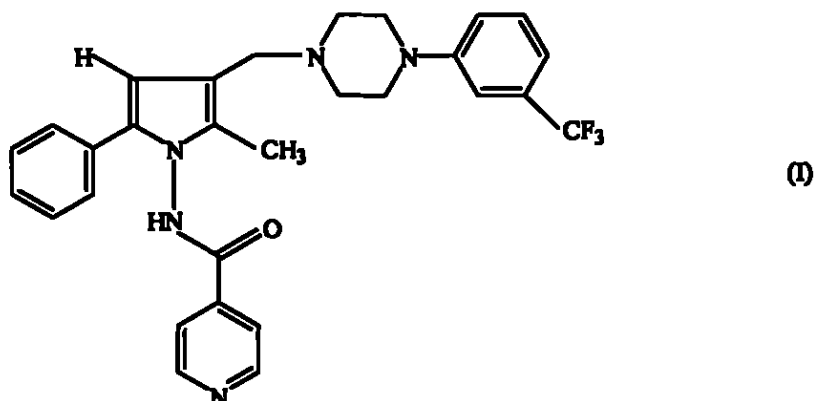
- 5 Además, de acuerdo con la invención se provee un para la preparación de una composición farmacéutica antimicobacteriana que comprende combinar un compuesto de la fórmula I o una de sus sales farmacéuticamente aceptables



- 10 y uno o más de los fármacos antituberculosos de primera línea mediante un método de granulación seca, un método de granulación húmeda o un método de compresión directa.

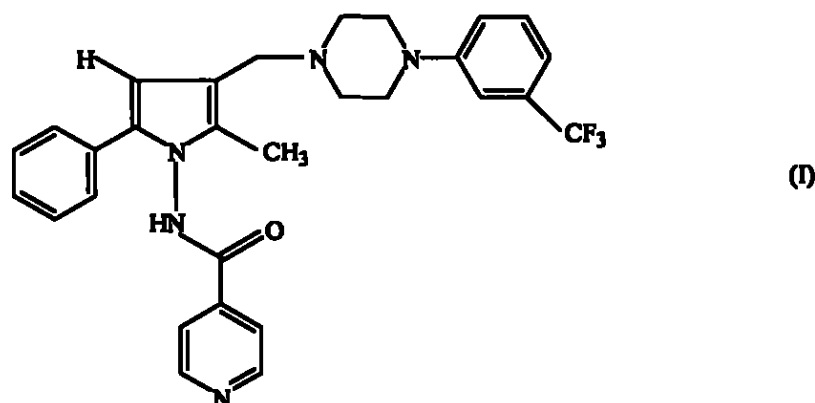
- 15 La presente invención además provee una combinación antimicobacteriana que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de N-(3-[[4-(3-trifluorometilfenil)piperazinil]metil]-2-metil-5-fenil-pirrolil)-4-piridilcarboxamida de la

fórmula (I) del compuesto de la fórmula (I) o una de sus sales no tóxicas farmacéuticamente aceptables



5 y una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más fármacos antituberculosos de primera línea seleccionados de isoniácida, rifampicina, etambutol y pirazinamida para el tratamiento de tuberculosis resistente a múltiples fármacos, incluso tuberculosis latente.

La presente invención provee una combinación antimicobacteriana que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de N-(3-[[4-(3-
10 trifluorometilfenil)piperazinil]metil]-2-metil-5-fenil-pirrolil)-4-piridilcarboxamida de la fórmula (I) o una de sus sales no tóxicas farmacéuticamente aceptables



15 y una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más fármacos antituberculosos de primera línea seleccionados de isoniácida, rifampicina, etambutol y pirazinamida para el tratamiento y/o la inhibición de uno o más condiciones/células micobacterianas

tales como, sin limitaciones, cepas sensibles y cepas resistentes a múltiples fármacos de *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium* - *intracellular complex*, *M. fortuitum*, *M. kansasii* y otras especies micobacterianas relacionadas.

5 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

A menos que se defina de otro modo, los términos técnicos y científicos utilizados en la presente tienen el mismo significado que el comúnmente conocido por un experto en el arte al cual pertenece la presente invención. Cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en la presente se pueden usar en la práctica o las pruebas de la presente invención.

A menos que especifique lo contrario, cualquier uso de palabras tales como "incluso", "que contiene", "que comprende", "que tiene" y similares, significa "incluso y sin limitaciones" y no se debe interpretar como limitación de cualquier declaración general seguido de los elementos o cuestiones específicas o similares que le siguen inmediatamente.

Las formas de realización de la invención no son mutuamente excluyentes, pero se pueden implementar en diversas combinaciones. Las formas de realización descritas de la invención y los ejemplos descritos se presentan a fines ilustrativos, más que limitantes, de la invención, como se especifica en las reivindicaciones adjuntas.

A los fines de la presente invención se definen a continuación los siguientes términos.

Los términos "administración a", "administración de" y "administrar" un compuesto, combinación o composición se debe entender como que significa proveer un compuesto, combinación o composición o un profármaco de un compuesto al paciente que necesite el tratamiento.

El término "coadministración" tal como se usa en la presente, pretende abarcar la administración de cada uno de los compuestos presentes en la combinación juntos o por separado. La coadministración también puede abarcar combinaciones de la

administración de dos o más de los compuestos de la combinación junto con otros de los compuestos de la combinación que se administra por separado o juntos o sus variaciones. La administración por separado de cada compuesto, en distintos momentos y por diferentes vías, también se puede considerar coadministración. La coadministración también puede incluir la administración combinada de dos o más compuestos de la combinación, si la vía de administración de cada uno de los compuestos es la misma. Por ejemplo, si la vía de administración de cada uno de la totalidad de los compuestos es la misma, por ejemplo, la vía oral, entonces uno o más de cada uno de los compuestos en la combinación se pueden formular en una forma de dosificación adecuada para la misma vía de administración. El término "coadministración" también se puede interpretar como que abarca la administración de uno o más de los compuestos de la combinación juntos (por ejemplo en una única forma de dosificación) o uno o más de cada compuesto por separado.

El término "composición", tal como se usa en la presente, pretende abarcar un producto que comprende los ingredientes especificados, además de cualquier producto obtenido, directamente o indirectamente, de una combinación de los ingredientes específicos. Una "composición" puede contener un único compuesto o más de un compuesto. Una "composición" puede contener uno o más ingredientes activos.

El término "completa erradicación" significa que no hay micobacterias cultivables tras el periodo de incubación designado en los órganos blanco, es decir pulmones o bazo del animal o persona infectado, tras el tratamiento de acuerdo con la presente invención.

El término "excipiente" significa un componente de un producto o composición farmacéutico que no es el ingrediente activo, tal como un relleno, diluyente, portador, etcétera. Los excipientes de utilidad en la preparación de una composición farmacéutica son preferentemente farmacéuticamente aceptables.

El término "farmacéuticamente aceptable", tal como se usa en la presente, significa que el portador, relleno, diluyente o excipiente debe ser compatible con los demás ingredientes de la formulación y no nocivo para su receptor.

El término "composición farmacéutica" pretende abarcar un producto que comprende el(os) ingrediente(s) activo(s), excipiente(s) farmacéuticamente aceptable(s) además de cualquier producto obtenido, en forma directa o indirecta, de la combinación, la formación de complejos o la agregación de dos o más de los ingredientes, o de la disociación de uno o más de los ingredientes y/o excipientes, o de otros tipos de reacciones o interacciones de uno o más de los ingredientes y/o excipientes. En consecuencia, las composiciones farmacéuticas de la presente invención abarcan cualquier composición preparada al mezclar el ingrediente activo, otros ingrediente(s) activo(s), y excipiente(s) farmacéuticamente aceptable(s).

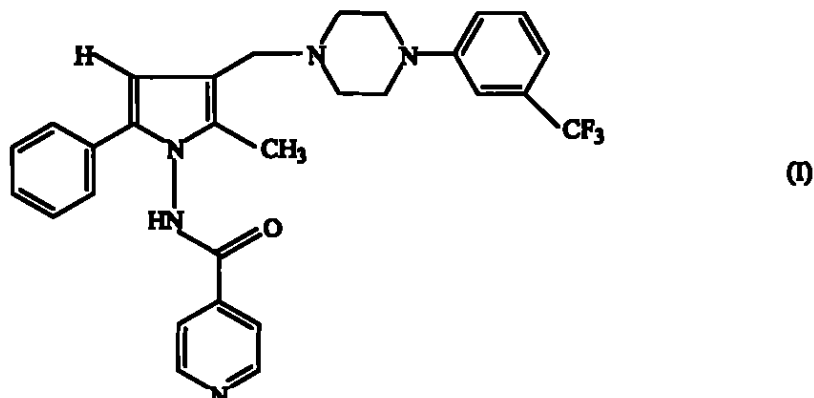
El término "sinergia" o "sinérgico" incluye, sin limitaciones,

(i) una cantidad, por la cual un compuesto, ingrediente activo o fármaco particular se puede administrar en una dosis inferior cuando está presente en combinación con uno o más de los demás ingredientes activos, compuestos o fármacos que en la dosis requerida cuando se administra en forma individual; y/o

(ii) naturaleza/momento, por los cuales un ingrediente activo, compuesto, o fármaco particular presente en una combinación exhibe mayor eficacia o resultados en menor tiempo de tratamiento que cuando se administra por separado.

Nuestra solicitud de PCT N° PCT/IN02/00189 (WO 04/026828 A1) describe derivados de pirrol que exhiben actividad antimicobacteriana. Se halló que estos derivados son superiores a los de los compuestos previamente conocidos, como es evidente a partir de su eficacia *in vivo* y baja toxicidad. De todos los noventa compuestos descritos en la presente, se halló que el compuesto N° 12, a saber, N-(3-[[4-(3-trifluorometilfenil) piperazinil]metil]-2-metil-5-fenil-pirrolil)-4-piridilcarboxamida y sus sales no tóxicas farmacéuticamente aceptables, designados como compuesto de

la fórmula (I) en la presente solicitud, exhibe excelente actividad antimicobacteriana contra cepas sensibles y cepas resistentes a múltiples fármacos de *M. tuberculosis*.



Cabe destacar que la referencia a un compuesto de la fórmula (I) incluye sus sales ácidas de adición no tóxicas farmacéuticamente aceptables. Las sales adecuadas se forman con ácidos orgánicos e inorgánicos, e incluyen los formados con ácidos maleico, fumárico, benzoico, ascórbico, pamoico, succínico, salicílico, metanosulfónico, etanodisulfónico, acético, propiónico, tartárico, cítrico, glucónico, esteárico, palmítico, itacónico, glicólico, p-aminobenzoico, glutámico, bensulfámico, bencenosulfónico, p-toluenosulfónico, fosfórico, sulfúrico, nítrico, clorhídrico, bromhídrico, etc.

Se halló que una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto de la fórmula (I) poseía las propiedades antituberculosas buscadas. Sin embargo, se observa un efecto sinérgico cuando un compuesto de la fórmula (I) se coadministra con alguno de los fármacos antituberculosos de primera línea, tales como isoniacida, rifampicina, etambutol y pirazinamida. Por efecto sinérgico se entiende que el efecto terapéutico de coadministrar un compuesto de la fórmula (I) y uno o más de los fármacos antituberculosos de primera línea, antes mencionados en la presente es superior al efecto terapéutico obtenido por la administración de una cantidad efectiva de alguno de los compuestos (I), o la cantidad terapéuticamente efectiva de cualquiera de los fármacos antituberculosos de primera línea administrados por separado. Además, el efecto terapéutico de coadministrar un compuesto de la fórmula

(I) y uno o más de los fármacos antituberculosos de primera línea, mencionados antes en la presente, es superior al efecto terapéutico obtenido con la administración de los fármacos antituberculosos de primera línea, cuando se administran en combinación entre sí.

5 Dicha sinergia es ventajosa porque permite la administración de cada uno de los componentes de la combinación en una cantidad inferior a la requerida si se administran por separado. En consecuencia, la terapéutica puede verse afectada en sujetos que, por ejemplo, no responden adecuadamente al uso de un componente a la dosis de fuerza máxima.

10 En consecuencia, se halló que la coadministración del compuesto pirrol de la fórmula (I) y uno o más de isoniacida, rifampicina, etambutol y pirazinamida produce un efecto que da por resultado un mejor tratamiento de tuberculosis, comparado con el efecto cuando se administra el compuesto de la fórmula (I) o los fármacos antituberculosos de primera línea por separado o cuando se administran los fármacos
15 antituberculosos de primera línea en combinación entre sí.

 Se halló que la coadministración del compuesto pirrol de la fórmula (I) y uno o más de isoniacida, rifampicina, etambutol y pirazinamida produce un efecto que da por resultado la completa erradicación de tuberculosis, comparado con la incompleta erradicación cuando se administra el compuesto de la fórmula (I) o los fármacos
20 antituberculosos de primera línea por separado o cuando se administran los fármacos antituberculosos de primera línea en combinación entre sí.

 El término, "completa erradicación" significa que no se puede observar ninguna micobacteria cultivable en los órganos blanco es decir, pulmones o bazo de los animales infectados tras el régimen de tratamiento con la combinación de la presente
25 invención. Cabe destacar que al final del tratamiento de los animales infectados con el régimen farmacológico existente, es decir, una combinación de uno o más de los fármacos antituberculosos de primera línea, a saber, etambutol, isoniacida, pirazinamida y rifampicina, se recuperó una cantidad significativamente cultivable de

bacilos tuberculosos de los órganos blanco, es decir, pulmones y bazo. En las Tablas X, XI y XII siguientes se presentan los datos que lo evidencian.

Un método de cuantificación de cualquier micobacteria cultivable comprende sacrificar los animales tratados al final del régimen de tratamiento, en donde los
5 órganos blanco, es decir, los pulmones y el bazo se extraen asépticamente, se homogenizan en medio estéril, y luego se colocan diluciones seriadas al décimo del homogenado en una placa con medio. El homogenado residual del tubo original también se coloca en una placa que contiene medio, para obtener el recuento total. En consecuencia, se considera que la falta de desarrollo de micobacterias tras el
10 período de incubación significa completa erradicación de *M. tuberculosis*. Un experto en el arte puede usar otros métodos conocidos de cuantificación de las micobacterias cultivables.

La terapéutica actual para el tratamiento de tuberculosis comprende proporcionar una combinación de isoniazida, rifampicina, pirazinamida y etambutol en
15 cantidades de 25,0, 20,0, 150,0 y 100,0 mg/kg de peso corporal respectivamente, lo que asciende a la administración de un total de 295 mg/kg de los fármacos [Enquire, JAF., Jann, LC., y Cynamon, MH., *Antimicrob Agents Chemother.* 2002, 46, 1022-1025; Anne, MJ., Lenerts, A., Sharon, EC., Chemielewski AJ., y Cynamon MH., *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1999, 43, 2358-2360; Cynamon MH., y Klemens, SP.,
20 *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1996, 40, 298-301]. En contraste, en una forma de realización de la presente invención, se puede lograr la terapéutica que utiliza el compuesto de la fórmula (I) en combinación con los fármacos antituberculosos de primera línea con menos de la cantidad total de 295 mg/kg de isoniazida, rifampicina, pirazinamida y etambutol. Por ejemplo, en una forma de realización se administra una
25 cantidad total de aproximadamente 200 mg/kg de isoniazida, rifampicina, pirazinamida y etambutol, que es menos que la cantidad usada en la terapéutica actual.

Además, al administrar cada uno de los componentes en menor cantidad, en muchos casos se pueden minimizar o evitar los efectos secundarios.

En suma, la combinación de la coadministración del compuesto de la fórmula (I) con uno o más de los fármacos antituberculosos de primera línea conocidos agrega una nueva dimensión al tratamiento de tuberculosis, no informado hasta el momento.

5 Además, se halló que la combinación antes mencionada en la presente modula la respuesta de las cepas resistentes a fármacos de *M. tuberculosis* y es de "rápida acción". En consecuencia, se reduce significativamente el tiempo necesario para proveer completa y efectiva erradicación de *Micobacterias* del sujeto, comparado con el que se requiere con los fármacos conocidos de uso actual en la práctica, solos o en
10 combinación entre sí. En una forma de realización, se halló que el tratamiento con la combinación de esta invención sólo tarda un tercio del tiempo que tarda el tratamiento que comprende el régimen actualmente prescripto de una combinación de los fármacos antituberculosos de primera línea.

Más significativamente, nuestros estudios demuestran que con la
15 administración de una combinación de un compuesto de la fórmula (I) con fármacos antituberculosos conocidos como rifampicina y pirazinamida hay un aumento de aproximadamente 12 veces en el valor C_{max} del compuesto de la fórmula (I) en sangre. También se observa un mejoramiento similar para los valores $T_{1/2}$ y AUC.

Significativamente, en una forma de realización de la invención, se halló que
20 las combinaciones del compuesto de la fórmula I o una de sus sales farmacéuticamente aceptables y uno o más de los fármacos antituberculosos de primera línea prevenían las recurrencias de la infección micobacteriana tras discontinuar el tratamiento.

En algunos casos sería ventajosa la administración por separado de cada
25 compuesto, en distintos momentos y por diferentes vías. En consecuencia, los componentes en la combinación, es decir, el derivado pirrol de la fórmula (I) y uno o más de los fármacos antituberculosos de primera línea, no necesariamente se deben administrar esencialmente al mismo tiempo o en cualquier orden. La administración

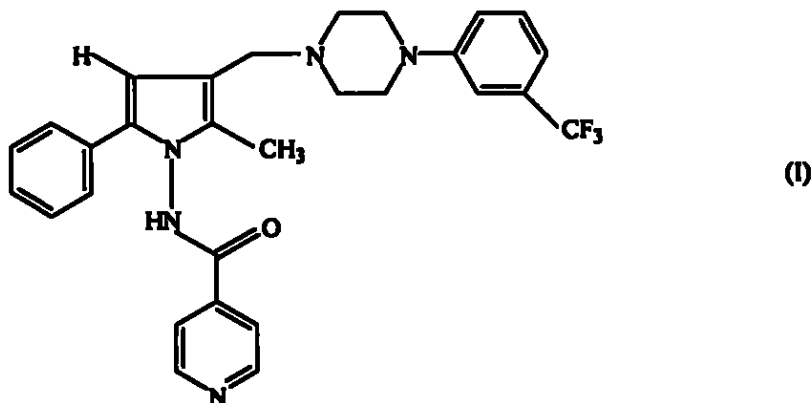
se puede organizar en el tiempo de manera tal que el efecto farmacocinético pico de un farmacocinético compuesto coincida con el efecto farmacocinético pico del otro.

Todos los ingredientes activos se pueden formular en formas de dosificación separadas o individuales que se pueden coadministrar una tras la otra. Otra opción
5 consiste en usar la misma vía de administración (por ejemplo oral) y formular dos o más de los compuestos activos en una única forma de coadministración, donde sin embargo ambos métodos de coadministración son parte del mismo tratamiento o régimen terapéutico.

En una forma de realización de la invención, el compuesto pirrol de la fórmula
10 (I) y los fármacos antituberculosos de primera línea se coadministran por vía oral y separada por formas de dosificación adecuadas.

Las formulaciones, combinaciones y composiciones de la presente invención se preparan mediante excipientes adecuados farmacéuticamente aceptables.

El tratamiento de tuberculosis comprende la coadministración a un paciente
15 que lo necesite la combinación antimicobacteriana que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de N-(3-[[4-(3-trifluorometilfenil)piperazinil]metil]-2-metil-5-fenil-pirrolil)-4-piridilcarboxamida de la fórmula (I) o una de sus sales no tóxicas farmacéuticamente aceptable

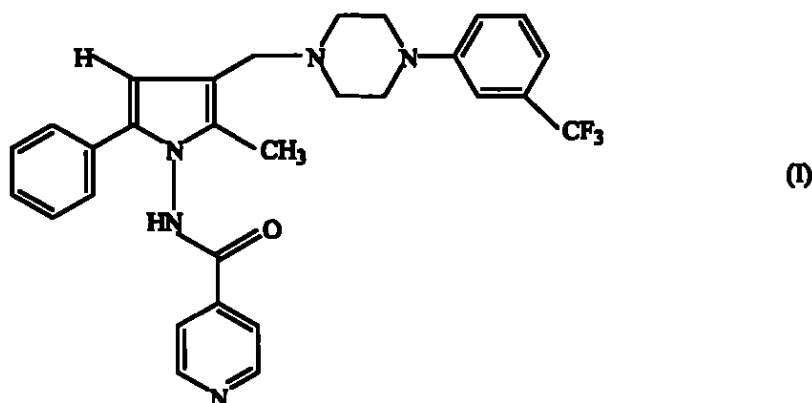


20 y una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más fármacos antituberculosos de primera línea seleccionados de isoniácida, rifampicina, etambutol.

En aún otro aspecto, la presente invención provee un efectivo tratamiento de tuberculosis es un tiempo de tratamiento reducido.

En un ejemplo de la invención, el tiempo de tratamiento se reduce a dos o tres meses. En otro ejemplo de la invención hay completa erradicación de cepas sensibles y cepas resistentes a fármacos que causan tuberculosis. Son ejemplos de cepas sensibles y resistentes a fármacos *M. tuberculosis*, *Mycobacterium avium - intracellular complex*, *M. fortuitum*, *M. kansasii* y otras especies micobacterianas relacionadas.

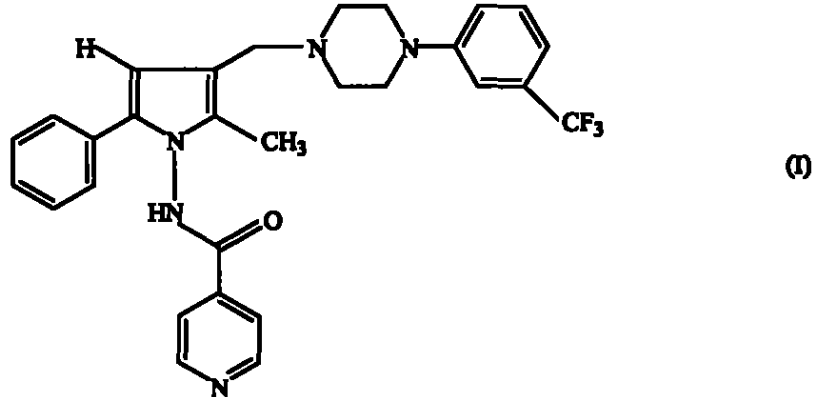
En aún otro aspecto, la presente invención provee un método para prevenir recurrencias de tuberculosis tras haber cesado el tratamiento. El método comprende la coadministración a un paciente que lo necesite una combinación antimicobacteriana que comprenda una cantidad terapéuticamente efectiva de N-(3-[[4-(3-trifluorometilfenil) piperazinil]metil]-2-metil-5-fenil-pirrolil)-4-piridilcarboxamida de la fórmula (I) o una de sus sales no tóxicas farmacéuticamente aceptables



y una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más de los fármacos antituberculosos de primera línea seleccionados de isoniacida, rifampicina, etambutol y pirazinaamida.

La recurrencia puede ser consecuencia de la reactivación de cepas sensibles dormidas o latentes y cepas resistentes a múltiples fármacos de *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium - intracellular complex*, *M. fortuitum*, *M. kansasii* y otras especies microbianas relacionadas.

En otro aspecto, la presente invención provee una combinación antimicrobacteriana sinérgica que comprende una cantidad sinérgicamente efectiva del compuesto de N-(3-[[4-(3-trifluorometilfenil)piperazinil]metil]-2-metil-5-fenil-pirrolil)-4-piridilcarboxamida de la fórmula (I) o a su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable



y una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más fármacos antituberculosos de primera línea seleccionados de isoniácida, rifampicina, etambutol y pirazinamida para el tratamiento de tuberculosis, incluso de variedades resistentes a múltiples fármacos y tuberculosis latente.

Otro aspecto de la invención consiste en lograr un tratamiento efectivo sinérgicamente terapéutico de tuberculosis que comprende coadministrar a un paciente que lo necesite dicho tratamiento en una cantidad de:

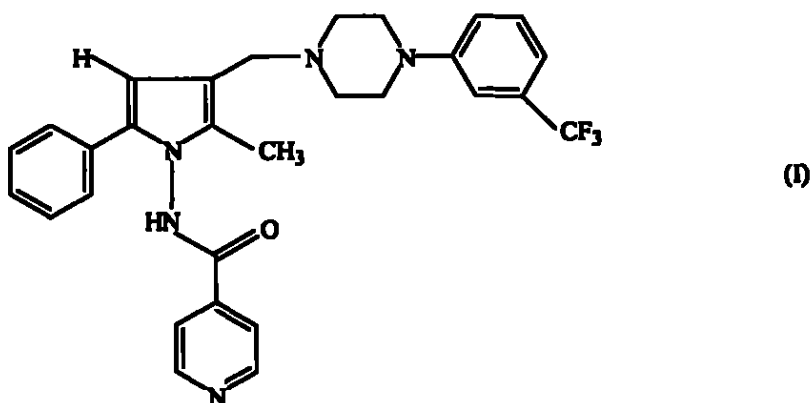
(i) un compuesto de la fórmula (I) o una de sus sales no tóxicas farmacéuticamente aceptable, y

(ii) uno o más fármacos antituberculosos de primera línea seleccionados de isoniácida, rifampicina, etambutol y pirazinamida.

en donde la cantidad de (i) sola y la cantidad de isoniácida, rifampicina, etambutol o pirazinamida sola sean insuficientes para lograr el nivel sinérgico terapéuticamente efectivo de tratamiento de tuberculosis, pero en donde el efecto combinado de la cantidad de (i) y uno o más de isoniácida, rifampicina, etambutol o pirazinamida es superior a la suma de los niveles de efectos terapéuticos de tratamiento de

tuberculosis que se pueden obtener con las cantidades individuales de (I) y isoniácida, rifampicina, etambutol o pirazinamida.

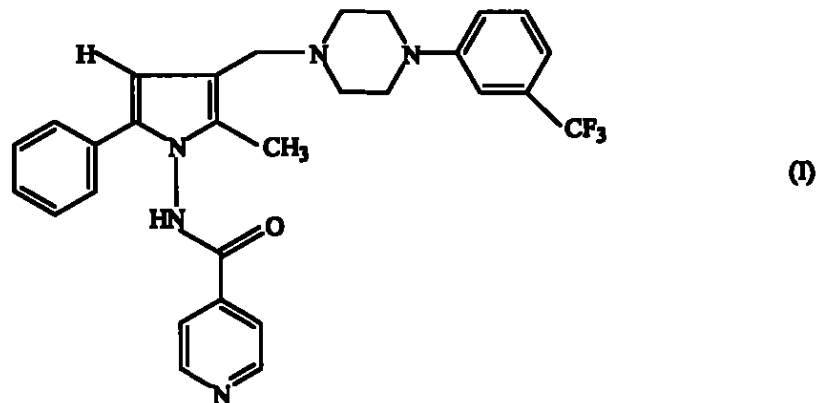
En aún otro aspecto, la presente invención provee una composición farmacéutica antimicobacteriana que comprende una combinación de una cantidad terapéuticamente efectiva de N-(3-[[4-(3-trifluorometilfenil) piperazinil] metil]-2-metil-5-fenil-pirrolil)-4-piridilcarboxamida de la fórmula (I) o a su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable



con una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más fármacos antituberculosos de primera línea seleccionado de isoniácida, rifampicina, etambutol y pirazinamida y mezclado con un excipiente farmacéuticamente aceptable para el tratamiento de tuberculosis.

Esta composición también se puede usar para el tratamiento de variedades resistentes a múltiples fármacos y tuberculosis latente.

En aún otro aspecto, la presente invención provee una composición farmacéutica antimicobacteriana que comprende una combinación de una cantidad terapéuticamente efectiva de N-(3-[[4-(3-trifluorometilfenil) piperazinil]metil]-2-metil-5-fenil-pirrolil)-4-piridilcarboxamida de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable



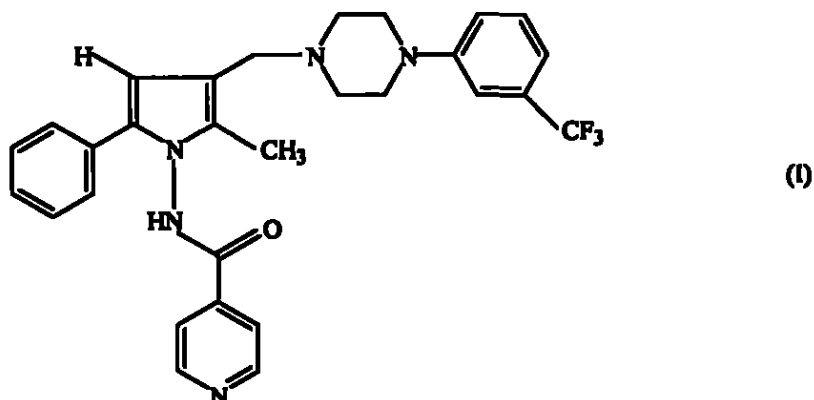
con una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más fármacos antituberculosos de primera línea seleccionado de isoniácida, rifampicina, etambutol y pirazinamida, y mezclado con un excipiente farmacéuticamente aceptable para el tratamiento y/o la

5 inhibición de uno o más condiclones/células micobacterianas, que incluye, pero sin limitaciones, cepas sensible y cepas resistentes a múltiples fármacos de *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium* - *intracellular complex*, *M. fortuitum*, *M. kansasii* y otras especies microbianas relacionadas.

En aún otro aspecto, la presente invención provee un método útil para prevenir

10 recurrencias de infección por tuberculosis, tras haber cesado el tratamiento que comprende la coadministración a un paciente que lo necesite una composición farmacéutica antimicobacteriana que comprende una combinación de una cantidad terapéuticamente efectiva de N-(3-[[4-(3-trifluorometilfenil)piperazini]metil]-2-metil-5-fenil-pirrolil)-4-piridilcarboxamida de la fórmula (I) o su sal no tóxica

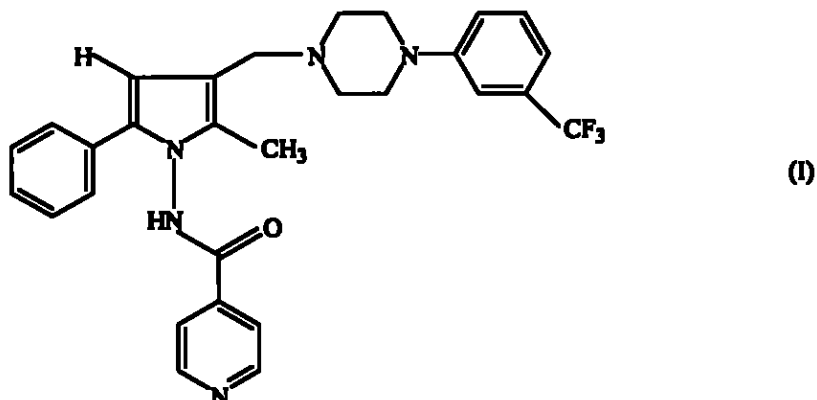
15 farmacéuticamente aceptable



con una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más fármacos antituberculosos de primera línea seleccionados de isoniácida, rifampicina, etambutol y pirazinamida y mezclado con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

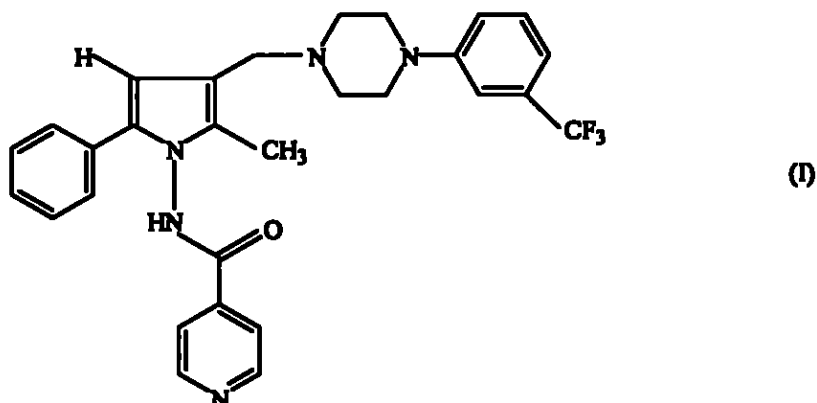
- 5 La recidiva puede ser consecuencia de la reactivación de cepas sensibles dormidas o latentes y cepas resistentes a múltiples fármacos de *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium* - intracellular complex, *M. fortuitum*, *M. kansasii* y otras especies microbianas relacionadas.

- En aún otro aspecto, la presente invención provee un tratamiento efectivo de tuberculosis que reduce el tiempo de tratamiento a sólo dos o tres meses, pero logra la completa erradicación de *M. tuberculosis* sensible y resistente a fármacos, que comprende la coadministración a un paciente que lo necesite una composición farmacéutica antimicobacteriana que comprende una combinación de una cantidad terapéuticamente efectiva de N-(3-[[4-(3-trifluorometilfenil)piperazinil]metil]-2-metil-5-
 10 fenil-pirrolil)-4-piridilcarboxamida de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable



con una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más fármacos antituberculosos de primera línea seleccionado de isoniacida, rifampicina, etambutol y pirazinamida y mezclado con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

- 5 En otro aspecto, la presente invención provee una composición farmacéutica sinérgica antimicobacteriana que comprende una combinación de una cantidad sinérgicamente efectiva de N-(3-[[4-(3-trifluorometilfenil)piperazinil] metil]-2-metil-5-fenil-pirrolil)-4-piridilcarboxamida de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable

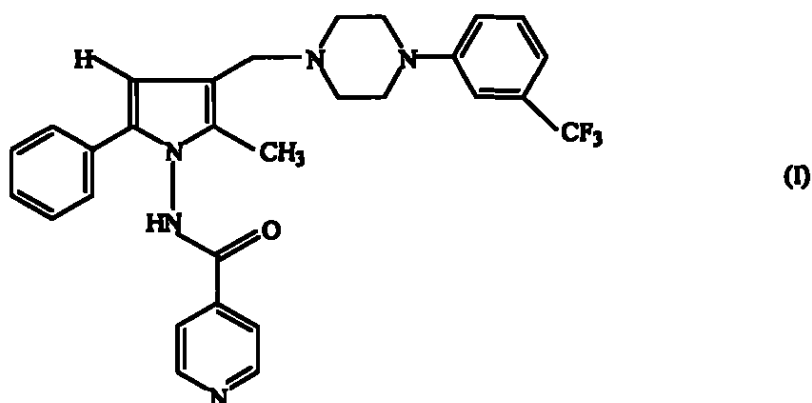


10

con una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más fármacos antituberculosos de primera línea seleccionado de isoniacida, rifampicina, etambutol y pirazinamida y mezclado con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables para el tratamiento de tuberculosis, incluso de variedades resistentes a múltiples fármacos y

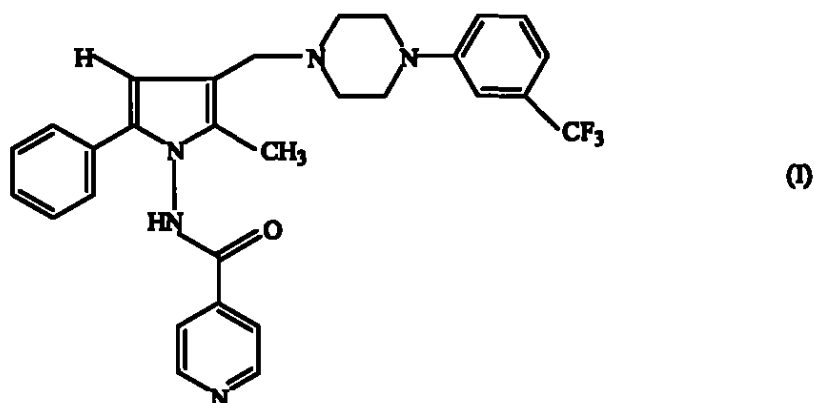
15 tuberculosis latente.

En aún otro aspecto, la presente invención provee un método para el tratamiento y/o la inhibición de una o más cepas resistentes a múltiples fármacos seleccionada, pero sin limitaciones, de *M. tuberculosis*, *Mycobacterium avium* - *intracellular complex*, *M. fortuitum*, *M. kansasii* y otras especies microbianas relacionadas, que comprende administrar una combinación de una cantidad terapéuticamente efectiva de N-(3-[[4-(3-trifluorometilfenil)piperazini] metil]-2-metil-5-fenil-pirrolil)-4-piridilcarboxamida de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable



con una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más fármacos antituberculosos de primera línea seleccionado de isoniácida, rifampicina, etambutol y pirazinamida y mezclado con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En otro aspecto de la presente invención se provee un proceso para la preparación de una composición farmacéutica antimicobacteriana que comprende una combinación de una cantidad terapéuticamente efectiva de N-(3-[[4-(3-trifluorometilfenil) piperazini]metil]-2-metil-5-fenil-pirrolil)-4-piridilcarboxamida de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable



con una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más fármacos antituberculosos de primera línea seleccionado de isoniácida, rifampicina, etambutol y pirazinamida mezclado con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables para el

5 tratamiento de tuberculosis, incluso por variedades resistentes a múltiples fármacos y tuberculosis latente. Una composición farmacéutica que comprende una combinación de N-(3-[[4-(3-trifluorometilfenil)piperazinil]metil]-2-metil-5-fenil-pirrolil)-4-piridilcarboxamida de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable con uno o más fármacos antituberculosos de primera línea se puede administrar de

10 preferencia por vía oral. La administración oral se puede lograr mediante un comprimido que comprende los ingredientes anteriores mezclado con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Las formulaciones orales son útiles para proveer dosificación exacta, rápida provisión y favorecer el cumplimiento del paciente.

Los excipientes farmacéuticamente aceptables que se pueden emplear en las

15 formulaciones o composiciones incluyen uno o más antioxidantes, rellenos, diluyentes inertes, agentes tensioactivos y aditivos convencionales tales como agentes lubricantes y opacificantes.

Los antioxidantes que se pueden usar incluyen, sin limitaciones, ácido ascórbico, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, ácido fumárico, ácido málico, propilgalato, ascorbato de sodio, metabisulfito de sodio, etc.

20

Los diluyentes inertes que se pueden usar incluyen, sin limitaciones, carbonato de calcio, sulfato de calcio, dextratos, fosfato de calcio dibásico, aceite vegetal

hidrogenado, carbonato de magnesio, óxido de magnesio, manitol, celulosa microcristalina, polimetacrilatos, celulosa en polvo, almidón pregelatinizado, sorbitol, almidón, fosfato de calcio tribásico, etc.

5 Los agentes tensioactivos que se pueden usar incluyen, sin limitaciones, agentes tensioactivos iónicos tales como docusato sódico (dioctilsulfosuccinato de sodio), laurilsulfato de sodio, etc., o agentes tensioactivos no iónicos tales como monooleato de glicerilo, polioxietileno, etc., ésteres de ácidos grasos de sorbitano tales como polisorbato 80, alcohol polivinílico, etc.

10 Los lubricantes adecuados que se pueden usar en la composición farmacéutica incluyen, sin limitaciones, estearato de magnesio, estearilfumarato de magnesio, aceite vegetal hidrogenado, aceite de ricino hidrogenado, aceite de semilla de algodón hidrogenado, ácido esteárico y estearato de calcio, dióxido de silicio coloidal y similares.

15 El lubricante se selecciona de manera tal que provea un efecto lubricante eficaz. Por ejemplo, una formulación típica puede contener de 0 % a 10 % en peso del lubricantes. En una forma de realización, la formulación contiene de 0,2 % a 2 % en peso del lubricante.

20 Los opacificantes adecuados que se pueden usar en la composición farmacéutica incluyen, sin limitaciones, óxido de titanio, talco, dióxido de silicio coloidal, etc.

25 La composición farmacéutica en una combinación de dosis fija que comprende un compuesto de la fórmula (I) y uno o más de los compuestos antituberculosos y portadores farmacéuticamente aceptables se puede preparar por métodos convencionales del arte. Por ejemplo, se puede preparar una forma en comprimido de la combinación por cualquiera de las siguientes técnicas, sin limitaciones, a saber.

i) Método de granulación seca: este método comprende el tamizado de los respectivos ingredientes activos y los excipientes farmacéuticos, seguido de granulación de la mezcla de polvos obtenida por compresión en ausencia de calor y

solvente [Farmaceutical Dosage Forms: Tablets, Vol. I, página 173, ed. H. A. Lieberman, Marcel Dekker Inc., 1980].

- ii) Método de granulación húmeda: este método comprende el tamizado de los respectivos ingredientes activos y de los excipientes farmacéuticos, y las partículas
5 obtenidas se agregan mediante un adhesivo, para obtener un producto granulado con mayores propiedades de flujo y mayor capacidad de cohesión bajo presión.

- iii) Método de compresión directa: este método comprende la compresión directa de los respectivos ingredientes activos y los excipientes farmacéuticos sin tratamiento preliminar [The Farmaceutical Codex, Principle and Practice of
10 Farmaceutics; página 10, ed. W. Lund, The Council of the Royal Farmaceutical Society of Great Britain].

Algunos ejemplos de la presente invención son combinaciones y las composiciones farmacéuticas que abarcan las siguientes mezclas, sin limitaciones, a
saber.

- 15 a) un compuesto de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable y rifampicina.
b) un compuesto de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable e isoniácida.
c) un compuesto de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente
20 aceptable, isoniácida y rifampicina.
d) un compuesto de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable, isoniácida, rifampicina y pirazinamida.
e) un compuesto de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable, pirazinamida y etambutol.
25 f) un compuesto de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable, rifampicina y pirazinamida.

Otros ejemplos de la presente invención, son combinaciones y las composiciones farmacéuticas que abarcan las siguientes mezclas, sin limitaciones, a
saber.

- 5 a) 12,5 o 25,0 mg/kg de un compuesto de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable y 20,0 mg/kg de rifampicina.
- b) 12,5 o 25,0 mg/kg de un compuesto de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable y 25,0 mg/kg de isoniácida.
- 10 c) 12,5 o 25,0 mg/kg de un compuesto de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable y 25,0 mg/kg de isoniácida y 20,0 mg/kg de rifampicina.
- d) 12,5 o 25,0 mg/kg de un compuesto de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable, 25,0 mg/kg de isoniácida, 20,0 mg/kg de rifampicina y 150,0 mg/kg de pirazinamida.
- e) 12,5 o 25,0 mg/kg de un compuesto de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable, 150,0 mg/kg de pirazinamida y 100,0 mg/kg de etambutol.
- 15 f) 3,12, 6,25 o 12,5 mg/kg de un compuesto de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable, 250,0 mg/kg de isoniácida, 20,0 mg/kg de rifampicina y 150,0 mg/kg de pirazinamida.
- g) 3,12, 6,25 o 12,5 mg/kg de un compuesto de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable, 20,0 mg/kg de rifampicina y 150,0 mg/kg de pirazinamida.
- 20

Síntesis de un compuesto de la fórmula (I)

El compuesto de la fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptable se pueden sintetizar mediante cualquier método conocido incluso, pero sin limitaciones, los métodos descritos en nuestra solicitud de PCT N° PCT/IN02/00189 (WO 25 04/026828 A1), que se incorpora a la presente como referencia.

Un ejemplo de la preparación de N-(3-[[4-(3-trifluorometilfenil)piperazinil]metil]-2-metil-5-fenil-pirrolil)-4-piridilcarboxamida es el siguiente:

Preparación de N-(3-[[4-(3-trifluorometilfenil)piperazinil]metil]-2-metil-5-fenilpirrolil)-4-piridilcarboxamida

Etapas 1

5 1-(4-clorofenil)pentano-1,4-diona

A una suspensión bien agitada de cloruro de aluminio anhidro (27,0 gm, 205,9 mmol) en 26 ml de clorobenceno se agrega cloruro de oxopentanollo (23,0 gm, 171,6 mmol) gota a gota, durante un periodo de 30-35 minutos a temperatura ambiente (25-
10 30°C). La mezcla de reacción se agita a la misma temperatura durante 1 hora. Después de la descomposición de la mezcla de reacción por la adición de hielo sólido y ácido clorhídrico (10 ml) el sólido precipitado se filtra y el filtrado se evapora en un evaporador rotatorio para eliminar todos los solventes. El residuo se disuelve en acetato de etilo (400 ml), se lava con agua (2 x 100 ml), y salmuera (100 ml) y se seca
15 sobre sulfato de sodio anhidro y se elimina el solvente por evaporación. El producto crudo así obtenido se somete a cromatografía en gel de sílice (malla de 100-200) con cloroformo como eluyente, para dar 8,6 g (24,07 %) del compuesto del título.

Etapas 2

20 N-(5-metil-2-fenilpirrolil)-4 piridilcarboxamida

Una mezcla de 1-(clorofenil)pentano-1,4-diona (6,0 g, 28,50 mmol, según se obtuvo en el Etapa 1) e hidrazida del ácido isonicotínico (4,30 gm, 31,35 mmol) en benceno (6,0 ml) se somete a reflujo sobre cedazos moleculares. Después de dos
25 horas se extrae el benceno bajo presión reducida y se disuelve el residuo en acetato de etilo, se lava con agua (2 x 100 ml) y salmuera (1 x 50 ml). La capa de acetato de etilo se seca sobre sulfato de sodio anhidro y se elimina el solvente por evaporación. El producto crudo así obtenido se purifica por cromatografía en columna con gel de

silíce (malla de 100-200) con 0,2 % de metanol en cloroformo como eluyente, para dar 3,50 g (39,42 %) del compuesto del título.

Etapas 3

5 N-(3-[[4-(3-trifluorometilfenil)piperazinil]metil]-2-metil-5-fenilpirrolil)-4-piridilcarboxamida

A una solución bajo agitación de N-(5-metil-2-fenilpirrolil)-4-piridilcarboxamida (0,300 g, 1,083 mmol, según se obtuvo en el Etapa 2) en acetonitrilo (5,0 ml) se agrega una mezcla de clorhidrato de 1-(3-trifluorometilfenil)piperazina (0,288 g, 1,083 mmol), 40 % de formaldehído (0,032 g, 1,083 mmol) y ácido acético (0,09 ml), gota a gota. Una vez completada la adición se agita la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla de reacción se neutraliza con hidróxido de sodio (solución acuosa al 20 %) y se extrae con acetato de etilo (2 x 50 ml).

El extracto de acetato de etilo combinado se lava con agua (2 x 25 ml) y salmuera (1 x 20 ml), y se seca sobre sulfato de sodio anhidro y se elimina el solvente por evaporación. TLC del producto crudo indica dos puntos, que se separaron por cromatografía en columna en gel de sílice (malla de 100-200).

El compuesto más polar se extrae por elución con mezcla de 80 % de acetato de etilo – hexano, se obtiene en 24,34 % (0,130 g) y se identifica como N-(3-[[4-(3-trifluorometilfenil)piperazinil]metil]-2-metil-5-fenilpirrolil)-4-piridilcarboxamida

p. f. 80-82°C, MS: m/z 520 (M+1)

¹H RMN (CDCl₃, *): 2,13 (s, 3H, CH₃), 2,60 (bs, 4H, 2xN-CH₂), 3,18 (bs, 4H, 2xN-CH₂), 3,41 (s, 2H, N-CH₂), 6,24 (s, 1H, H-4), 6,97-7,03 (4H, m, ArH), 7,22-7,29 (m, 5H, ArH), 7,53 (d, 2H, J=6Hz, anillo piridilo), 8,50 (bs, 1H, NH D₂O intercambiable), 8,70 (d, 2H, J=6Hz, anillo piridilo).

PRUEBAS FARMACOLÓGICAS

Se informó la actividad antimicobacteriana preliminar del compuesto de la fórmula (I) en nuestra solicitud copendiente de PCT N° PCT/IN02/00189. Se realizaron otros estudios microbiológicos, toxicológicos y farmacocinéticos, y se detallan a continuación. El compuesto de la fórmula I usado en las pruebas que se describen a continuación es la sal clorhidrato del compuesto de la fórmula (I) (sal clorhidrato de N-(3-[[4-(3-trifluorometilfenil)piperazinil]metil]-2-metil-5-fenil-pirrolil)-4-piridilcarboxamida)).

10 Estudios *in vitro*

Ensayo de dilución en agar para determinar concentraciones inhibitorias mínimas

Se determina la CIM de cada uno de los compuestos contra cepas de micobacterias mediante un método de referencia de dilución en agar según las recomendaciones de NCCLS-M24-T2. Los compuestos se disuelven en DMSO y se diluyen dos veces para obtener diez diluciones seriadas de cada compuesto. Se incorpora un volumen adecuado de los compuestos en placas duplicadas de medio de agar Middlebrook 7H10 suplementado con 10 % de suplemento Middlebrook de enriquecimiento con ácido oleico-albúmina-dextrosa (OADC) en una concentración de 0,03 µg/ml a 16 µg/ml. Los microorganismos de prueba (cepas de micobacterias) se cultivan en caldo Middlebrook 7H9 que contiene 0,05 % Tween-80 y 10 % de suplemento ADC. Después de 7 días de incubación a 37°C se ajusta la turbidez de los caldos según el estándar 1,0 de McFarland; luego se diluyen los microorganismos 10 veces en agua estéril que contiene 0,10 % de Tween-80. Las suspensiones micobacterianas obtenidas se siembran (3-5 µl/siembra) en placas con medio 7H10 suplementado con los fármacos. Las placas se sellan y se incuban a 37°C durante 3-4 semanas en posición vertical. Se registran las CIM como la menor dilución del compuesto que inhibe por completo el desarrollo de los microorganismos de prueba. Los aislamientos de prueba incluyen aislamientos clínicos que generalmente eran

sensibles/resistentes a uno o más fármacos antituberculosos estándar. Se incluyen cepas de referencia y fármacos de control adecuados en cada lote de la prueba.

Actividad antimicobacteriana del compuesto de la fórmula (I)

5 La actividad *in vitro* exhibida por la sal clorhidrato del compuesto de la fórmula (I) (sal clorhidrato de N-(3-[[4-(3-trifluorometilfenil)piperazinil] metil]-2-metil-5-fenil-pirrolil)-4-piridilcarboxamida) contra aproximadamente 200 aislamientos clínicos sensibles y resistentes a *M. tuberculosis* se resume en la Tabla I.

10 **Tabla I**

Actividad antimicobacteriana *in vitro* del compuesto de la fórmula (I) contra aislamientos clínicos de *M. tuberculosis*

Sr. N°	Compuesto/Fármaco	CIM (µg/ml) contra aislamientos de <i>M. tuberculosis</i>		
		Rango	CIM50	CIM90
1	Compuesto de la fórmula (I)	0,12 – 0,5	0,12	0,25
2	Isoniacida	0,12 - >16,0	4	>16,0
3	Rifampicina	0,12 - >16,0	4	>16,0

15 **Actividad micobactericida del compuesto de la fórmula (I)**

La Fig. 1 muestra una curva de eliminación de un compuesto de la fórmula (I) contra *M. tuberculosis* H₃₇Rv.

20 La Fig. 2 muestra una curva de eliminación del compuesto de la fórmula (I) en combinación con fármacos antituberculosos conocidos.

La Fig. 3 muestra una curva de eliminación del compuesto de la fórmula (I) en combinación con fármacos antituberculosos conocidos.

Para determinar si la actividad inhibitoria del compuesto de la fórmula (I) es bactericida o bacteriostática se incuba el cultivo de *M. tuberculosis* en presencia de distintas concentraciones (1X, 2X, 4X, 8X, 16 CIM) del compuesto de la fórmula (I). Se extrae un volumen fijo (0,1 ml) del cultivo de todos los frascos diariamente durante 5 21 días. Luego se diluye la muestra al décimo y se siembra en medio Middlebrook 7H10 para el recuento de bacilos tuberculosos.

Una concentración y un tiempo que muestra una reducción 3 log del recuento de *M. tuberculosis*, comparado con el control no tratado se consideró concentración bactericida. Se halló que el compuesto de la fórmula (I) exhibe muerte de *M. tuberculosis* dependiente de la dosis y en consecuencia se determina como bactericida (reducción 3 log en recuento viable) en concentraciones 8X y 16X CIM. La curva de eliminación del compuesto de la fórmula (I) contra la cepa *M. tuberculosis* H37 Rv determinado por el método de la estimación de recuento variable se describe en la Fig-1.

15

Estudios de sinergismo

El efecto sinérgico del compuesto de la fórmula (I) en la combinación se determina mediante un ensayo de microcaldos en tablero de ajedrez, en combinación con fármacos antituberculosos conocidos. Para probar el sinergismo se agregan diluciones seriadas del compuesto de la fórmula (I) a un cultivo micobacteriano en presencia de otro fármaco antituberculoso, a saber, isoniacida, rifampicina, etambutol y moxifloxacina. Tras 28 días se leen todas las placas para detectar la ausencia completa de desarrollo en las placas que contienen distintas combinaciones de fármacos. La mayor dilución de la combinación que no muestra desarrollo visible se considera el valor CIM de dicha combinación. Se considera que un compuesto posee sinergismo con otro fármaco si la CIM de cada compuesto mejora en diez veces o más.

20
25

Se observa que el compuesto de la fórmula (I) exhibe actividad sinérgica en el ensayo de microdilución en caldo *in vitro* con rifampicina, con efecto aditivo con etambutol, pero no es afectado por la presencia de isoniácida, como se resume en la Tabla II.

5

Tabla II

Sinergismo *in vitro* del compuesto de la fórmula (I) con fármacos antituberculosos conocidos por el método de microdilución en caldo

COMPUESTO		INTERPRETACIÓN
Compuesto de la fórmula (I)	ISONIACIDA	INDIFERENTE
Compuesto de la fórmula (I)	RIFAMPICINA	SINERGISMO
Compuesto de la fórmula (I)	ETAMBUTOL	ADITIVO
Compuesto de la fórmula (I)	MOXIFLOXACINA	ANTAGONISTA

10

Estudios *in vivo* solos o en combinación

También se evalúa la eficacia del compuesto de la fórmula (I) en un modelo murino de tuberculosis pulmonar. Los cultivos de *Mycobacterium tuberculosis* se cultivan en caldo Middlebrook 7H9 que contiene 0,05 % Tween-80 y 10 % de suplemento ADC a 37°C durante 7 días. Para la inoculación animal se eliminan los grumos del cultivo líquido por sonicación breve y se diluyen en forma adecuada en caldo 7H9, para obtener una concentración de 1×10^7 CFU/ 0,2 ml.

En el estudio se usan ratones albinos Swiss hembras exogámicas de cuatro semanas alojados en ambientes libres de patógenos de nivel de bioseguridad 3,

20

dentro de microjaulas aislantes. Se producen las infecciones por inoculación intravenosa en la vena caudal de la cola de 0,2 ml de suspensión de *M. tuberculosis* sin grumos. Después de la infección se distribuyen los ratones al azar en distintos grupos de seis. El tratamiento comienza 14 días después de la infección. Para el

5 tratamiento se disuelven el compuesto de la fórmula (I) e isoniacida en agua estéril, y rifampicina se disuelve en 10 % de DMSO y se diluye en agua. Los fármacos se preparan cada mañana, antes de la administración. Se aplica la terapéutica 5/7 días por semana durante un mes. Todos los agentes se administran por cebadura y se dosifican a 50, 25, o 12,5 mg/kg de peso corporal. El grupo control de ratones

10 infectados pero no tratados se sacrifica al iniciar la terapéutica (control temprano) o al final del periodo de tratamiento (control tardío). Los ratones se sacrifican por dislocación cervical 5 días después de la administración de la última dosis del fármaco. Los bazo y pulmones derechos se extraen en forma aséptica y se homogenizan en un homogenizador de tejidos. Se plaquean al menos 4 - 6 diluciones

15 seriadas al décimo del homogenado en placas por duplicado de agar selectivo Middlebrook 7H11. Los recuentos de colonias se registran tras incubación a 37°C durante 4 semanas. Los recuentos de células viables se convierten a valores Log₁₀. Se considera significativo un compuesto que muestra reducción 2 Log en los recuentos viables, comparado con los controles.

20 Se conducen experimentos *in vivo* a largo plazo para evaluar la actividad del compuesto de la fórmula (I) en monoterapias y en combinación con fármacos antituberculosos de primera línea tales como Isoniacida, rifampicina, etambutol, y pirazinamida. En estos estudios se evalúa la eficacia de las distintas combinaciones en distintos puntos temporales, es decir, después de uno, dos o tres meses de

25 tratamiento.

Resultados de estudios de eficacia *in vivo*

Se observa que la monoterapia con el compuesto de la fórmula (I) da por resultado una significativa reducción ($> 2\log$) de bacilos viables en los órganos blanco, comparado con los animales control, como se muestra en la Tabla III.

- 5 El compuesto de la fórmula (I) muestra una reducción de 2 log en los órganos de los animales tratados con una dosis de 12,5 mg/kg de peso corporal en animales infectados por cepas sensibles/resistentes de *M. tuberculosis*, mientras que isoniacida da una reducción similar de la carga bacteriana con concentraciones de 25 mg/kg o más contra las cepas sensibles, pero no es tan efectiva contra las cepas resistentes
- 10 con hasta 50 mg /kg.

Además, se observa que los estudios para determinar el efecto a largo plazo del tratamiento (dos a tres meses) con el compuesto de la fórmula (I) muestran una disminución de la carga micobacteriana en los órganos blanco. Se observa ausencia completa de micobacterias en el 33 % de los animales tratados durante tres meses.

- 15 Los resultados se resumen en la Tabla IV y la Tabla -V respectivamente.

Tabla III
Eficacia *in vivo* del compuesto de la fórmula (I) tras un mes de tratamiento en modelos
ratón infectados por las cepas sensibles y resistentes de M. tuberculosis.

Sr. N°	Compuesto	Log ₁₀ media de CFU en órganos de ratones Infectados por cepas sensibles de MTB		Log ₁₀ media de CFU en órganos de ratones Infectados por cepas resistentes de MTB	
		Pulmón	Bazo	Pulmón	Bazo
1	Compuesto de la fórmula (I) 12,5 mg/kg 25 mg/kg 50 mg/kg	2,5±0,35	2,89±0,32	2,97±0,53	3,02±0,22
		2,3±0,63	2,42±0,15	2,70±0,36	2,54±0,20
		2,1±0,36	2,28±0,38	2,59±0,22	2,32±0,39
2	Isonlacida 12,5 mg/kg 25 mg/kg 50 mg/kg	4,56±0,24	4,93±0,42	5,47±0,54	5,01±0,45
		3,19±0,6	3,08±0,44	5,34±0,34	4,97±0,52
		2,97±0,46	2,89±0,27	4,77±0,61	4,83±0,68
3	Control (No tratados)	5,59±0,29	5,95±0,42	5,33±0,37	5,25±0,41

Tabla IV
Eficacia *in vivo* del compuesto de la fórmula (I) en modelo ratón tratado durante dos meses

Compuesto		Log ₁₀ media de CFU en órganos de ratones infectados por cepas sensibles de MTB		Log ₁₀ media de CFU en órganos de ratones infectados por cepas resistentes de MTB	
		Pulmón	Bazo	Pulmón	Bazo
8 semanas de tratamiento	Compuesto de la fórmula (I)				
	50 mg/kg	2,20±0,56	2,17±0,46	2,51±0,72	2,37±0,61
	25 mg/kg	2,89±0,73	2,37±0,68	2,83±0,66	2,61±0,56
	12,5 mg/kg	3,44±0,69	2,75±0,63	3,32±0,6	3,1±1,13
	Isoniacida				
	50 mg/kg				
	25 mg/kg	2,45±0,60	2,30±0,38	5,42±0,74	5,1±0,61
	12,5 mg/kg	3,01±0,68	2,68±0,89	5,91±0,35	5,7±0,34
		3,9±0,45	3,73±0,52	6,01±0,9	5,88±0,41
	Control				
	Temprano	5,81±0,32	5,6±0,75	5,67±0,35	5,74±0,39
	Tardío	6,95±0,36	6,69±0,46	7,03±0,18	6,95±0,29

Tabla V
Eficacia *in vivo* del compuesto de la fórmula (I) en modelo ratón tratado durante tres meses

Compuesto		Log ₁₀ media de CFU en órganos de ratones infectados por cepas sensibles de MTB		Log ₁₀ media de CFU en órganos de ratones infectados por cepas resistentes de MTB	
		Pulmón	Bazo	Pulmón	Bazo
12 semanas de Tratamiento	Compuesto de la fórmula (I) 50 mg/kg 25 mg/kg 12,5 mg/kg	1,46±1,0 6	1,56±1,1 2	1,79±0,92 1,86±0,97	1,69±0,88 1,79±0,92
		1,71±1,2 4	1,63±0,9 8	2,51±0,18	2,6±0,34
		2,76±0,5 3	2,68±0,2 7		
	Isoniacida 50 mg/kg 25 mg/kg 12,5 mg/kg	2,07±0,3 3	2,68±0,3 6	4,76±0,20 4,79±0,55	5,64±0,66 5,62±0,63
		3,06±0,8 3	2,41±0,6 9	5,1±0,7	5,72±0,17
		3,94±0,2 8	3,9±0,37		
	Control Temprano Tardío	5,8±0,32	5,6±0,25	5,67±0,35	5,74±0,38
		7,1±0,41	7,16±0,2 3	7,2±0,23	7,46±0,27

Estudios farmacocinéticos

Se realizan estudios farmacocinéticos preliminares del compuesto de la fórmula (I) en ratones y perros, a fin de determinar la biodisponibilidad y los niveles séricos obtenidos y mantenidos por los compuestos.

Los resultados del estudio se resumen en la Tabla VI y demuestran que el compuesto de la fórmula (I) está biodisponible (56,40 %) y tiene una mejor vida media y $C_{máx}$ que isoniacida y se retienen en el suero durante más tiempo a una concentración > al valor CIM.

Tabla VI
Datos farmacocinéticos del compuesto de la fórmula (I) en ratones y perros

Compuesto	Animal	dosls/vía	T _{máx} (Hr)	T _{1/2} (Hr)	C _{máx}	AUC _{last}	Blodispon l-bllidad absoluta
Fórmula (I)	Ratón	25,0 mg	2,00	3,41	2,68	6,88	—
	Ratón	(Oral)	1,50	5,34	0,66	2,21	—
	Perro	12,5 mg	3,48	—	8,65	19,98	—
	Perro	(Oral)	0,75	5,07	3,38	10,64	56,40
		12,5 mg (I.V.)			4		
		12,5 mg (Oral)					

Estudios de toxicidad

Se determina la toxicidad aguda del compuesto de la fórmula (I) en roedores por la vía oral. Se observa que la LD₅₀ es de 700 mg/kg en ratones y 793 mg/kg en ratas, lo cual es mejor que la LD₅₀ de isoniacida. Los resultados se resumen en la Tabla VII.

Tabla VII
Estudios de toxicidad aguda preliminar (vía oral) en el compuesto de la fórmula (I)

Sr. N°	Compuesto	Animal	Valores de LD ₅₀ (mg /kg)
1	Fórmula (I)	Ratones	700
2	Fórmula (I)	Ratas	793

Además, se observa que el compuesto de la fórmula (I) no es mutagénico para todas las cepas bacterianas utilizadas en la prueba de mutagenicidad de Ames .

Experimentos para demostrar la actividad antimicobacteriana del compuesto de la fórmula (I) en combinación con uno o más fármacos antituberculosos

Actividad *in vitro* de la combinación

El efecto bactericida de la combinación del compuesto de la fórmula (I) con uno o más de los fármacos antituberculosos de primera línea se determina en términos de la dosis y el tiempo requerido para el tratamiento.

Se observa que la combinación del compuesto de la fórmula (I) con isoniacida, rifampicina y pirazinamida (LIRZ) ejerce efecto micobactericida (Fig. 2) con 8 y 16x

CIM el día 10, mientras que la combinación de isoniácida, rifampicina y pirazinamida sin compuesto de la fórmula (I) [IRZ] recién produce efecto bactericida el día 20.

En la Fig. 2 se describe una curva de eliminación del compuesto de la fórmula (I) en combinación con fármacos antituberculosos conocidos [Isoniazida (I); Rifampicina (R); y Pirazinamida (Z)] contra *M. tuberculosis*, determinado por el método de estimación por recuento viable.

Además, se observa un efecto similar sobre la actividad micobactericida en la combinación del compuesto de la fórmula (I) con rifampicina y pirazinamida, sin isoniácida, para formar el compuesto 'A'. La combinación demuestra actividad micobactericida con 8 y 16x CIM el día 14.

En la Fig. 3 se describe una curva de eliminación del compuesto de la fórmula (I) en combinación con fármacos antituberculosos conocidos [Rifampicina (R) y Pirazinamida (Z)], sin isoniácida, contra *M. tuberculosis* determinado por el método de estimación por recuento viable.

Actividad *in vivo* de la combinación

En los ratones tratados con una combinación de compuesto de la fórmula (I) y uno o más fármacos antituberculosos de primera línea se observa significativa reducción de la carga de bacilos tuberculosos con todas las combinaciones estudiadas. Se observa máxima reducción en los animales tratados con una combinación del compuesto de la fórmula (I) con dos o tres fármacos antituberculosos, por ejemplo, compuesto (I) en combinación con isoniácida y rifampicina, y en combinación con Isoniacida, rifampicina y pirazinamida después de un mes.

La eficacia observada *in vivo* de la combinación del compuesto de la fórmula (I) con fármacos antituberculosos conocidos en un modelo de ratón, tras el tratamiento durante un mes, se resume en la Tabla VIII.

Además, el tratamiento durante dos meses causa la ausencia de desarrollo en los órganos del 66 % de los animales infectados por cepas sensibles /resistentes de *M. tuberculosis* tratado con una combinación del compuesto de la fórmula (I) con dos o tres compuestos antituberculosis conocidos tales como isoniácida, rifampicina y pirazinamida.

La eficacia observada *in vivo* de la combinación del compuesto de la fórmula (I) con fármacos antituberculosos conocidos en un modelo de ratón, tras el tratamiento durante dos meses, se resume en la Tabla IX.

Además, el tratamiento durante tres meses muestra completa ausencia de desarrollo en los animales infectados por cepas sensibles/resistentes de *M. tuberculosis* tratados con una combinación del compuesto de la fórmula (I) con dos o tres compuestos antituberculosos conocidos, tales como isoniácida, rifampicina y pirazinamida.

La eficacia observada *in vivo* de la combinación del compuesto de la fórmula (I) con fármacos antituberculosos conocidos en modelo de ratón tras el tratamiento durante tres meses se resume en la Tabla X.

Significativamente, se observa que las dosis menores del compuesto de la fórmula (I), es decir 12,5, 6,25 y 3,12 mg /kg en combinación con los fármacos antituberculosos conocidos, a saber isoniácida, rifampicina y pirazinamida exhiben excelente eficacia *in vivo* y esterilizan por completo los órganos de los animales infectados por cepas sensibles/resistentes de *M. tuberculosis* después de dos meses de tratamiento. Los resultados se resumen en la Tabla XI.

Tabla VIII
Eficacia *In vivo* del compuesto de la fórmula (I) en combinación con fármacos
antituberculosos conocidos en modelo de ratón tratado durante un mes

Combinación	Dosificación (mg /kg)	Log ₁₀ media de CFU en órganos de ratones infectados por cepas sensibles de MTB		Log ₁₀ media de CFU en órganos de ratones infectados por cepas resistentes de MTB	
		Pulmón	Bazo	Pulmón	Bazo
(I) + INH	12,5+25,0	3,10±0,48	2,62±0,34	2,81±0,46	2,72±0,28
(I) +INH	25,0 +25,0	3,05±0,44	2,33±0,20	2,57±0,64	2,52±0,59
(I) +RIF	12,5+20,0	3,24±0,54	2,73±0,34	2,39±0,55	2,47±0,55
(I) +RIF	25 +20,0	3,08±0,4	2,52±0,60	2,34±0,34	2,18±0,43
(I) +INH + RIF	12,5+25,0+20,0	3,02±0,43	2,95±0,39	1,97±0,37	2,38±0,99
(I) +INH + RIF	25,0 +25,0 +20,0	3,39±0,32	2,94±0,42	2,21±0,58	2,35±0,90
(I) +INH + RIF + PIR	12,5+25,0+20,0+150,0	2,83±0,46	2,22±0,33	2,99±0,32	2,49±0,39
(I) +INH + RIF + PIR	25,0 +25,0 +20,0+ 150,0	2,84±0,4	2,10±0,36	2,73±0,43	2,33±0,24

Combinación	Dosificación (mg /kg)	Log ₁₀ media de CFU en órganos de ratones infectados por cepas sensibles de MTB		Log ₁₀ media de CFU en órganos de ratones infectados por cepas resistentes de MTB	
		Pulmón	Bazo	Pulmón	Bazo
		8			
(I) + ETH + PIR	12,5+100,0+1 50,0	3,55±0,3 2	2,85±0,33	3,27±0,42	2,80±0,24
(I) + ETH + PIR	25,0+100,0+1 50,0	3,28±0,5 2	2,30±0,40	3,22±0,18	2,57±0,38
INH	25,0	3,20±0,4 5	2,78±0,30	5,23±0,27	4,61±0,43
RIF	20,0	2,75±0,3 6	2,78±0,42	3,05±0,43	2,44±0,32
INH + RIF	25,0+20,0	3,09±0,3 3	3,04±0,36	3,31±0,32	2,82±0,29
INH +RIF +PIR	25,0+20,0+15 0,0	3,17±0,3 3	2,95±0,29	3,18±0,27	3,05±0,37
ETH + PIR	100,0+ 150,0	3,51±0,1 3	3,25±0,33	3,47±0,30	3,05±0,38
(I)	25,0	3,11±0,3 8	2,42±0,4	2,86±0,37	2,25±0,18
CONTROL TEMPRANO		5,62±0,7 2	5,23±0,38	5,41±0,63	5,13±0,68
CONTROL			6,51±0,56	6,93±0,42	6,76±0,58

Combinación	Dosificación (mg /kg)	Log ₁₀ media de CFU en órganos de ratones infectados por cepas sensibles de MTB		Log ₁₀ media de CFU en órganos de ratones infectados por cepas resistentes de MTB	
		Pulmón	Bazo	Pulmón	Bazo
TARDIO		7,02±0,2 5			

(I)= Compuesto de la fórmula (I); INH = Isoniacida; RIF = Rifampicina; PIR = Pirazinamida; ETH = Etambutol

Tabla IX
Eficacia *in vivo* del compuesto de la fórmula (I) en combinación con fármacos antituberculosos conocidos en modelo de ratón tratado durante dos meses

Combinación	Dosificación (mg /kg)	Log ₁₀ media de CFU en órganos de ratones Infectados por cepas sensibles de MTB		Log ₁₀ media de CFU en órganos de ratones Infectados por cepas resistentes de MTB	
		Pulmón	Bazo	Pulmón	Bazo
(I) +INH	12,5+25,0	1,58±1,1	1,71±0,9	2,23±0,66	1,99±0,95
(I) +INH	25,0 +25,0	1,19±0,9	1,32±1,0	2,29±0,2	1,78±0,92
(I) +RIF	12,5+20,0	1,39±1,1	1,18±0,9	2,42±1,2	1,53±1,17
(I) +RIF	25,0 +20,0	0,99±1,0	1,76±0,9	1,97±1,23	1,32±0,94
(I) +INH + RIF	12,5+25,0+20,0	0,96±1,0	1,51±1,1	1,52±1,03	1,34±1,15
(I) +INH + RIF	25,0 +25,0+ 20,0	0,74±1,1	1,06±0,8	1,82±0,95	1,81±1,11
(I) +INH + RIF + PIR	12,5+25,0+20,0 +150,0	0,92±0,7	0,70±0,5	1,20±1,15	1,35±1,09
(I) +INH + RIF	25,0 + 25,0+			0,98±1,01	1,31±1,03

Combinación	Dosificación (mg /kg)	Log ₁₀ media de CFU en órganos de ratones Infectados por cepas sensibles de MTB		Log ₁₀ media de CFU en órganos de ratones infectados por cepas resistentes de MTB	
		Pulmón	Bazo	Pulmón	Bazo
+ PIR	20,0+ 150,0	0,71±0,6 2	1,10±0,9 4		
(I) +ETH + PIR	12,5+100,0+ 150,0	2,34±0,7 8	2,22±1,2	3,42±0,78	3,89±0,63
(I) + ETH + PIR	25,0+100,0 +150	2,61±0,5 2 2,48±0,7 8		3,16±0,68	3,37±0,58
INH	25,0	1,91±0,9	2,43±0,3 9	5,15±0,42	5,36±0,84
RIF	20,0	1,84±0,9 5	2,40±0,7	2,45±1,15	2,60±0,59
INH +RIF	25,0+20,0	1,63±1,0 3	2,28±0,6 3	2,91±1,05	3,13±0,5
INH+RIF+PIR	25,0+20,0 +150,0	1,41±0,9 5	3,13±0,9 8	1,89±1,16	2,18±1,08
ETH +PIR	100,0+150,0	3,23±0,5 7	4,06±0,7 4	4,13±0,44	4,18±0,48
(I)	25,0	1,86±0,9 4	2,60±0,4 5	2,37±0,81	2,52±0,48
CONTROL TEMPRANO		6,01±0,4 8	6,47±0,3 6	6,1±0,34	6,38±0,47

Combinación	Dosificación (mg /kg)	Log ₁₀ media de CFU en órganos de ratones infectados por cepas sensibles de MTB		Log ₁₀ media de CFU en órganos de ratones infectados por cepas resistentes de MTB	
		Pulmón	Bazo	Pulmón	Bazo
CONTROL TARDÍO		7,20±0,5 4	6,96±0,7 2	7,5±0,35	7,21±0,49

(I)= Compuesto de la fórmula (I); INH = Isoniacida; RIF = Rifampicina; PIR = Pirazinamida; ETH = Etambutol

Tabla X
Eficacia *in vivo* del compuesto de la fórmula (I) en combinación con fármacos antituberculosos conocidos en un modelo de ratón tratado durante tres meses

Combinación	Dosificación (mg /kg)	Log ₁₀ media de CFU en órganos de ratones infectados por cepas sensibles de MTB		Log ₁₀ media de CFU en órganos de ratones infectados por cepas resistentes de MTB	
		Pulmón	Bazo	Pulmón	Bazo
(I) +INH	12,5+25,0	1,42±1,16	1,39±1,1	2,24±0,44	1,90±1,07
(I) +INH	25,0 +25,0	0,62±0,95	0,95±1,0 4	2,34±1,18	1,19±0,93
(I) +RIF	12,5+20,0	0,61±0,95	0,64±0,9 9	0,99±1,09	0,82±0,92
(I) +RIF	25,0 +20,0	0,47±0,62	0,63±0,9 7	0,95±1,05	0,62±0,95
(I) +INH + RIF	12,5+25,0+ 20,0	0,32±0,55	0,55±0,6 8	0,28±0,67	0,25±0,60
(I) +INH + RIF	25,0 +25,0+ 20,0	0,00	0,00	0,00	0,26±0,63
(I) +INH + RIF + PIR	12,5+25,0+ 20,0+150,0	0,00	0,00	0,00	0,00
(I) +INH + RIF + PIR	25,0+25,0+ 20,0+150,0	0,00	0,00	0,00	0,00

Combinación	Dosificación (mg /kg)	Log ₁₀ media de CFU en órganos de ratones infectados por cepas sensibles de MTB		Log ₁₀ media de CFU en órganos de ratones infectados por cepas resistentes de MTB	
		Pulmón	Bazo	Pulmón	Bazo
(I) +ETH + PIR	12,5+100,0 +150,0	1,51±1,16	1,64±1,1 0	2,36±1,02	1,79±1,40
(I) + ETH +PIR	25,0+100,0 +150,0	1,28±1,00	1,14±0,9 2	1,75±0,73	1,39±1,05
INH	25,0	1,20±0,98	1,35±1,0 9	5,37±0,35	5,19±0,65
RIF	20,0	0,84±1,10	1,21±0,8 3	0,94±1,04	1,78±1,38
INH +RIF	25,0+20,0	0,78±0,88	0,94±1,0 5	0,58±0,9	1,16±1,30
INH+RIF+PIR	25,0+20,0 +150,0	0,67±1,05	0,59±0,9 2	0,62±0,96	0,75±1,17
ETH +PIR	100,0+150,0	1,85±1,04	2,82±0,2 8	2,12±1,06	2,21±1,16
(I)	25,0	0,82±0,91	1,09±0,8 3	1,30±1,02	1,64±1,12
CONTROL TEMPRANO CONTROL		6,22±0,46 7,32±0,39	5,87±0,5 2	6,28±0,25 7,31±0,38	6,20±0,53 7,20±0,44

Comblnación	Dosificación (mg /kg)	Log ₁₀ media de CFU en órganos de ratones infectados por cepas sensibles de MTB		Log ₁₀ media de CFU en órganos de ratones infectados por cepas resistentes de MTB	
		Pulmón	Bazo	Pulmón	Bazo
TARDIO			7,37±0,4 8		

(I)= Compuesto de la fórmula (I); INH = Isoniacida; RIF = Rifampicina; PIR = Pirazinamida; ETH = Etambutol

Tabla XI

Eficacia *in vivo* del compuesto de la fórmula (I) en combinación con fármacos antituberculosos conocidos (Isoniacida, Rifampicina y Pirazinamida) en modelo de ratón contra *M. tuberculosis* (cepas sensibles y resistentes) tras dos meses de tratamiento

Sr. N°	Compuesto (mg /kg)	Log ₁₀ media de CFU en órganos de ratones Infectados por cepas sensibles de MTB		Log ₁₀ media de CFU en órganos de ratones Infectados por cepas resistentes de MTB	
		Pulmón	Bazo	Pulmón	Bazo
1	(I) en comblación con INH + RIF + PIR				
	12,5	0,00	0,00	0,00	0,00
	6,25	0,23+0,7	0,2 +0,63	0,441 + 0,94	0,49+
	3,12	2 2,468 + 0,495	2,72 +0,28	2,84 + 0,66	1,035 2,92 +0,43
2	INH + RIF + PIR	2,99 + 0,37	3,20+ 0,22	4,34+0,59	3,802,45
3	Control				
	Temprano Tardío	6,037 ±0,45 7,30 + 0,35	5,66 ±0,68 7,04 + 0,21	5,76±027 7,037+0,39	5,53±0,40 6,95+0,39

(I)= Compuesto de la fórmula (I); INH = Isoniacida; RIF = Rifampicina; PIR = Pirazinamida

5 Además, el efecto de la eficacia *in vivo* sobre el tratamiento continuado de los animales infectados con la combinación del compuesto de la fórmula (I) con isoniácida, rifampicina y pirazinamida se resume en la Tabla XII.

10 Se observa que el efecto de la eficacia *in vivo* del tratamiento de ratones con otra combinación que comprende el compuesto de la fórmula (I) con dos compuestos antituberculosos conocidos, a saber, rifampicina y pirazinamida, durante dos meses también es efectivo en reducir la carga micobacteriana de los órganos blanco, como se muestra en la Tabla XIII.

Tabla XII
Eficacia *in vivo* del compuesto de la fórmula (I) en combinación con fármacos antituberculosos conocidos (Isoniacida, Rifampicina y Pirazinamida) en modelo de ratón contra *M. tuberculosis* (cepas sensibles y resistentes) después de tres meses de tratamiento

Sr. N°	Compuesto (mg /kg)	Log ₁₀ media de CFU en órganos de ratones infectados por cepas sensibles de MTB		Log ₁₀ media de CFU en órganos de ratones infectados por cepas resistentes de MTB	
		Pulmón	Bazo	Pulmón	Bazo
1	(I) en Combinación con INH + RIF + PIR				
	12,5	0,00	0,00	0,00	0,00
	6,25	0,00	0,00	0,00	0,00
	3,12	1,562 +1,05	1,387 +0,97	2,34+0,78	2,22+1,2
2	INH + RIF + PIR	1,55 + 1,00	1,33+0,93	3,87+0,59	3,17 +0,45
3	Control				
	Temprano	6,037 ±0,45	5,66 ±0,68	5,76±027	5,53±0,40
	Tardío	7,83 + 0,35	7,46 + 0,33	7,74 +0,54	7,28 +0,68

(I)= Compuesto de la fórmula (I); INH = Isoniacida; RIF = Rifampicina; PIR = Pirazinamida.

Tabla XIII
Eficacia *in vivo* del compuesto de la fórmula (I) en combinación con fármacos antituberculosos conocidos (Rifampicina y Pirazinamida) en modelo de ratón contra *M. tuberculosis* (cepas sensibles y resistentes) tras dos meses de tratamiento

5

Sr. N°	Compuesto (mg /kg)	Log ₁₀ media de CFU en órganos de ratones Infectados por cepas sensibles de MTB		Log ₁₀ media de CFU en órganos de ratones Infectados por cepas resistentes de MTB	
		Pulmón	Bazo	Pulmón	Bazo
1	(I) en combinación con RIF + PIR 12,5 6,25 3,12	 0,52 + 1,06 1,768 + 1,6 2,35 +0,35	 0,35 + 0,79 1,48 + 1,4 2,16+0,37	 0,88 + 1,20 1,23 + 1,14 2,51 + 0,39	 0,90 + 1,02 1,6 + 1,08 2,49 + 0,38
2	RIF + PIR	2,67 + 0,32	2,47+0,37	3,34 + 0,50	3,2 + 0,32
3	Control Temprano Tardío	5,97 + 0,39 7,23+0,34	5,74 + 0,21 7,06+0,21	6,058 + 0,41 7,31 + 0,42	5,83 + 0,30 7,23 + 0,52

(I)= Compuesto de la fórmula (I); RIF = Rifampicina; PIR = Pirazinamida.

Estudios farmacocinéticos de la combinación

Los estudios farmacocinéticos preliminares de la combinación del compuesto de la fórmula (I) con rifampicina y pirazinamida se realizan en ratones y perros, a fin
5 de determinar la biodisponibilidad y los niveles séricos obtenidos y mantenidos para la combinación de los compuestos.

Los resultados del estudio se resumen en la Tabla XIV y muestran que con la administración de la combinación de compuesto de la fórmula (I) con rifampicina y pirazinamida hay un aumento de aproximadamente doce veces en el valor $C_{m\acute{a}x}$ del
10 compuesto de la fórmula (I) en sangre. También se observan mejoramientos similares para los valores $T_{1/2}$ y AUC. Los resultados se resumen en la Tabla XIV.

Tabla XIV
Actividad farmacoclnética de una combinación del compuesto de la fórmula (I) con Rifampicina y Pirazinamida en ratones

Animal	Vía de Administración	Compuesto	Dosificación (mg/kg)	C _{máx} (µg/ml)	T _{1/2} (hr)	T _{máx}	AUC (h*µg/ml)
Ratón	Oral	(I)	25,0	2,68	3,41	2,0	6,88
			12,5	0,66	5,34	1,5	2,21
Ratón	Oral	(I)	12,5	7,58	6,73	2,12	36,48
		RIF	20,0	19,26	7,62	3,25	195,40
		PIR	150,0	145,94	2,05	1,0	477,07
Ratón	Oral	RIF	20,0	15,21	8,92	2,3	147,82
		PIR	150,0	137,81	2,09	1,5	648,89

5

(I)= Compuesto de la fórmula (I); RIF = Rifampicina; PIR = Pirazinamida.

Estudios de toxicidad activa de la combinación

10 Se administra una combinación del compuesto de la fórmula (I) con isoniacida, rifampicina y pirazinamida como dosis única oral a ratones Swiss albinos. Se observa los ratones durante 14 días. No se observan síntomas clínicos ni mortalidad. Se sacrifican los ratones el día 15, pero no se observan cambios patológicos en ningún órgano. Los resultados preliminares obtenidos se resumen en la Tabla XV.

Tabla XV
Estudios preliminares de toxicidad aguda de la combinación del compuesto de la fórmula (I) con isoniácida, rifampicina y pirazinamida

S.N°	Compuesto	Animal	Vía de Administración	Valores de LD ₅₀ (mg /kg)
1	(I) + INH + RIF + PIR	Ratón	Oral	>2000
2	(I) + INH + RIF + PIR	Ratón	IV	>200

5 (I)= Compuesto de la fórmula (I); INH = Isoniácida; RIF = Rifampicina; PIR = Pirazinamida.

Además, la combinación de un compuesto de la fórmula (I) con los fármacos antituberculosos de primera línea conocidos no es genotóxica, al obtener resultados
10 negativos en la prueba de micronúcleo *in vivo*.

Del análisis anterior surgen abundantes evidencias de que las combinaciones y la composición farmacéutica de la presente invención, que comprende una combinación de N-(3-[[4-(3-trifluorometilfenil)piperazinil]metil]-2-metil-5-fenil-pirrolil)-4-piridilcarboxamida de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable
15 don fármacos antituberculosos de primera línea de prescripción actual tales como isoniácida, rifampicina, etambutol y pirazinamida,

a) proveen un tratamiento altamente eficaz de la tuberculosis, incluso la tuberculosis latente y las variedades resistentes a múltiples fármacos, que es superior al obtenido con el uso de los fármacos actualmente prescritos;

20 b) a diferencia de los fármacos actualmente prescritos, las combinaciones y composiciones son altamente eficaces en la inhibición y/o tratamiento de condiciones/ células micobacterianas, incluso, pero sin limitaciones, las cepas sensibles y las cepas resistentes a múltiples fármacos de *Mycobacterium tuberculosis*,

Mycobacterium avium - intracellular complex, *M. fortuitum*, *M. kansasii* y otras especies microbianas relacionadas;

5 c) a diferencia de los fármacos actualmente prescritos, las combinaciones y composiciones son altamente eficaces en la prevención de recurrencias de infección por *M. tuberculosis* tras interrumpir el tratamiento;

10 d) es de "acción rápida", por lo que reduce significativamente el tiempo requerido para proveer completa y eficaz erradicación de *Mycobacteria* de un sujeto, comparado con el que requieren los fármacos conocidos utilizados actualmente en la práctica, solos o en combinación entre sí. El tiempo requerido para el tratamiento con la combinación o la composición farmacéutica es de sólo un tercio del requerido por los fármacos actualmente prescritos, con completa erradicación de *M. tuberculosis* sensible y resistente a fármacos;

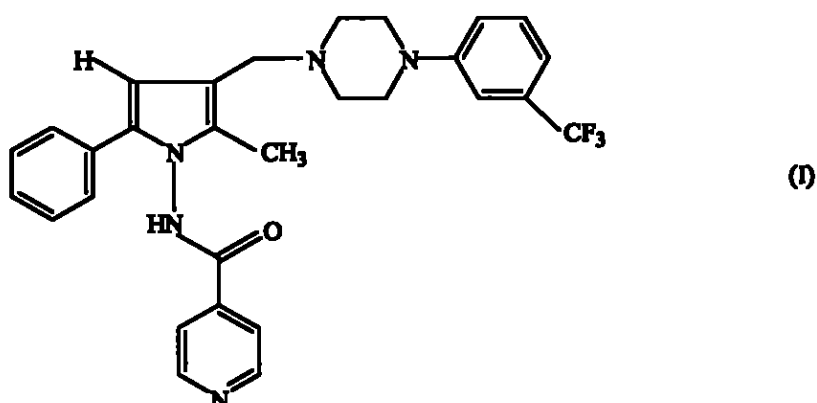
15 e) se observa que una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto de la fórmula (I) provee un efecto sinérgico cuando se coadministra con algunos de los fármacos antituberculosos de primera línea actualmente prescritos, tales como isoniacida, rifampicina, etambutol y pirazinamida. El efecto sinérgico es mayor que el efecto terapéutico obtenido con la administración de una cantidad efectiva de cualquiera de los compuestos (I), o la cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de los fármacos antituberculosos de primera línea administrados por separado. 20 Además, el efecto terapéutico de coadministrar un compuesto de la fórmula (I) y los fármacos antituberculosos de primera línea, antes mencionados en la presente es superior al efecto terapéutico obtenido con la administración de los fármacos antituberculosos de primera línea, cuando se administran en combinación entre sí;

25 f) el sinergismo es ventajoso pues permite la administración de cada uno de los componentes de la combinación en una cantidad inferior a la requerida si se administraran por separado, por lo que toman eficacia la terapéutica para los sujetos que, por ejemplo, no responden en forma adecuada al uso de un componente en la dosificación de máxima potencia; y/o

g) permite la administración de cada uno de los componentes en cantidades inferiores, respecto del caso en que los efectos combinados son aditivos, lo cual da por resultado la minimización de los efectos secundarios asociados con la terapéutica actualmente en práctica.

REIVINDICACIONES

1. Una combinación antimicobacteriana que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de N-(3-[[4-(3-trifluorometilfenil)piperazini]metil]-2-metil-5-fenil-pirrolil)-4-piridilcarboxamida de la fórmula (I) o un de sus sales no tóxicas farmacéuticamente aceptable



y una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más fármacos antituberculosos de primera línea seleccionado del grupo que consiste en isoniacida, rifampicina, etambutol y pirazinamida.

2. Una composición farmacéutica antimicobacteriana que comprende una combinación antimicobacteriana de acuerdo con la reivindicación 1, mezclado con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

3. Una composición farmacéutica antimicobacteriana de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el excipiente farmacéuticamente aceptable se selecciona de un antioxidante, un diluyente inerte, un agente tensioactivo, un agente lubricante y un opacificante.

4. Una combinación antimicobacteriana de acuerdo con la reivindicación 1, de utilidad para el eficaz tratamiento de tuberculosis.

5 5. Una combinación antimicobacteriana de acuerdo con la reivindicación 1, para el tratamiento de condiciones/células micobacterianas seleccionadas de cepas sensibles y cepas resistentes a múltiples fármacos de *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium* - *intracellular complex*, *M. fortuitum*, *M. kansasii* y otras especies microbianas relacionadas.

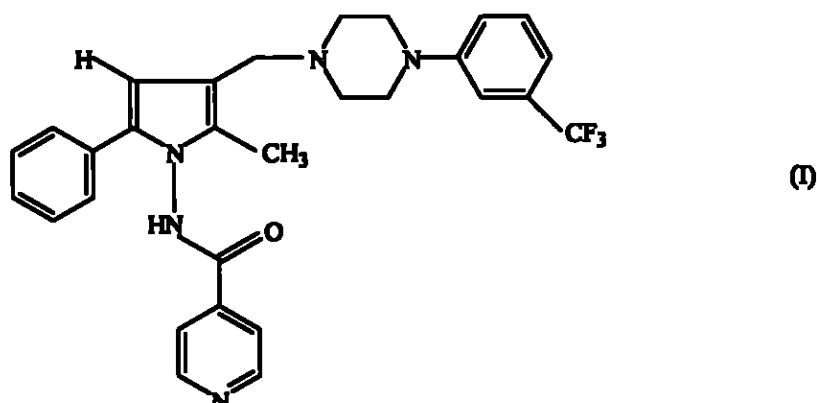
10 6. La composición farmacéutica antimicobacteriana de acuerdo con la reivindicación 2, de utilidad para el eficaz tratamiento de tuberculosis.

15 7. La composición antimicobacteriana de acuerdo con la reivindicación 2, para el tratamiento de condiciones/células micobacterianas seleccionadas de cepas sensibles y cepas resistentes a múltiples fármacos de *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium* - *intracellular complex*, *M. fortuitum*, *M. kansasii* y otras especies microbianas relacionadas.

20 8. La combinación antimicobacteriana de acuerdo con la reivindicación 1, que erradica por completo *M. tuberculosis* sensible y resistente a fármacos al completar el tratamiento.

25 9. La composición farmacéutica antimicobacteriana de acuerdo con la reivindicación 2, que erradica por completo *M. tuberculosis* sensibles y resistentes a fármacos al completar el tratamiento.

10. Un proceso para la preparación de una composición farmacéutica antimicobacteriana que comprende la combinación de un compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable



5 y uno o más de los fármacos antituberculosos de primera línea mediante un método de granulación seca, un método de granulación húmeda o un método de compresión directa.

11. Una combinación de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende un compuesto de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable y rifampicina.

10

12. Una combinación de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende un compuesto de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable e isoniácida.

15

13. Una combinación de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende un compuesto de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable, isoniácida y rifampicina.

20

14. Una combinación de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende un compuesto de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable, isoniácida, rifampicina y pirazinamida.

15. Una combinación de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende un compuesto de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable, pirazinamida y etambutol.

5 16. Una combinación de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende un compuesto de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable, rifampicina y pirazinamida.

10 17. Una combinación de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende 12,5 o 25,0 mg/kg de compuesto de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable y 20,0 mg /kg de rifampicina.

15 18. Una combinación de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende 12,5 o 25,0 mg /kg de compuesto de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable y 25,0 mg /kg de isoniacida.

20 19. Una combinación de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende 12,5 o 25,0 mg/kg de compuesto de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable y 25,0 mg/kg de isoniacida y 20,0 mg/kg de rifampicina.

25 20. Una combinación de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende 12,5 o 25,0 mg /kg de compuesto de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable, 25,0 mg/kg de isoniacida, 20,0 mg/kg de rifampicina y 150,0 mg/kg de pirazinamida.

21. Una combinación de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende 12,5 o 25,0 mg/kg de compuesto de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable, 150,0 mg/kg de pirazinamida y 100,0 mg/kg de etambutol.

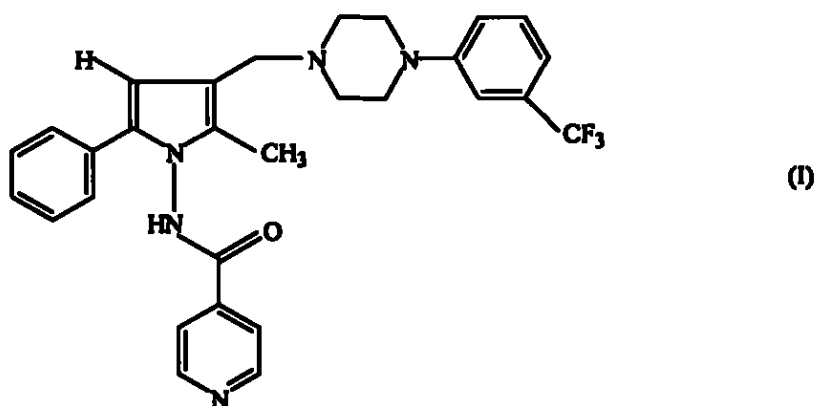
22. Una combinación de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende 3,12, 6,25 o 12,5 mg/kg de compuesto de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable, 250,0 mg/kg de isoniacida, 20,0 mg/kg de rifampicina y 150,0 mg/kg de pirazinamida.

5

23. Una combinación de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende 3,12, 6,25 o 12,5 mg/kg de compuesto de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable, 20,0 mg/kg de rifampicina y 150,0 mg/kg de pirazinamida.

RESUMEN

De describen una combinación antimicobacteriana y una composición para tratar tuberculosis. Los compuestos usados son N-(3-[[4-(3-trifluorometilfenil)piperazinil]metil]-2-metil-5-fenil-pirrolil)-4-piridilcarboxamida de la fórmula (I) o su sal no tóxica farmacéuticamente aceptable



y una cantidad de uno o más fármacos antituberculosos de primera línea.

1/3

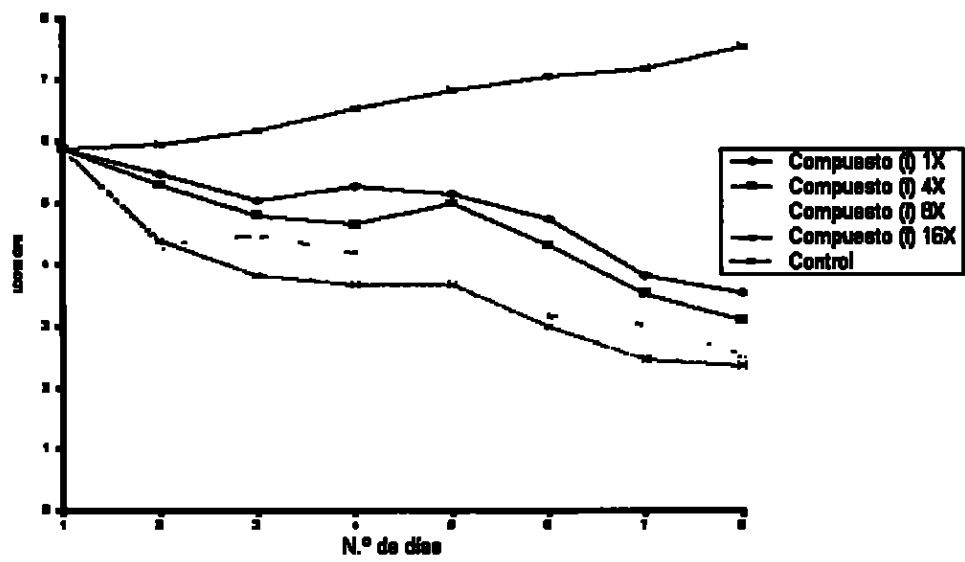


FIGURA 1

2/3

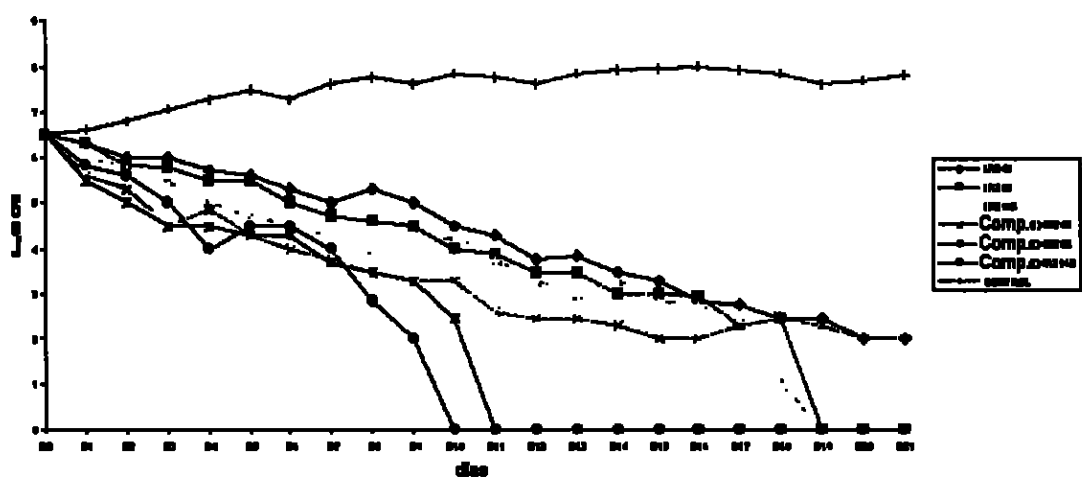


FIGURA 2

3/3

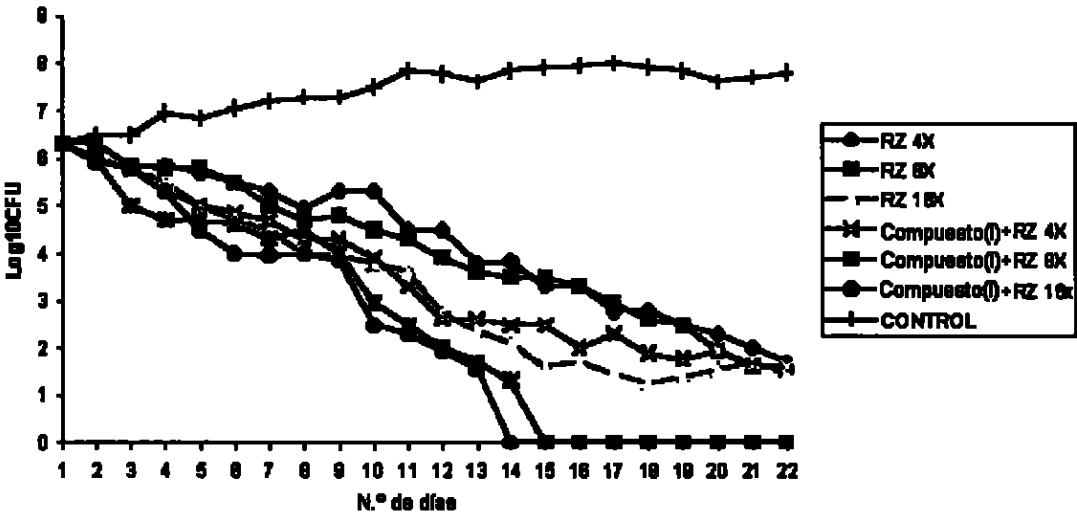


FIGURA 3

Retno folios 141, 142 y 143
"Togekus y Exhuclo"

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

MAJUMDAR, Subhatosh
5, Harish Mukherjee Road
Calcutta 700 025
India

Date of mailing (day/month/year) 05 April 2005 (05.04.2005)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference FPAA481PCT	
International application No. PCT/IN2004/000266	International filing date (day/month/year) 27 August 2004 (27.08.2004)
International publication date (day/month/year) Not yet published	Priority date (day/month/year) 12 May 2004 (12.05.2004)
Applicant LUPIN LIMITED et al	

- By means of this Form, which replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents, the applicant is hereby notified of the date of receipt by the International Bureau of the priority document(s) relating to all earlier application(s) whose priority is claimed. Unless otherwise indicated by the letters "NR", in the right-hand column or by an asterisk appearing next to a date of receipt, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
- (If applicable) The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which, on the date of mailing of this Form, had not yet been received by the International Bureau, under Rule 17.1(a) or (b). Where, under Rule 17.1(a), the priority document must be submitted by the applicant to the receiving Office or the International Bureau, but the applicant fails to submit the priority document within the applicable time limit under that Rule, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
- (If applicable) An asterisk(*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b) (the priority document was received after the time limit prescribed in Rule 17.1(a) or the request to prepare and transmit the priority document was submitted to the receiving Office after the applicable time limit under Rule 17.1(b)). Even though the priority document was not furnished in compliance with Rule 17.1(a) or (b), the International Bureau will nevertheless transmit a copy of the document to the designated Offices, for their consideration. In case such a copy is not accepted by the designated Office as priority document, Rule 17.1(c) provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

Priority date	Priority application No.	Country or regional Office or PCT receiving Office	Date of receipt of priority document
12 May 2004 (12.05.2004)	10/844,992	US	16 Nov 2004 (16.11.2004)

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Arunkumar NAIR
Facsimile No. (41-22) 338.87.40	Telephone No. (41-22) 338 8157

PATENT COOPERATION TREATY

142/15

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

To:

see form PCT/ISA/220

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY
(PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing
(day/month/year) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference
see form PCT/ISA/220

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

International application No.
PCT/N2004/000266

International filing date (day/month/year)
27.08.2004

Priority date (day/month/year)
12.05.2004

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. A61K45/06 A61K31/496 A61K31/4965 A61K31/131 A61K31/4409 A61P31/06 A61K9/16 A61K9/20

Applicant
LUPIN LIMITED

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ Box No. II Priority
- ☐ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☐ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. FURTHER ACTION

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 68.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:



European Patent Office - P.B. 5818 Patents
NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas
Tel. +31 70 340 - 2040 Tx: 31 651 epo nl
Fax: +31 70 340 - 3016

Date of completion of
this opinion

see form
PCT/ISA/210

Authorized Officer

Kanbier, D

Telephone No. +31 70 340-3485



**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/IN2004/000266

146
A3

Box No. 1 Basis of the opinion

1. With regard to the language, this opinion has been established on the basis of:
 - ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1 (b)).
2. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of:
 - a. type of material:
 - ☐ a sequence listing
 - ☐ table(s) related to the sequence listing
 - b. format of material:
 - ☐ on paper
 - ☐ in electronic form
 - c. time of filing/furnishing:
 - ☐ contained in the international application as filed.
 - ☐ filed together with the international application in electronic form.
 - ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search.
3. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
4. Additional comments:

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/IN2004/000266

14A
144

Box No. V Reasoned statement under Rule 43b/s.1(a)(I) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	1-23
	No: Claims	-
Inventive step (IS)	Yes: Claims	1-23
	No: Claims	-
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	1-23
	No: Claims	-

2. Citations and explanations

see separate sheet

Re Item V.

Reference is made to the following document:

D1 : WO 2004/026828 A (LUPIN LIMITED; ARORA, SUDERSHAN, KUMAR; SINHA, NEELIMA; JAIN, SANJAY;) 1 April 2004; cited in the application

NOVELTY

- 1 Document D1, which is considered to represent the most relevant state of the art, discloses antimycobacterial pyrrole compounds for treating tuberculosis, including the compound of formula (I). No combinations with other (antitubercular) actives are referred to, although fixed-dose combinations of first-line anti-tubercular drugs are not unknown (page 1, line 27).
- 1.2 From this, the subject-matter of independent claim 1 differs in that combinations with a number of first line antitubercular compounds are claimed. Claim 10 presents the further difference of specifying a process by which a composition comprising the two drugs is to be manufactured, which is also not indicated in the prior art.
- 1.3 The subject-matter of claims 1 and 10 is therefore novel (Article 33(2) PCT).

INVENTIVE STEP

2. The problem to be solved by the present invention may be regarded as: providing improved antitubercular compositions.
- 2.1 The solution to this problem proposed in claims 1 and 10 of the present application is considered as involving an inventive step (Article 33(3) PCT) for the following reasons:
The first line antitubercular compounds of claims 1 and 10 are in themselves known for treating tuberculosis, as is the compound of formula (I) (see D1). In the absence of any indications as to incompatibility of the combined actives, their combinations are held *a priori* to lack an inventive step, since by combining them, a skilled person would have expected at least some beneficial effect based on their respective properties.
- 2.2 However, on pages 33-50 of the present application, the combinations claimed are shown to possess synergistic properties; this could not have been expected by a skilled person.

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING
AUTHORITY (SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/IN2004/000266

The combinations therefore involve an inventive step.

- 3 Claims 2-9 and 11-23 are dependent on claim 1 and as such also meet the requirements of the PCT with respect to novelty and inventive step.

PATENT COOPERATION TREATY

WO 2005/107809
PCT/IN2004/000266

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION CONCERNING
TRANSMITTAL OF COPY OF INTERNATIONAL
APPLICATION AS PUBLISHED OR REPUBLISHED

To:

MAJUMDAR, Subhotosh
5, Harish Mukherjee Road
Calcutta 700 025
INDE

Date of mailing (day/month/year)
17 November 2005 (17.11.2005)

Applicant's or agent's file reference
FPAA481PCT

IMPORTANT NOTICE

International application No.
PCT/IN2004/000266

International filing date (day/month/year)
27 August 2004 (27.08.2004)

Priority date (day/month/year)
12 May 2004 (12.05.2004)

Applicant

LUPIN LIMITED et al

The International Bureau transmits herewith the following documents:

- ☒ copy of the international application as published by the International Bureau on 17 November 2005 (17.11.2005) under No. WO 2005/107809
- ☐ copy of international application as republished by the International Bureau on under No. WO
- For an explanation as to the reason for this republication of the international application, reference is made to INID codes (15), (48) or (88) (as the case may be) on the front page of the attached document.

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Dorothee Mülhausen

Facsimile No. +41 22 740 14 35

Facsimile No. +41 22 338 87 40

148



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 06-122961- -00000-0000
Fec: 2006-12-06 16:03:23 Dep. 2020 NUECREACIONES
Tra. 11 PATENTE/II
Eve: 3/8 FASE NACIONAL I
Act 411 PRESENTACION Folio: 150

Delegatura de Propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones

REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACION Y AGILIZACION DEL TRÁMITE

	USUARIO	RADICADOR
PATENTE DE INVENCION (X) MODELO DE UTILIDAD ()	(X)	()
- Indicación de que se solicita la concesión de una patente	(X)	()
- Datos de Identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud	(X)	()
- Descripción de la invención	(X)	()
- Dibujos de ser estos pertinentes	()	()
- Comprobante de pago de las tasas establecidas	(X)	()

COMPLETA () INCOMPLETA (X)

DISEÑO INDUSTRIAL ()

- Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial	()	()
- Datos de Identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud	()	()
- Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño	()	()
- Comprobante de pago de las tasas establecidas	()	()

COMPLETA () INCOMPLETA ()

EZQUEMA DE TRAZADO ()

- Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial	()	()
- Datos de Identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud	()	()
- Representación gráfica del Esquema de Trazado	()	()
- Comprobante de pago de las tasas establecidas	()	()

COMPLETA () INCOMPLETA ()

Firma responsable: 
Fecha: 06 DIC. 2006