



УКРАЇНА

(19) UA (11) 92586 (13) C2
(51) МПК
A01N 43/38 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

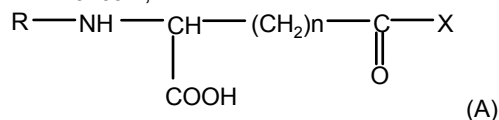
ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ЛІКУВАННЯ АБО ЗАПОБІГАННЯ РЕСПІРАТОРНИМ ВІРУСНИМ ІНФЕКЦІЯМ ЗА ДОПОМОГОЮ ІМУНОМОДУЛЯТОРІВ

1

(21) а200612948
(22) 12.05.2005
(24) 25.11.2010
(86) PCT/US2005/016595, 12.05.2005
(31) 60/570,941
(32) 14.05.2004
(33) US
(46) 25.11.2010, Бюл.№ 22, 2010 р.
(72) ТАТХІЛЛ ЦІНТІЯ В., US, РУДОЛФ АЛЬФРЕД Р., US, КОЛОБОВ АЛЕКСАНДР А., RU/RU, СІМБІРЦЕВ АНДРЕЙ С., RU/RU, ПЕТРОВ АЛЕКСАНДР В., RU/RU
(73) САЙКЛОН ФАРМАСЮТИКАЛС, ІНК., US
(56) US A 5744452 28.04.1998
US A 5916878 29.06.1999
(57) 1. Спосіб лікування респіраторної вірусної інфекції в індивідуума, який включає: введення індивідууму, що має респіраторну вірусну інфекцію, імуностимулюючої ефективної кількості сполуки формули А або її фармацевтично прийнятної солі,



у якій n означає 1 або 2, R означає водень, ацил, алкіл або пептидний фрагмент, і X означає ароматичну або гетероциклічну амінокислоту, або її похідної, або її фармацевтично прийнятної солі.
2. Спосіб за п. 1, у якому X означає L-триптофан або D-триптофан.
3. Спосіб за п. 1, у якому сполука являє собою SCV-07.
4. Спосіб за п. 1, у якому респіраторна вірусна інфекція являє собою інфекцію, яка викликається коронавірусом.

2

5. Спосіб за п. 1, у якому респіраторна вірусна інфекція являє собою інфекцію, яка викликається вірусом грипу.
6. Спосіб за п. 1, у якому респіраторна вірусна інфекція являє собою інфекцію, яка викликається гібридом ортоміксовірусу-коронавірусу.
7. Спосіб за п. 1, у якому інфекція являє собою вірусну інфекцію, яка викликається SARS.
8. Спосіб за п. 1, у якому інфекція являє собою інфекцію, яка викликається вірусом грипу.
9. Спосіб за п. 1, у якому сполуку вводять у дозі, що становить приблизно від 0,1 до 10 мг.
10. Спосіб за п. 1, у якому сполуку вводять у дозі, що становить приблизно від 0,1 до 1 мг.
11. Спосіб за п. 1, у якому сполуку вводять у дозі, що становить приблизно від 0,01 до 100 мікрограмів на кілограм ваги тіла індивідуума.
12. Спосіб за п. 1, у якому сполуку вводять у дозі, що становить приблизно від 0,1 до 10 мікрограмів на кілограм ваги тіла індивідуума.
13. Спосіб за п. 12, у якому сполука являє собою SCV-07.
14. Спосіб за п. 4, у якому сполука являє собою SCV-07.
15. Спосіб за п. 5, у якому сполука являє собою SCV-07.
16. Спосіб за п. 6, у якому сполука являє собою SCV-07.
17. Спосіб за п. 7, у якому сполука являє собою SCV-07.
18. Спосіб за п. 8, у якому сполука являє собою SCV-07.
19. Спосіб за п. 1, де зазначену сполуку формули А вводять впродовж періоду лікування, що становить тиждень або більше, й ефективну кількість у системі кровообігу індивідуума підтримують по суті впродовж всього періоду лікування.

Даний винахід стосується лікування або запобігання вірусним інфекціям дихальних шляхів (респіраторних інфекцій).

Респіраторні вірусні інфекції щороку уражають сотні мільйонів людей. Відомо три типи вірусів грипу, А, В і С. Всі три типи є інфективними для людини. Однак тип А є найбільш важливим і має

здатність заражати багато інших видів тварин. Щорічно в результаті антигенного дрейфу (феномен антигенної мінливості) з'являються нові варіанти класичного вірусу грипу типу А і впродовж року в середньому відбувається зараження приблизно 500 мільйонів людей. Періодично з'являються нові відмінні за антигенними властивостями вірусів й ці,

(13) C2
(11) 92586
(19) UA

отримані в результаті антигенної мінливості варіанти мають потенційну можливість викликати пандемії, які швидко уражають мільйони людей.

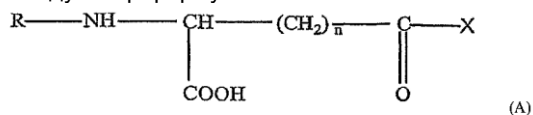
Міжвидова трансмісія має вирішальне значення для еволюції й патогенезу отриманих у результаті антигенної мінливості вірусів, здатних викликати пандемії.

Коронавіруси є інфективними для людини, інших видів ссавців і птахів. Важкий гострий респіраторний синдром (SARS) викликається коронавірусом, який спочатку виник у Китаї й поширився в 30 інших країн. SARS являє собою незвичайний коронавірус, оскільки він містить нейрамідазу, яка звичайно присутня у вірусах грипу. Вірус SARS може бути віднесений до гібриду ортоміксовірусу-коронавірусу. Вірус SARS і вірус, який викликав в 1918 р. пандемію грипу, мають загальну генетичну послідовність «MNPQNKIITIGS», що свідчить про їх можливе споріднення. Відомо, що й коронавіруси, і ортоміксовіруси заражають тварин, птахів і людину. Обидва віруси мають здатність передаватися від тварин людині.

Таким чином, у даній галузі зберігається необхідність у розробці способів лікування або запобігання респіраторним вірусним інфекціям.

Короткий виклад суті винаходу

У даному винаході запропонований спосіб лікування або запобігання респіраторній вірусній інфекції в індивідуума, який полягає в тому, що індивідуумові вводять в ефективній кількості імуномодулятор формули A:



У формулі A n означає 1 або 2, R означає водень, ацил, алкіл або пептидний фрагмент і X означає ароматичну або гетероциклічну амінокислоту або її похідне. Переважно X означає L-триптофан або D-триптофан.

Короткий опис креслення

На кресленні показані дані про виживання заражених грипом мишей і порівняльні дані про виживання оброблених SCV-07 і контрольних тварин.

Докладний опис винаходу

Одним з варіантів здійснення даного винаходу є спосіб лікування або запобігання респіраторним вірусним інфекціям шляхом введення індивідуумові імуномодулятора.

Наступним варіантом здійснення даного винаходу є спосіб лікування або запобігання викликаній коронавірусами інфекції шляхом введення індивідуумові імуномодулятора.

Ще одним варіантом здійснення даного винаходу є спосіб лікування або запобігання важкому гострому респіраторному синдрому (SARS) в індивідуума шляхом введення імуномодулятора.

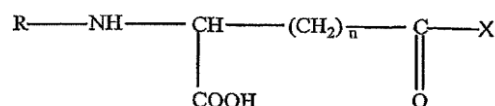
Наступним варіантом здійснення даного винаходу є спосіб лікування або запобігання грипу в індивідуума шляхом введення імуномодулятора.

І ще одним варіантом здійснення даного винаходу є спосіб лікування або запобігання інфекції, викликаній гібридом ортоміксовірусу-коронавірусу, шляхом введення індивідуумові імуномодулятора.

Переважно індивідуум являє собою ссавця, найбільш переважним індивідуумом є хвора людина.

Профілактичній обробці піддають індивідуумів, які мають високі ризики контакту з можливими носіями захворювання, або безсимптомних носіїв.

Імуномодулятор, запропонований у даному винаході, являє собою імуномодулятор формули A:



У формулі A n означає 1 або 2, R означає водень, ацил, алкіл або пептидний фрагмент і X означає ароматичну або гетероциклічну амінокислоту або її похідне. Переважно X означає L-триптофан або D-триптофан.

Прийнятними похідними ароматичних або гетероциклічних амінокислот «X» є: аміді, аміді, заміщені або ди(C₁-C₆)алкілом, ариламіді й складні (C₁-C₆)алкілові або арилові ефіри. Прийнятними ацильними або алкільними групами «R» є: розгалужені або нерозгалужені алкільні групи, які несуть від 1 до приблизно 6 атомів вуглецю, ацильні групи, які несуть від 1 до приблизно 10 атомів вуглецю, і блокуючі групи, такі як карбобензилоксигрупа й трет-бутоксикарбоніл. Переважно стереоконфігурація атома вуглецю CH-групи, вказаної у формулі A, при n рівному 2, відрізняється від стереоконфігурації X.

У переважних варіантах здійснення даного винаходу застосовують такі сполуки, як γ-D-глутаміл-L-триптофан, γ-L-глутаміл-L-триптофан, γ-L-глутаміл-N_m-форміл-L-триптофан, N-метил-γ-L-глутаміл-L-триптофан, N-ацетил-γ-L-глутаміл-L-триптофан, γ-L-глутаміл-D-триптофан, γ-L-аспартил-L-триптофан і γ-D-аспартил-L-триптофан. У найбільш переважних варіантах здійснення даного винаходу застосовують γ-D-глутаміл-D-триптофан, який іноді позначають як SCV-07.

Ці сполуки, методи одержання вказаних сполук, фармацевтично прийнятні солі вказаних сполук і їх фармацевтичних композицій описані в US 5916878, що включений у даний опис як посилання.

Сполуки формули A можна вводити в дозах, які становлять приблизно від 0,001 до 10 мг. Дози можна вводити один або декілька разів на тиждень, переважно щодня, при цьому дози вводять один або декілька разів на день. Дози можна вводити за допомогою внутрішньом'язової ін'єкції, хоча можна застосовувати інші форми ін'єкції й інфузії, а також інші форми введення, такі як пероральна або назальна інгаляція або прийом через рот.

У переважних варіантах здійснення даного винаходу сполуки формули A вводять у дозі, що становить приблизно від 0,01 до 10 мг, більш перева-

жно в дозі, що становить приблизно від 0,1 до 1 мг.

Дози можна виражати також у мікрограмах на кілограм ваги тіла індивідуума, при цьому дози становлять приблизно від 0,01 до 100 мкг/кг, більш переважно приблизно від 0,1 до 10 мкг/кг і найбільш переважно приблизно 1 мкг/кг.

Під обсяг винаходу підпадають біологічно активні аналоги, які несуть фрагменти, модифіковані в результаті заміщень, делецій, подовжень, замінів або інших модифікацій, біологічна активність яких практично аналогічна до активності SCV-07, наприклад, пептид, який є похідним SCV-07, який має виражену гомологію з SCV-07, що має практично такі ж функції, що й SCV-07, і практично таку ж активність, що й SCV-07.

Введення можна здійснювати за допомогою будь-якого прийнятного методу, у тому числі перорально, шляхом ін'єкції, періодичної інфузії, безперервної інфузії й т.п.

Відповідно до одного з варіантів здійснення даного винаходу сполуки формули А можна вводити пацієнтові, який має потребу в стимуляції імунної системи, таким чином, щоб практично постійно підтримувати ефективну відносно імунної стимуляції кількість сполуки формули А в кровотоці пацієнта протягом періоду лікування або профілактики. Відповідно до варіантів здійснення даного винаходу маєтєся на увазі практично постійна підтримка ефективної відносно імунної стимуляції кількості сполуки формули А в кровотоці пацієнта протягом періоду лікування, що становить 6, 10, 12 год або більше, хоча згідно із даним винаходом можна розглядати й більш тривалі періоди лікування. В інших варіантах здійснення винаходу періоди лікування становлять принаймні приблизно день і навіть декілька днів, наприклад, тиждень або більше. Однак маєтєся на увазі, що лікування, як воно визначено вище, при якому практично постійно підтримується ефективна відносно імунної стимуляції кількість сполуки А в кровотоці пацієнта, може перериватися однаковими або різними за тривалістю періодами, під час яких лікування не здійснюють.

Відповідно до одного з варіантів здійснення винаходу сполуки формули А вводять пацієнтові шляхом безперервної інфузії, наприклад, внутрішньовенної інфузії, протягом періоду лікування так, щоб практично постійно підтримувати ефективну відносно імунної стимуляції кількість сполуки формули А в кровотоці пацієнта. Інфузію можна здійснювати за допомогою будь-яких прийнятних пристроїв, таких як мініпомпа.

В іншому варіанті можна підтримувати таку схему ін'єкції сполуки формули А, щоб практично постійно підтримувати ефективну відносно імунної стимуляції кількість сполуки формули А в кровотоці пацієнта. Прийнятні схеми ін'єкції можуть передбачати ін'єкцію кожні 1, 2, 4, 6 год і т.д., так, щоб практично постійно підтримувати ефективну відносно імунної стимуляції кількість пептида-імуномодулятора в кровотоці пацієнта протягом періоду лікування.

Відповідно до одного з варіантів здійснення винаходу безперервну інфузію сполуки формули А

здійснюють протягом періоду лікування, що становить принаймні приблизно 1 год, хоча під обсяг винаходу підпадає істотно більш тривале здійснення інфузії сполуки формули А. Більш переважно безперервну інфузію здійснюють протягом більш тривалих періодів, що становлять принаймні приблизно 6, 8, 10, 12 год або більше. В інших варіантах здійснення винаходу безперервну інфузію здійснюють протягом принаймні приблизно одного дня і навіть протягом декількох днів, наприклад, протягом одного тижня або більше.

У деяких варіантах здійснення винаходу сполуки формули А знаходиться у фармацевтично прийнятному рідкому носії, такому як вода для ін'єкції, розчин солей у фізіологічних концентраціях або т.п.

Даний винахід стосується також введення фізіологічно активного кон'югата, який містить сполуку формули А, кон'юговану із продуктом, який підвищує час напівжиття сполуки формули А в сироватці пацієнта, коли кон'югат вводять пацієнтові. Продукт може являти собою практично неантигенний полімер. Прийнятні полімери повинні мати молекулярну масу приблизно 200-300000, переважно приблизно 1000-100000, більш переважно приблизно 5000-35000 і найбільш переважно приблизно 10000-30000, при цьому молекулярна маса приблизно 20000 є найбільш переважною.

Полімери, які входять до складу в кон'югата, переважно є також водорозчинними при кімнатній температурі. Такі полімери являють собою (але, не обмежуючись ними) гомополімери поліалкіленоксиду, такі як поліетиленгліколь (ПЕГ) або поліпропіленгліколь, поліоксіетильовані поліолі, їх співполімери й блок-співполімери, за умови, що в блок-співполімерів зберігається розчинність у воді. До практично неантигенних полімерів належать моноактивовані поліалкіленоксиди (ПАО) з кінцевим алкілом, такі як поліетиленгліколі з кінцевим монометилом (мПЕГ). Крім мПЕГ можна застосовувати також полімери з кінцевим C₁-C₄алкілом.

Як альтернатива полімерів на основі ПАО, можна застосовувати продукти, які не мають антигенної ефективності, такі як декстран, полівінілпіролідони, поліакриламіді, полівінілові спирти, полімери на основі вуглеводів і т.п. Звичайним фахівцям у даній галузі повинно бути очевидно, що вищевикладений перелік наведений тільки з метою ілюстрації що можна застосовувати будь-які полімери, які мають вказані якості. У контексті даного опису поняття «не має антигенної ефективності» стосується всіх продуктів, відомих у даній галузі, які є нетоксичними і які не викликають виражену імуногенну відповідь у ссавців.

Полімер може являти собою прямо ланцюговий або розгалужений полімер. Особливо переважним полімером є поліетиленгліколь (ПЕГ).

Полімер можна кон'югувати із сполукою формули А будь-яким придатним методом. Приклади методів кон'югації полімерів з пептидами наведені в US 4179337, 4766106, 4917888, 5122614 і 6177074, а також в опублікованій міжнародній заявці на патент PCT WO 95/13090, всі документи включені в даний опис як посилання. Полімер(и) можна кон'югувати в одному або декількох місцях.

Ефективну кількість сполуки формули А можна визначати за допомогою загальноприйнятих експериментів з титрування доз.

Вказані вище дози стосуються тільки сполуки формули А, присутньої в композиції, і не відбивають дози кон'югованого з ним полімеру.

Кон'югація полімеру із сполукою формули А, запропонованою в даному винаході, помітно підвищує час напівжиття пептиду в плазмі.

Сполуки формули А можна вводити з інтерфероном, таким як інтерферон альфа, при цьому переважним є інтерферон альфа-2b. Прийнятні дози інтерферону альфа-2b можуть становити приблизно 1-3 МЕ.

Сполуки формули А можна вводити також у сполученні з іншими імунними стимуляторами або антивірусними агентами.

Винахід додатково проілюстрований за допомогою наведеного нижче прикладу, який не обмежує його обсягу. Приклад 1

Застосовували токсигенний тип вірусу грипу А, такий як A/Achi/1/68 (H3N2). Для виробництва вірусу здійснювали два послідовні пасажі в 10-11-денні курячі ембріони. Вміст ампули з ліофілізованим вірусом грипу з колекції Pasteur's Research Institute (Санкт-Петербург, Росія) розбавляли в 0,5 мл соляного розчину з одержанням рідин, що містять вірус, з розведенням 10^{-3} і 10^{-5} . Ці рідини також застосовували для інокуляції 10 ембріонів. Інокульовані ембріони інкубували протягом 48 год при 37°C, а потім для охолодження витримували при 14°C впродовж 18-20 год. Для титрування рідини, що містить вірус, яка отримана з ембріона, використовували співвідношення від 1:2 до 1:4096,

визначаючи гемолізуючу активність в 1%-ній суспензії курячих еритроцитів. Для наступного пасажу відбирали зразки з титром принаймні 1:256 і одержували розведення 10^{-3} і 10^{-5} . Кожну із цих рідин застосовували для інокуляції інших 10 ембріонів. Останню процедуру повторювали ще раз. У попередньому експерименті для визначення значення ЛД₁₀₀ застосовували рідину, яка містить вірус, з титрами гемаглютиніну від 1:512 до 1:1024.

Самок мишей лінії CFW (не уражені раком білими миші), які не містять специфічних патогенів, отриманих у результаті аутбридингу одержували з господарства з розведення тварин м. Пушкіно (Пушкіно, Московська область, Росія) і витримували в кімнаті з кондиціонером в умовах вільних від патогенів при температурі 21±2°C і вологості 55±10%. Їм давали стандартний лабораторний корм, і вони вільний доступ до водопровідної води.

Мишей розділяли на 4 групи по 9-10 тварин у кожній й вводили 0,1, 1,0 або 10 мг/кг SCV-07 в 0,2 мл ЗФР перорально протягом 5 днів. Контрольну групу обробляли 0,2 мл ЗФР. Через 3 дні після останнього введення всіх мишей інтраназально обробляли кількістю рідини, яка містить вірус, що відповідає ЛД₁₀₀ (по 50 мл у кожну ніздрю), під нетривалою анестезією простим ефіром і далі обстежували щодня протягом 14 днів.

Порівняння кривих виживаності контрольної й оброблених SCV-07 груп здійснювали за допомогою логарифмічного рангового критерію.

Результати

Первинні необроблені дані для всіх груп мишей представлені в таблиці 1, а середні значення виживаності представлені в таблиці 2.

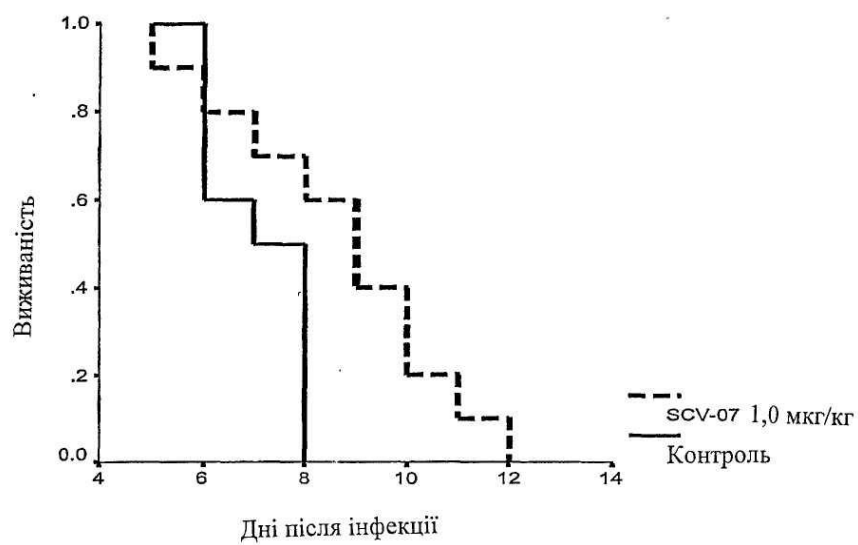
Таблиця 1

№	SCV-07 (мг/кг)	Кількість тварин, які загинули в вказаний день після зараження														Кількість мишей, які вижили
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
1	0 (ЗФР)	-	-	-	-	-	4	1	5	-	-	-	-	-	-	0
2	0,1	-	-	-	-	-	4	2	1	2	-	-	-	-	-	0
3	1,0	-	-	-	-	1	1	1	1	2	2	1	1	-	-	0
4	10,0	-	-	-	-	-	6	2	1	-	-	-	-	-	-	0

Таблиця 2

№	SCV-07 (мг/кг)	Середня виживаність (дні)
1	0 (ЗФР)	7,0
2	0,1	7,0
3	1,0	9,0*
4	10,0	6,0

*p= 0,025 у порівнянні з обробленою ЗФР групою при оцінці за допомогою логарифмічного рангового критерію



Фігура 1