

República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0621552-1 A2**

(22) Data de Depósito: 12/04/2006
(43) Data da Publicação: 13/12/2011
(RPI 2136)



* B R P I 0 6 2 1 5 5 2 A 2 *

(51) *Int.Cl.:*
A61K 31/196
A61P 31/16

(54) **Título:** TRATAMENTOS ANTIVIRAIS
INTRAMUSCULARES

(73) **Titular(es):** Biocryst Pharmaceuticals, INC.

(72) **Inventor(es):** John Michael Kilpatrick, Pooran Chand, Shane
Arnold, Shanta Bantia, Yarlagadda S. Babu

(74) **Procurador(es):** Dannemann, Siemsen, Bigler &
Ipanema Moreira

(86) **Pedido Internacional:** PCT US2006013535 de
12/04/2006

(87) **Publicação Internacional:** WO 2007/117241de
18/10/2007

(57) **Resumo:** TRATAMENTOS ANTIVIRAIS
INTRAMUSCULARES. A presente invenção refere-se a formas de
dosagem unitárias, kits e métodos úteis para tratamento de infecções
virais.

CÓPIA

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**TRATAMEN-
TOS ANTIVIRAIS INTRAMUSCULARES**".

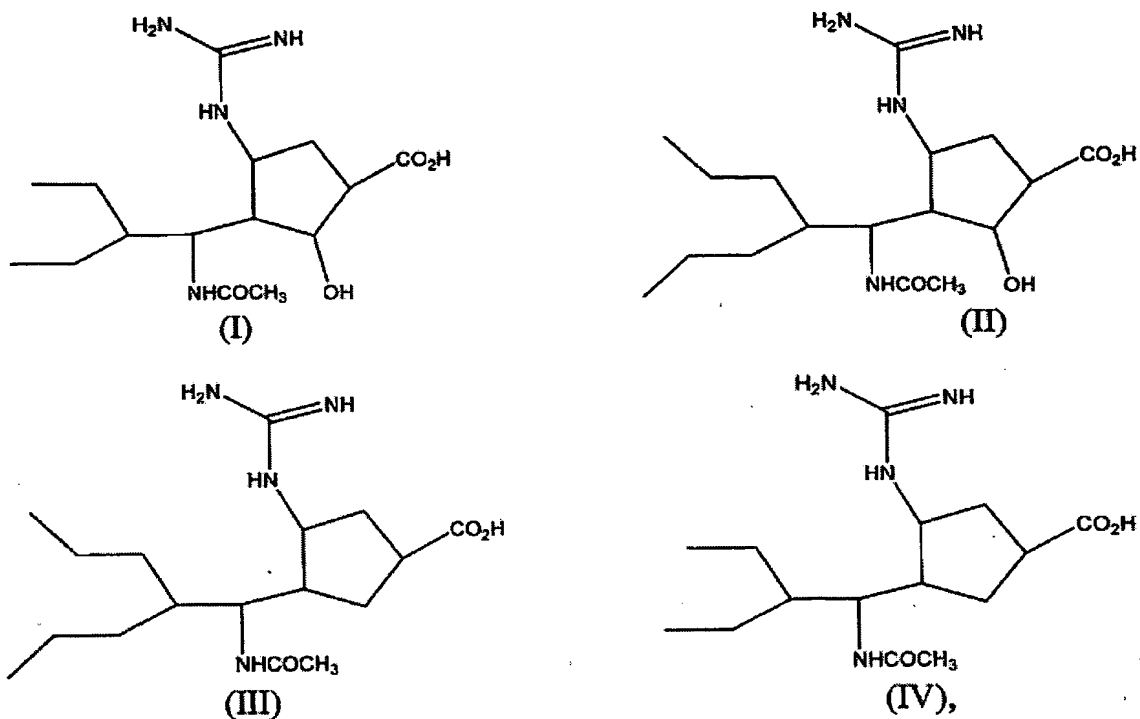
Antecedentes

5 O inibidor de neuraminidase do vírus influenza peramivir tem
atividade notável contra o vírus influenza *in vitro* e em camundongos experi-
mentalmente infectados (Govorkova e outros, *Antimicrobial Agents and
Chemotherapy*, 45(10), 2723-2732 (2001); e Smee e outros, *Antimicrobial
Agents and Chemotherapy*, 45(3), 743-748 (2001)). Infelizmente, testes clíni-
cos usando peramivir mostraram um efeito inibidor indesejavelmente baixo
10 sobre influenza em seres humanos seguindo administração oral durante um
período de dias. Atualmente permanece a necessidade de métodos e formu-
lações que sejam úteis para tratamento de infecções virais tal como infec-
ções por influenza.

Sumário de Certas Modalidades da Invenção

15 Foi inesperadamente constatado que uma única administração
intramuscular de peramivir a um camundongo é eficaz para tratar influenza.
Essas constatações são inesperadas não apenas por causa da alta eficácia
de uma única administração do composto, mas também por causa da dose
baixa do composto que foi verificada prover tratamento eficaz. A habilidade
20 em obter efeitos terapêuticamente úteis com uma única administração é im-
portante, *inter alia*, porque ela minimiza questões de obediência do paciente
que resultam da necessidade de administrações múltiplas. Adicionalmente, a
administração de uma dose baixa é importante porque ela minimiza custo e
os potenciais para efeitos colaterais.

25 Deste modo, em uma modalidade a invenção provê um método
para tratamento de uma infecção viral (por exemplo, uma infecção por influ-
enza) em um ser humano compreendendo administrar uma quantidade anti-
viral eficaz de um composto de fórmula I, II, III ou IV:



ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo, ao ser humano através de uma via intramuscular.

A invenção também provê um método para inibição de uma neuraminidase em um ser humano compreendendo administrar uma quantidade inibidora eficaz de um composto de fórmula I, II, III ou IV, ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo, ao ser humano através de uma via intramuscular.

A invenção também provê uma forma de dosagem unitária que é adequada para administração intramuscular a um ser humano compreendendo até cerca de 500 mg (por exemplo, cerca de 150 mg) de um composto de fórmula I, II, III ou IV ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo.

A invenção também provê um kit compreendendo materiais de embalagem, um composto de fórmula I, II, III ou IV, ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo, e instruções para administração do composto a um ser humano através de uma via intramuscular.

A invenção também provê o uso de um composto de fórmula I, II, III ou IV, ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo, na fabricação

de um medicamento para injeção intramuscular para aumento da expectativa de vida e/ou redução da mortalidade em um grupo de mamíferos, por exemplo, seres humanos, exposto a uma fonte de um vírus influenza, através de injeção intramuscular de uma dose, por exemplo, uma dose antiviral eficaz, do medicamento em cada membro do grupo apresentando sintomas clínicos de infecção.

A invenção também provê o uso de um composto de fórmula I, II, III ou IV, ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo, na fabricação de um medicamento para injeção intramuscular para aumento da expectativa de vida ou redução da mortalidade em um grupo de mamíferos, por exemplo, seres humanos, exposto a uma fonte de um vírus influenza, através de injeção intramuscular de uma dose do medicamento em cada membro do grupo.

Descrição Detalhada

O inibidor de neuraminidase do vírus influenza peramivir foi previamente mostrado ter atividade notável contra vírus influenza *in vitro* e em camundongos experimentalmente infectados (Govorkova e outros (2001); e Smeets e outros, (2001)). Infelizmente, testes clínicos usando este fármaco mostraram um efeito inibidor inadequado sobre influenza em seres humanos.

Foi constatado que uma injeção intramuscular única de peramivir reduz significativamente a perda de peso e mortalidade em camundongos infectados com influenza A/H1N1. Uma injeção intramuscular única de peramivir pode então ser usada para tratar infecções por influenza e prover uma opção alternativa para oseltamivir durante um surto de influenza.

Peramivir foi testado como uma injeção intramuscular única no modelo de influenza de camundongo e foi verificado ser ativo quando administrado intramuscularmente. Em três estudos diferentes de um modelo de profilaxia usando duas linhagens diferentes (H1N1 e H3N2) de vírus influenza A, eficácia de uma injeção intramuscular única de peramivir foi comparada com tratamento oral (q.d. x5 dias) ou de oseltamivir ou peramivir. Embora 5 dias (b.i.d.) de oseltamivir seja normalmente usado na clínica para trata-

mento de influenza, uma única dosagem diária por 5 dias foi também mostrada ser eficaz. Em todos os três estudos, a eficácia de uma injeção intramuscular única de peramivir em doses de 10 ou 20 mg/kg foi comparável ao tratamento oral (q.d. x5 dias) de oseltamivir ou peramivir na mesma dose em termos de sobrevivência, dias médios para morte e perda de peso. Em doses de 2 mg/kg, como uma injeção intramuscular única, peramivir demonstrou eficácia comparável em termos de sobrevivência. Não obstante, a perda de peso máxima foi maior no grupo tratado com peramivir intramuscular única versus o grupo tratado com oseltamivir oral (q.d. x5 dias). A perda de peso máxima para os grupos de tratamento foi observada em torno de 8-10 dias. Deve ser notado que embora a dose menor de peramivir (1 mg/kg) não tenha sido eficaz em termos de sobrevivência, houve um aumento significativo nos dias médios para morte. Peramivir foi altamente eficaz em camundongos com uma provocação viral que causou 70% de letalidade quando tratamento foi iniciado no máximo 48 horas pós-infecção.

Injeções intramusculares únicas ou de peramivir ou oseltamivir foram também comparadas com o modelo de influenza de camundongo H1N1. Os dados de sobrevivência indicam que uma injeção intramuscular única de peramivir é eficaz e provê proteção completa contra letalidade. Por outro lado, uma injeção intramuscular única de oseltamivir não proveu nenhuma proteção significativa contra letalidade. Os dados de perda de peso estão de acordo com os dados de sobrevivência e indicam que uma injeção intramuscular única de peramivir é eficaz na prevenção de perda de peso em camundongos infectados, diferente do grupo de oseltamivir. Esses estudos indicam que peramivir é eficaz quando dado como uma injeção intramuscular única, enquanto oseltamivir não é eficaz pela mesma via de administração no modelo de influenza de camundongo. Uma injeção intramuscular única de carboxilato de oseltamivir em camundongos mostrou um efeito similar à injeção intramuscular única de oseltamivir.

As IC₅₀s de peramivir e carboxilato de oseltamivir são subnanomolares contra H1N1 a 0,11 e 0,69 nM (Bantia e outros, *Antimicrob. Agents Chemother.* 45, 1162-1167 (2001)) e H3N2 a 0,59 e 0,55 nM, respectiva-

mente. Apesar de potência similar contra enzimas neuraminidase, uma injeção intramuscular única de oseltamivir (carboxilato) é ineficaz. No entanto, peramivir como uma injeção intramuscular única é superior a oseltamivir (carboxilato) dado como injeções intramusculares únicas. Embora a dissociação lenta de peramivir tenha sido demonstrada com a neuraminidase N9, uma pessoa poderia esperar peramivir se ligar firmemente a ambas neuraminidases N1 e N2 uma vez que resíduos de aminoácido no sítio ativo são altamente conservados dentre subtipos de neuraminidase diferentes.

Em suma, peramivir é um inibidor potente de atividade de neuraminidase. Administrações profilática e intramuscular única retardada foram eficazes na prevenção de letalidade e perda de peso no modelo de influenza de camundongo. Em vista dos dados *in vitro* e *in vivo*, peramivir é eficaz como uma injeção intramuscular única e pode ser usado no tratamento de infecções por vírus influenza humanas.

Deste modo, em uma modalidade a invenção provê um método para tratamento de uma infecção viral em um ser humano compreendendo administrar uma quantidade eficaz de um composto de fórmula I, II, III ou IV, ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo, ao ser humano através de administração intramuscular. Tipicamente, a quantidade eficaz é administrada em uma administração intramuscular única. Os métodos da invenção provêm obediência do paciente alta uma vez que eles envolvem uma dose baixa do agente eficaz.

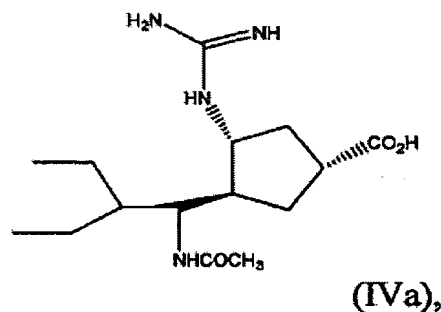
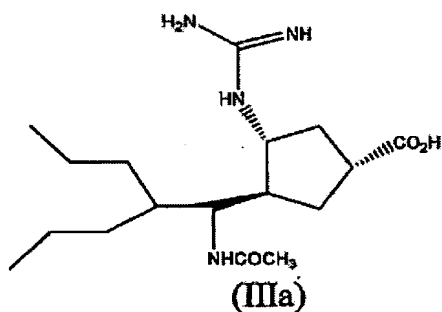
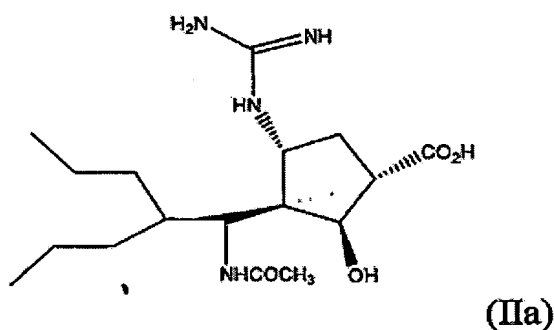
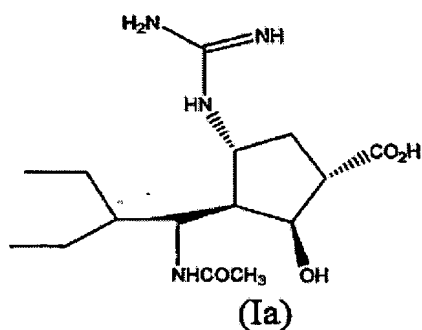
Em uma modalidade da invenção, a quantidade inibidora eficaz do composto de fórmula I, II, III ou IV é até cerca de 500 mg (por exemplo, de a partir de cerca de 10 mg a cerca de 500 mg).

Em uma modalidade da invenção, a quantidade inibidora eficaz do composto de fórmula I, II, III ou IV é até cerca de 150 mg.

Em uma modalidade da invenção, a quantidade inibidora eficaz do composto de fórmula I, II, III ou VI é cerca de 150 mg.

De acordo com o método da invenção, um composto de fórmula I, II, III ou IV é administrado a um ser humano intramuscularmente. Em uma modalidade da invenção, o composto de fórmula I, II, III ou IV é administrado

uma vez a um ser humano intramuscularmente. Em outra modalidade da invenção, um inibidor de neuraminidase é também administrado ao ser humano oralmente. Em uma modalidade da invenção, o inibidor de neuraminidase que é administrado oralmente é carboxilato de oseltamivir. Em uma modalidade da invenção, o inibidor de neuraminidase que é administrado oralmente é um composto de fórmula I, II, III ou IV ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo. Em uma modalidade da invenção, o inibidor de neuraminidase que é administrado oralmente é um composto de fórmula Ia, IIa, IIIa ou IVa:



ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo. Em uma modalidade da invenção, o inibidor de neuraminidase que é administrado oralmente é um composto de fórmula Ia ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

De acordo com os métodos da invenção, o composto de fórmula I, II, III ou IV, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, pode ser também administrado em combinação com um ou mais agentes terapêuticos adicionais, tal como agentes antivirais (por exemplo, agentes ativos contra influenza) ou antibióticos.

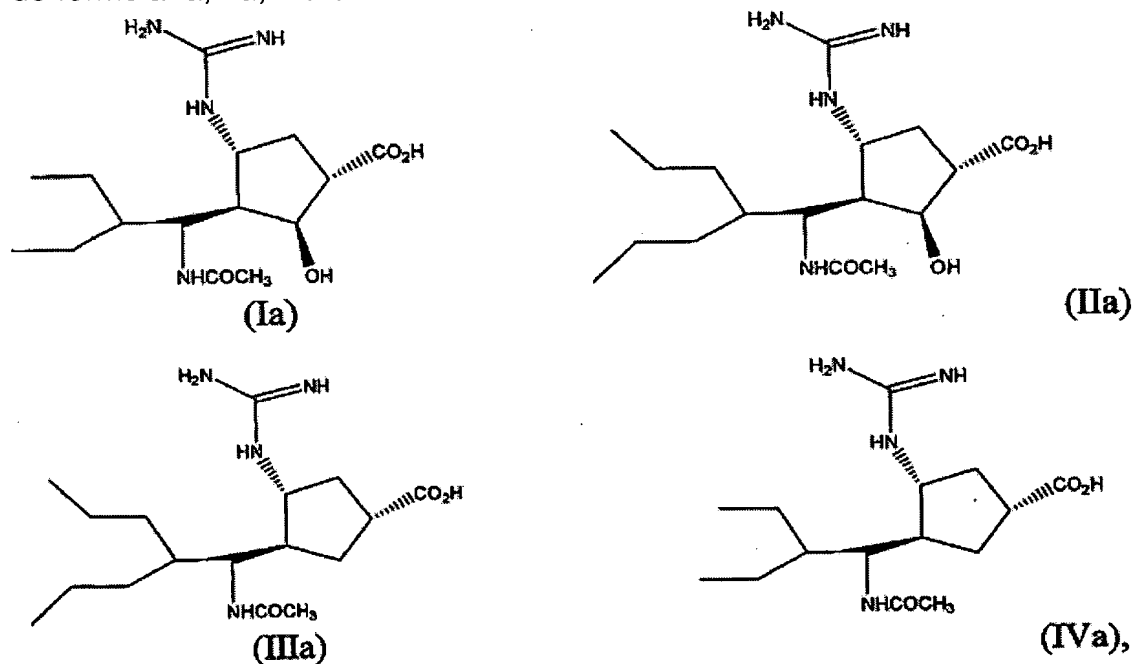
As formulações intramusculares da invenção podem também compreender um ou mais agentes terapêuticos adicionais, tal como agentes

antivirais (por exemplo, agentes ativos contra influenza) e antibióticos.

Os compostos usados na invenção são conhecidos na técnica e podem ser sintetizados pelo profissional da técnica usando métodos disponíveis (vide, por exemplo, Patente U.S. Nº 6.562.861).

- 5 Valores específicos listados aqui para radicais, substituintes e faixas são para ilustração apenas; eles não excluem outros valores definidos ou outros valores dentro de faixas definidas para os radicais e substituintes.

Um composto específico de fórmula I, II, III ou IV é um composto de fórmula Ia, IIa, IIIa ou IVa:



- 10 ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo.

Um composto específico de fórmula I, II, III ou IV é ácido (1S,2S,3S,4R)-3-(1-Acetamido-2-etilbutil)-4-guanidino-2-hidroxiciclopentanocarboxílico; ácido (1S,2S,3R,4R)-3-(1-Acetamido-2-propilpentil)-4-guanidino-2-hidroxiciclopentanocarboxílico; ácido (1R,3R,4R)-3-(1-Acetamido-2-propenilpentil)-4-guanidinociclopentanocarboxílico; ou ácido (1R,3R,4R)-3-(1-Acetamido-2-etilbutil)-4-guanidinociclopentanocarboxílico; ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo.

15

Um composto específico de fórmula I é um composto de fórmula Ia ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo.

- 20 Será compreendido por aqueles versados na técnica que com-

postos tendo um ou mais centros quirais podem existir em e ser isolados em formas opticamente ativas e racêmicas. Alguns compostos podem exibir polimorfismo. Deve ser compreendido que a presente invenção compreende o uso de qualquer forma racêmica, opticamente ativa, polimórfica ou estereoisomérica, ou misturas delas, de um composto de fórmula I, II, III e/ou IV, que possui as propriedades úteis descritas aqui, sendo bem-conhecido na técnica como preparar formas opticamente ativas (por exemplo, através de separação da forma racêmica através de técnicas de recristalização, através de síntese a partir de materiais de partida opticamente ativos, através de síntese quiral ou através de separação cromatográfica usando uma fase estacionária quiral) e como determinar atividade antiviral (por exemplo, antiinfluenza) usando os testes padrão descritos aqui, ou usando outros testes similares que são bem-conhecidos na técnica.

Em casos onde compostos são suficientemente básicos ou ácidos para formarem sais ácidos ou de base não-tóxicos estáveis, administração dos compostos como sais pode ser apropriada. Exemplos de sais farmacologicamente aceitáveis são sais de adição ácidos orgânicos formados com ácidos que formam um ânion fisiologicamente aceitável, por exemplo, tosilato, metanossulfonato, acetato, citrato, malonato, tartarato, succinato, benzoato, ascorbato, α -cetoglutarato e α -glicerofosfato. Sais inorgânicos adequados podem ser também formados, incluindo sais de cloridrato, sulfato, nitrato, fosfato, bicarbonato e carbonato.

Sais farmacologicamente aceitáveis podem ser também obtidos usando procedimentos padrão bem-conhecidos na técnica, por exemplo, reagindo um composto suficientemente básico tal como uma amina com um ácido adequado dando um ânion fisiologicamente aceitável. Sais de metal alcalino (por exemplo, sódio, potássio ou lítio) ou de metal alcalino-terroso (por exemplo, cálcio) de ácidos carboxílicos podem ser também feitos.

Os compostos de fórmulas I, II, III e IV podem ser formulados como composições farmacêuticas e administrados a um hospedeiro mamífero, tal como um paciente humano, através de vias intramusculares. Soluções do composto ativo ou seus sais podem ser preparadas em água, opcional-

mente misturadas com um tensoativo não-tóxico. Dispersões podem ser também preparadas em glicerol, polietileno glicóis líquidos, triacetina e suas misturas e em óleos. Sob condições comuns de armazenamento e uso, essas preparações contêm um conservante para prevenir o crescimento de microorganismos. Em algumas modalidades da invenção, os compostos de fórmula I, II, III e/ou IV são formulados com um tampão, por exemplo, um citrato, por exemplo, citrato de sódio.

As formas de dosagem farmacêuticas adequadas para injeção ou infusão podem incluir soluções ou dispersões aquosas estéreis ou pós estéreis compreendendo o(s) ingrediente ativo(s) que são adaptados para a preparação extemporânea de soluções ou dispersões injetáveis ou infusíveis estéreis, opcionalmente encapsuladas em lipossomas. Em todos os casos, a forma de dosagem final deve ser estéril, fluida e estável sob as condições de fabricação e armazenamento. O carreador ou veículo líquido pode ser um solvente ou meio de dispersão de líquido compreendendo, por exemplo, água, etanol, um polioliol (por exemplo, glicerol, propileno glicol, polietileno glicóis líquidos e similar), óleos vegetais, ésteres de glicerila não-tóxicos e suas misturas adequadas. A fluidez apropriada pode ser mantida, por exemplo, através da formação de lipossomas, através da manutenção do tamanho de partícula requerido no caso de dispersões ou através do uso de tensoativos. A prevenção da ação de microorganismos pode ser realizada por vários agentes antibacterianos e antifúngicos, por exemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, timerosal e similar. Em muitos casos, será preferível incluir agentes isotônicos, por exemplo, açúcares, tampões (por exemplo, citrato de sódio) ou cloreto de sódio. Absorção prolongada das composições injetáveis pode ser realizada pelo uso nas composições de agentes de absorção retardada, por exemplo, monoestearato de alumínio e gelatina.

Soluções injetáveis estéreis podem ser preparadas através da incorporação do(s) composto(s) ativo(s) em um solvente apropriado com os outros ingredientes opcionais, por exemplo, enumerados acima, opcionalmente seguido por esterilização por filtração. No caso de pós estéreis para a preparação de soluções injetáveis estéreis, os métodos de preparação pre-

feridos são as técnicas de secagem a vácuo e secagem por congelamento, que dão um pó do ingrediente ativo mais qualquer ingrediente desejado adicional presente nas soluções filtradas estéreis anteriores.

5 Conforme aqui usado, os termos "tratar", "tratando" e "tratamento" incluem administração de um composto antes do início de sintomas clínicos de um estado/condição de doença de modo a prevenir o desenvolvimento de qualquer sintoma, bem como administração de um composto após o início de um ou mais sintomas clínicos de um estado/condição de doença de modo a reduzir ou eliminar tal sintoma, aspecto ou característica do estado/condição de doença. Tal tratamento não precisa ser absoluto para ser útil. Conforme ilustrado abaixo, os compostos ativos podem ser administrados antes da exposição ao vírus. Os agentes podem ser também administrados subsequente (por exemplo, dentre de 1, 2, 3, 4 ou 5 dias) à exposição ao vírus.

15 Conforme aqui usado, o termo "forma de dosagem unitária" refere-se a uma formulação intramuscular contendo uma quantidade específica de um fármaco (por exemplo, de a partir de cerca de 10 mg a cerca de 500 mg, por exemplo, cerca de 150 mg), o todo da qual pretende ser administrado como uma dose única. Ela é distinguida de um fornecimento de uma quantidade indefinida de um medicamento, por exemplo, uma garrafa de remédio, da qual uma dose tem que ser retirada de acordo com uma medida.

A invenção será agora ilustrada pelo Exemplo não-limitante que segue.

25 Exemplo 1: Tratamento Intramuscular de Influenza com Peramivir

A eficácia de uma injeção intramuscular única de peramivir no modelo de camundongo de influenza foi avaliada. Em suma, peramivir foi verificado ser eficaz quando administrado intramuscularmente em um modelo de infecção por vírus influenza em camundongo. Peramivir inibiu potentemente a enzima neuraminidase N9 de vírus H1N9 *in vitro* com uma concentração inibidora de 50% (IC₅₀) de $1,3 \pm 0,4$ nM. Estudos de dissociação no sítio indicaram que peramivir permanece firmemente ligado à neuraminidase

N9 ($t_{1/2} > 24$ horas), enquanto zenamivir e carboxilato de oseltamivir dissociam rapidamente da enzima ($t_{1/2} = 1,25$ hora). Uma injeção intramuscular única de peramivir (10 mg/kg) reduziu significativamente a perda de peso e mortalidade em camundongos infectados com influenza A/H1N1, enquanto oseltamivir não demonstrou nenhuma eficácia através do mesmo regime de tratamento. Estudos de eficácia adicionais indicaram que uma injeção única de peramivir (2-20 mg/kg) era comparável a um curso oral q.d. x5 de oseltamivir oralmente administrado (2-20 mg/kg/dia) em prevenção de letalidade em modelos de influenza H3N2 e H1N1. Então, uma injeção intramuscular única de peramivir pode ser usada para tratar infecções por influenza e prover uma opção alternativa para oseltamivir durante um surto de influenza.

Resultados

A habilidade do peramivir em inibir a atividade de neuraminidase de N9 do vírus H1N9 foi testada e comparada com zanamivir e carboxilato de oseltamivir. A IC_{50} para peramivir (1,3 +/- 0,4 nM), carboxilato de oseltamivir (2,1 +/- 0,4 nM) e zanamivir (1,6 +/- 0,3 nM) contra enzima N9 não foi significativamente diferente. Os valores de IC_{90} foram: para peramivir 5,0 +/- 1,1 nM; para carboxilato de oseltamivir 10,4 +/- 0,7 nM; e para zanamivir 10,0 +/- 1,2 nM.

No modelo de influenza de camundongo, infecção viral leva à perda de peso do corpo e mortalidade alta, e esta diminuição no peso do corpo se relaciona com título viral pulmonar e score de lesão pulmonar. Deste modo, a eficácia peramivir, oseltamivir e zanamivir oralmente e intramuscular administrados foi avaliada com base na perda de peso, dias médios para morte e taxa de sobrevivência, medida para 16 ou 21 dias pós-infecção para animais infectados, tratados, com relação a animais infectados, não-tratados (controle).

No modelo de profilaxia, uma injeção intramuscular única de peramivir, dada 4 horas antes da provocação viral com vírus H1N1 foi comparada com um tratamento oral de peramivir uma única vez por dia por 5 dias em doses de 1 e 10 mg/kg/dia. Proteção completa contra letalidade foi observada nos camundongos tratados a 10 mg/kg com ambos regimes de tra-

tamento. No entanto na dose de 1 mg/kg/dose, 60% dos camundongos sobreviveram no grupo de tratamento oral versus 40% de sobrevivência no grupo de tratamento intramuscular. Camundongos tratados com uma injeção intramuscular única de peramivir (10 mg/kg) não demonstraram nenhuma perda de peso por volta do dia 5, enquanto camundongos que receberam peramivir oralmente por 5 dias na mesma dose perderam 0,22 g.

Peramivir foi também administrado em 2, 10 e 20 mg/kg como uma injeção intramuscular única 4 horas antes da infecção viral com o vírus H1N1. Proteção completa contra letalidade foi observada em todas as doses. No entanto, nenhum dos cinco camundongos controle tratados com solução salina sobreviveu. Por comparação, proteção completa contra letalidade foi também observada nos camundongos tratados oralmente com oseltamivir em ambos 2 e 10 mg/kg/dia (q.d. x5 dias). Quaisquer sinais de toxicidade relacionada com fármaco foram observados quando peramivir foi administrado intramuscular na dose mais alta (20 mg/kg).

Peramivir e oseltamivir mostraram uma relação dose resposta quando a perda de peso de camundongos infectados com o tempo foi seguida. No dia 8, a perda de peso média máxima nos grupos tratados com peramivir a 2, 10 e 20 mg/kg foi 3,3, 0,98 e 0g, respectivamente. Adicionalmente, oseltamivir proveu um efeito similar com a perda de peso média maior de 1,34 e 0 g acontecendo no dia 8 para os grupos de 2 e 10 mg/kg, respectivamente. Perda de peso do dia 5 mostra uma inclinação similar. Em geral, dose menor resultou em perda de peso maior quando comparado com uma dose maior.

Injeções intramusculares únicas de peramivir e oseltamivir em dose de 10 mg/kg foram avaliadas quando administradas 4 horas antes da inoculação com vírus H1N1. Oseltamivir proveu apenas 30% de proteção, que não é significativamente diferente do grupo controle onde 90% dos camundongos morreram. No grupo tratado com peramivir, proteção completa contra letalidade foi observada. O grupo de peramivir não mostrou qualquer perda de peso substancial (cerca de 1,7% de peso inicial). Por outro lado, o grupo de oseltamivir perdeu peso significante, cerca de 4 g (25% do peso

inicial), e apenas 3 de 10 camundongos sobreviveram. No mesmo modelo, uma comparação de tratamentos orais únicos de uma dose de 10 mg/kg ou de peramivir ou oseltamivir foi avaliada. Peramivir proveu melhor proteção oralmente com uma taxa de sobrevivência de 50%, enquanto apenas 10% de camundongos sobreviveram no grupo de oseltamivir.

Para determinar se efeitos protetores similares são observados usando vírus diferentes, a eficácia de uma injeção intramuscular única de peramivir foi comparada com o tratamento oral de oseltamivir (q.d. x5 dias) em camundongos infectados com vírus H3N2. Neste estudo o fármaco foi administrado 1 hora antes da inoculação viral. O tratamento intramuscular único de peramivir em uma dose de 20 mg/kg proveu proteção quase que completa contra letalidade (9/10 sobreviveram). Oseltamivir também demonstrou efeitos protetores similares (9/10 sobreviveram). A perda de peso média foi quase idêntica em ambos grupos de tratamento pelo fato que os camundongos tratados com oseltamivir perderam 28% de seu peso (cerca de 5,1 g) comparado com 25% (4,5 g) de perda de peso no grupo de peramivir por volta do dia 8. No modelo de tratamento retardado, administração intramuscular de uma dose única de 10 mg/kg de peramivir 24 horas ou 48 horas pós-infecção deu proteção completa contra letalidade, enquanto, no grupo de solução salina, 70% de letalidade foi observada. Não houve nenhuma perda de peso significativa por volta do dia 5 em ambos grupos tratados com peramivir 24 e 48 horas dados ambos oralmente (q.d. x5 dias) e através de injeção intramuscular única, enquanto o grupo tratado com solução salina perdeu 2,1 g.

25 Materiais e Métodos

Os vírus influenza A usados neste estudo foram obtidos da *American Type Culture Collection*, Manassas, VA, USA (A/NWS/33;H1N1) e Dr. Robert Sidwell, Utah State University, Logan, UT, USA (A/Victoria/3/75;H3N2) e foram adaptados a camundongo. Cristais de N9 purificados de vírus de ave A/H1N9 (NWS/G70) foram obtidos do Dr. Graeme Laver, Australian National University, Canberra, Austrália.

Camundongos BALB/c fêmeas livres de patógeno específico

(10-19 g) foram obtidos do Charles River Laboratories (Raleigh, NC, USA). Eles foram postos em quarentena durante 24 horas antes da infecção e mantidos em dieta de roedor da Harlan Teklad e água da torneira.

5 Peramivir, oseltamivir, carboxilato de oseltamivir e zanamivir foram sintetizados pela BioCryst Pharmaceuticals, Inc. (Birmingham, AL, U-
SA). Cada composto foi preparado em cloreto de sódio a 0,9% estéril para experimentos *in vivo*. Uma mistura de 5% de isoflurano/95% de oxigênio foi administrada como anestesia.

10 Um ensaio fluorimétrico padrão foi usado para medir atividade de neuraminidase de vírus influenza (Potier e outros, *Anal. Biochem.*, 94, 287-296 (1979)). O substrato ácido (2'-(4-metilumbeliferil)- α -D-acetilneuramínico, MuNANA) é clivado pela neuraminidase para dar um produto fluorescente que pode ser quantificado. A mistura de ensaio continha inibidor em concentrações variadas e enzima neuraminidase em tampão
15 MES a 32,5 mM (ácido 2-(N-morfolino)-etanossulfônico), cloreto de cálcio a 4 mM em pH 6,5 e incubada por 10-30 minutos. A reação foi iniciada pela adição do substrato. Após incubação por 30-120 minutos fluorescência foi registrada (excitação: 360 nm e emissão: 450 nm) e substratos inexpressivos foram subtraídos das leituras de amostra. A IC₅₀ foi calculada pondo em gráfico
20 inibição percentual de atividade de neuraminidase versus a concentração inibidora. Os resultados são relatados como média dos três experimentos.

Os camundongos foram anestesiados com isoflurano e expostos a 100 μ L de vírus através de instilação intranasal. No modelo de profilaxia, fármaco foi administrado 1 ou 4 horas antes da infecção viral; no modelo de
25 tratamento, fármaco foi dado em momentos indicados após a infecção viral. Cada grupo infectado, tratado com fármaco ou solução salina, continha 5-10 camundongos. Todos os camundongos foram observados diariamente quanto a mudanças em peso e quanto a quaisquer mortes. Parâmetros para avaliação de atividade antiviral incluíam perda de peso, redução em mortalidade
30 e/ou aumento em dias médios para morte determinados através de 16 ou 21 dias.

Os camundongos foram infectados intranasalmente com uma

dose aproximadamente 70-90% letal do vírus influenza A/NWS/33 (H1N1) ou A/Victoria/3/75 (H3N2). Tratamento oral com peramivir ou oseltamivir (preparado em solução salina de grau de injeção) começou 1 ou 4 horas antes da exposição do vírus (modelo de profilaxia) e continuou uma vez por dia por 5 dias a menos que indicado. Um tratamento intramuscular único foi administrado 1 ou 4 horas antes da exposição do vírus ou em momentos indicados (modelo de tratamento). Camundongos controle normais e tratados com solução salina foram incluídos no mesmo programa de tratamento. Os parâmetros estudados foram redução em mortalidade e/ou aumento em dias médios para morte.

Os dados foram analisados através de Sigma Plot (Windows Version 4.01, SPSS, Chicago, IL, USA) e Sigma Stat (Windows Version 2.0, Jandel Corporation, San Rafael, CA, USA). O teste t foi usado para avaliar diferenças em dias médios para morte. Análise de variância (ANOVA) foi realizada usando o teste Holm-Sidak para comparações múltiplas em pares para avaliar diferenças em perda de peso. Análises de sobrevivência Kaplan-Meier (teste log rank ou Gehan-Breslow) foram aplicadas a diferenças de número de sobrevivência.

Essas constatações, incluindo métodos, resultados e discussão, são providas em Bantia e outros, *Antiviral Research*, 69, 39-45 (2006).

Todas as publicações, patentes e pedidos de patente mencionados aqui são incorporados aqui a título de referência. Embora no relatório acima a presente invenção tenha sido descrita com relação a certas modalidades dela, e muitos detalhes foram mostrados para propósitos de ilustração, será aparente àqueles versados na técnica que a invenção é suscetível a modalidades adicionais e que certos dos detalhes descritos aqui podem ser variados consideravelmente sem se afastar dos princípios básicos da invenção.

O uso dos termos "um" e "uma" e "o/a" e referentes similares no contexto de descrição da invenção deve ser considerado para compreender ambos o singular e o plural, a menos que de outro modo aqui indicado ou claramente contradito pelo contexto. Os termos "compreendendo", "tendo",

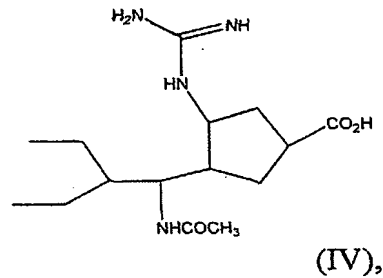
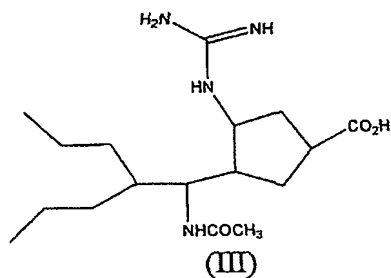
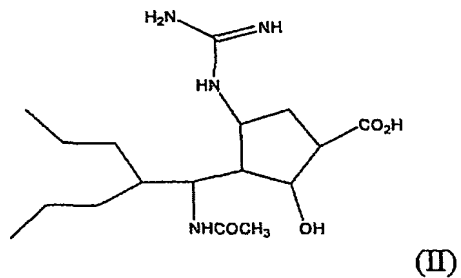
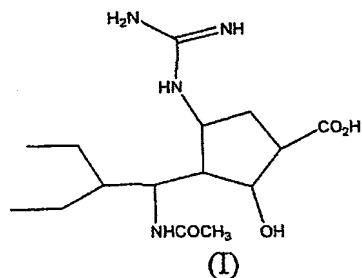
"incluindo" e "contendo" devem ser considerados como termos abertos (isto é, significando "incluindo, mas não limitado a") a menos que de outro modo indicado. Menção de faixas de valores aqui pretende apenas servir como um método estenográfico de referência individualmente a cada valor separado

5 estando dentro da faixa, a menos que de outro modo aqui indicado, e cada valor separado é incorporado ao relatório como se eles fossem aqui individualmente mencionados. Todos os métodos descritos aqui podem ser realizados em qualquer ordem adequada a menos que de outro modo indicado aqui ou de outro modo claramente contradito pelo contexto. O uso de qual-

10 quer um e todos os exemplos, ou linguagem exemplar (por exemplo, "tal como"), providos aqui pretende apenas melhor iluminar a invenção e não impor uma limitação ao escopo da invenção a menos que de outro modo reivindicado.

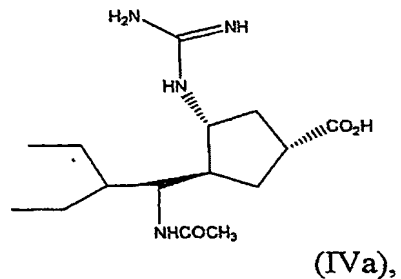
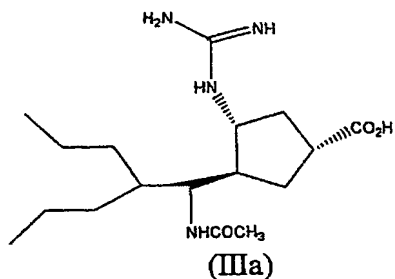
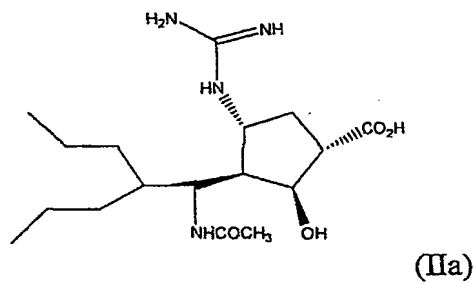
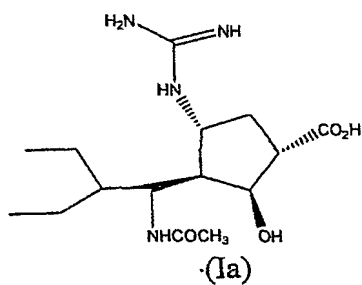
REIVINDICAÇÕES

1. Método para tratamento de uma infecção viral em um ser humano compreendendo administrar uma quantidade antiviral eficaz de um composto de fórmula I, II, III ou IV:



5 ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo ao ser humano através de uma via intramuscular.

2. Método de acordo com a reivindicação 1, em que o composto de fórmula I, II, III ou IV é um composto de fórmula Ia, IIa, IIIa ou IVa:



ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo.

3. Método de acordo com a reivindicação 1 ou 2, em que a infecção viral é uma infecção por influenza.

5 4. Método de acordo com a reivindicação 3, em que a infecção viral é uma infecção por influenza tipo A ou tipo B.

5. Método de acordo com a reivindicação 3, em que o influenza é um influenza H3N2, H1N1, H5N1, de ave ou sazonal.

6. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-5, em que a quantidade antiviral eficaz é até cerca de 500 mg.

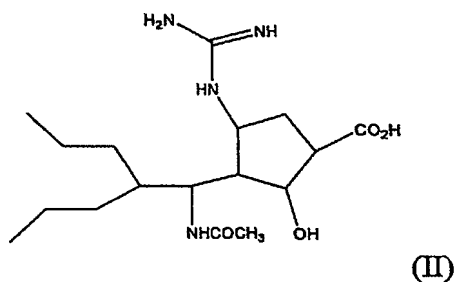
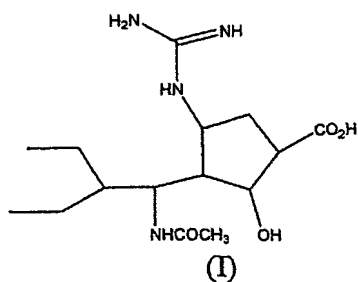
10 7. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-5, em que a quantidade antiviral eficaz é até cerca de 150 mg.

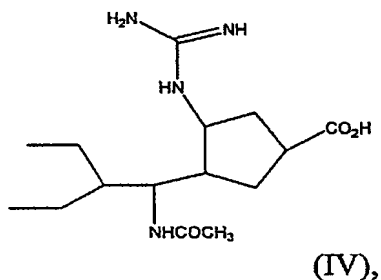
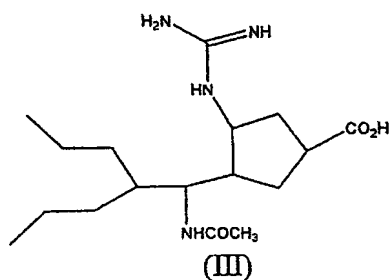
8. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-5, em que a quantidade antiviral eficaz é cerca de 150 mg.

15 9. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-8, em que a dose eficaz integral é administrada em uma administração intramuscular.

10. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 2-9, em que um composto de fórmula Ia, ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo, é administrado.

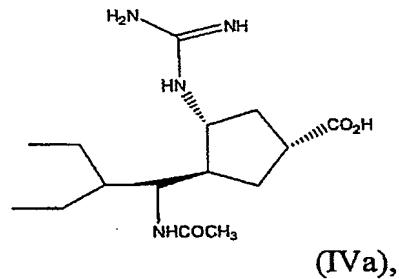
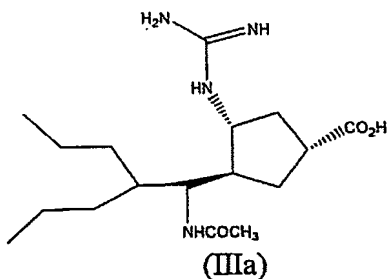
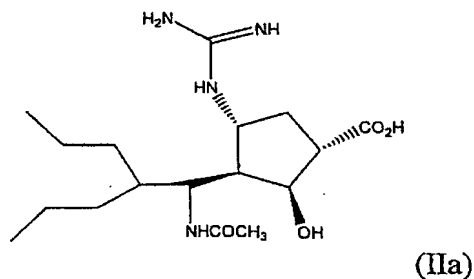
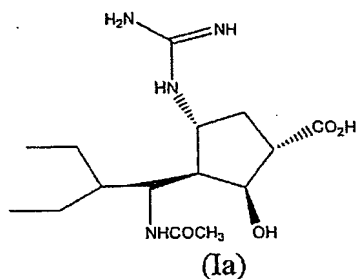
20 11. Método para inibição de uma neuraminidase em um ser humano compreendendo administrar uma quantidade inibidora eficaz de um composto de fórmula I, II, III ou IV:





ou um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo a um ser humano através de uma via intramuscular.

12. Método de acordo com a reivindicação 11, em que o composto de fórmula I, II, III ou IV é um composto de fórmula Ia, IIa, IIIa ou IVa:



5 ou sal farmacêuticamente aceitável do mesmo.

13. Método de acordo com a reivindicação 11 ou 12, em que a quantidade inibidora eficaz é até cerca de 500 mg.

14. Método de acordo com a reivindicação 11 ou 12, em que a quantidade inibidora eficaz é até cerca de 150 mg.

10 15. Método de acordo com a reivindicação 11 ou 12, em que a quantidade inibidora eficaz é cerca de 150 mg.

16. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 11-15, em que a dose inibidora eficaz integral é administrada em uma administração intramuscular.

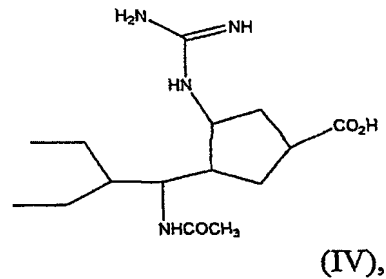
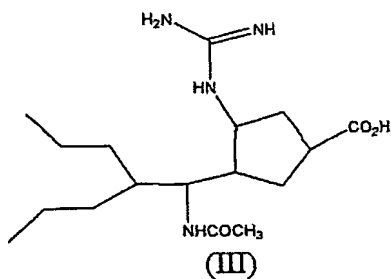
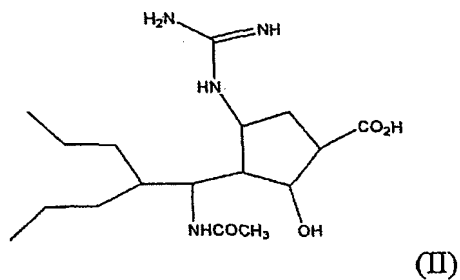
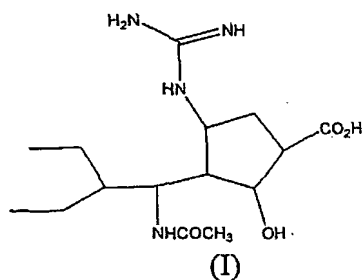
15 17. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 11-

16, em que um composto de fórmula Ia, ou um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo, é administrado.

18. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-17 compreendendo ainda administrar oralmente um inibidor de neuraminidase ao ser humano.

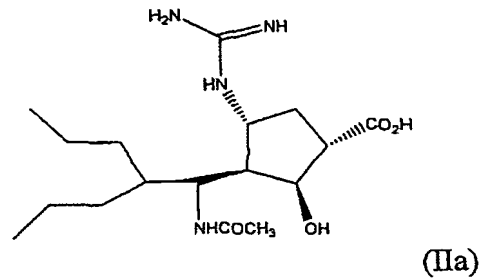
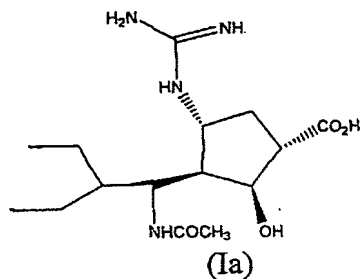
19. Método de acordo com a reivindicação 18, em que o inibidor de neuraminidase que é administrado oralmente é carboxilato de oseltamivir.

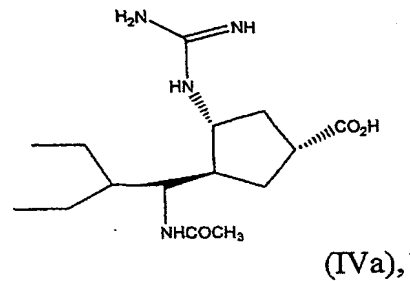
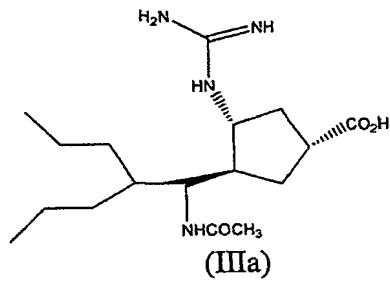
20. Método de acordo com a reivindicação 18, em que o inibidor de neuraminidase que é administrado oralmente é um composto de fórmula I, II, III ou IV:



ou um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo.

21. Método de acordo com a reivindicação 18, em que o inibidor de neuraminidase que é administrado oralmente é um composto de fórmula Ia, IIa, IIIa ou IVa:





ou um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo.

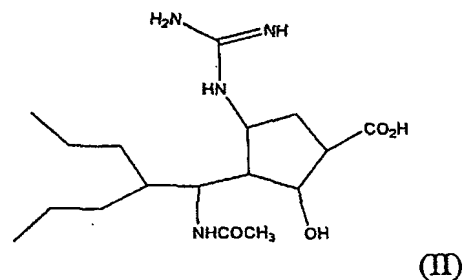
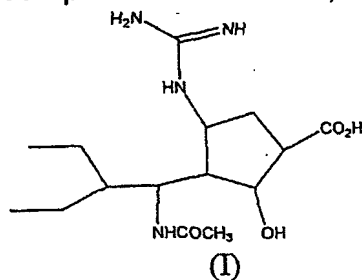
22. Método de acordo com a reivindicação 21, em que o inibidor de neuraminidase que é administrado oralmente é um composto de fórmula Ia ou um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo.

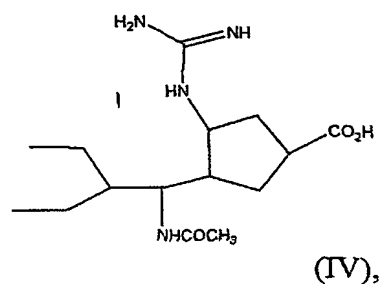
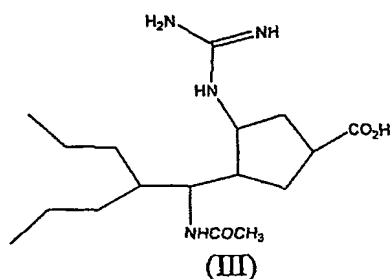
5 23. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 18-22, em que o inibidor de neuraminidase que é administrado oralmente é administrado por até 20 dias.

24. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 18-22, em que o inibidor de neuraminidase que é administrado oralmente é ad-
10 ministrado por até 10 dias.

25. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 18-22, em que o inibidor de neuraminidase que é administrado oralmente é ad-
ministrado por até 5 dias.

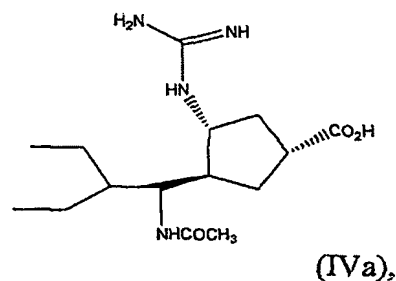
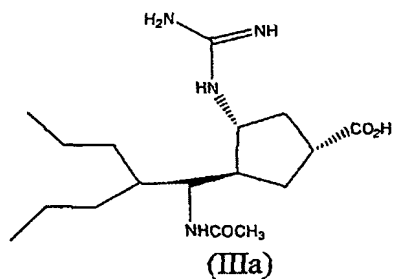
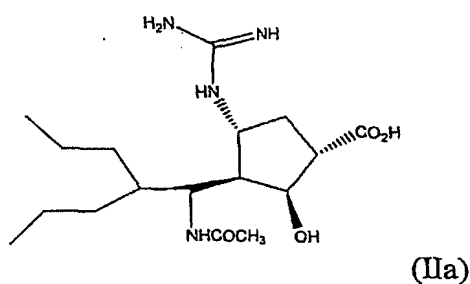
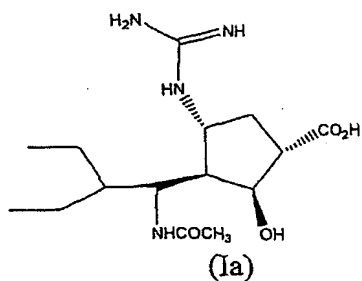
26. Forma de dosagem unitária que é adequada para adminis-
15 tração intramuscular a um ser humano compreendendo até cerca de 500 mg de um composto de fórmula I, II, III ou IV:





ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo.

27. Forma de dosagem unitária de acordo com a reivindicação 26, em que o composto de fórmula I, II, III ou IV é um composto de fórmula Ia, IIa, IIIa ou IVa:

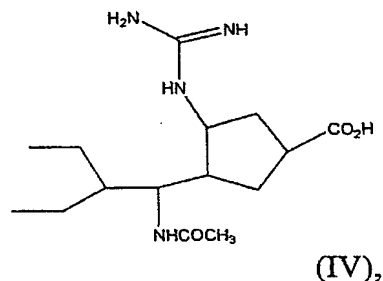
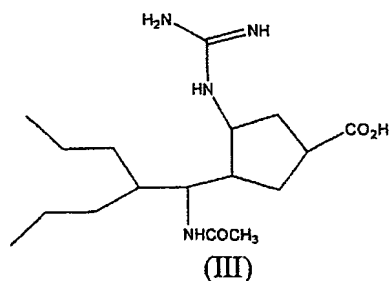
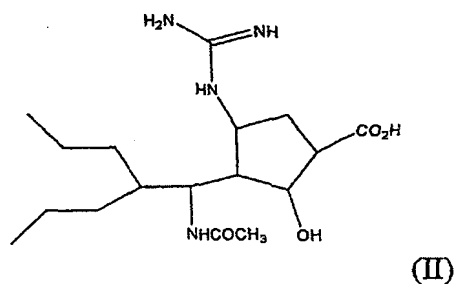
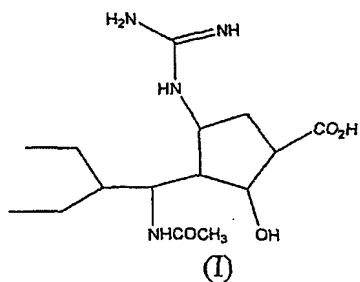


5 ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo.

28. Forma de dosagem unitária de acordo com a reivindicação 26 ou 27 que compreende até cerca de 500 mg do composto ou sal.

29. Forma de dosagem unitária de acordo com a reivindicação 26 ou 27 que compreende cerca de 150 mg do composto ou sal.

10 30. Kit compreendendo materiais de embalagem, um composto de fórmula I, II, III ou IV:



ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo e instruções para administração do composto a um ser humano através de via intramuscular.

31. Kit de acordo com a reivindicação 30, em que o composto é provido em uma formulação adequada para administração intramuscular.

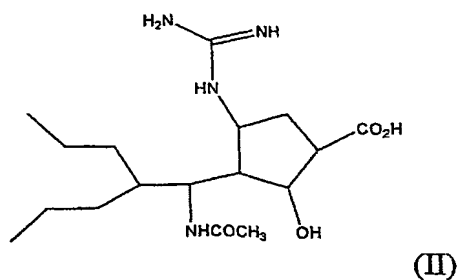
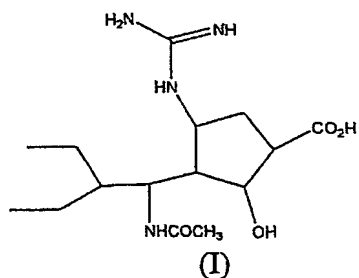
5 32. Kit de acordo com a reivindicação 30 ou 31 que compreende até cerca de 500 mg do composto ou sal.

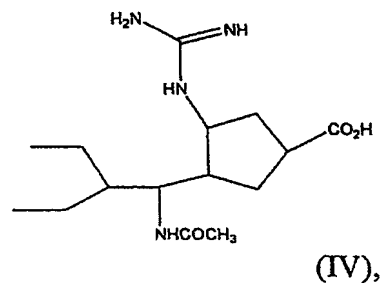
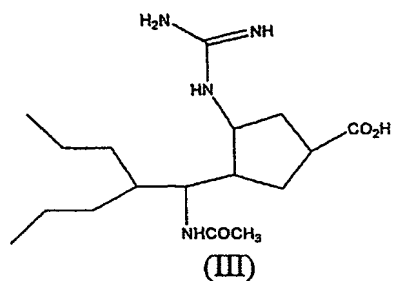
33. Kit de acordo com a reivindicação 30 ou 31 que compreende até cerca de 150 mg do composto ou sal.

10 34. Kit de acordo com a reivindicação 30 ou 31 que compreende cerca de 150 mg do composto ou sal.

35. Kit compreendendo um material de embalagem, uma forma de dosagem unitária conforme descrito em qualquer uma das reivindicações 26-34 e instruções para administração do composto a um ser humano através de via intramuscular.

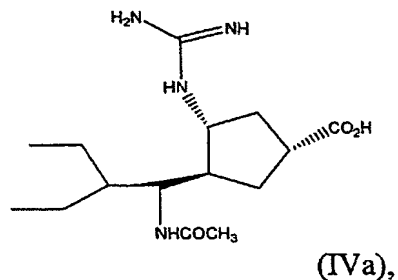
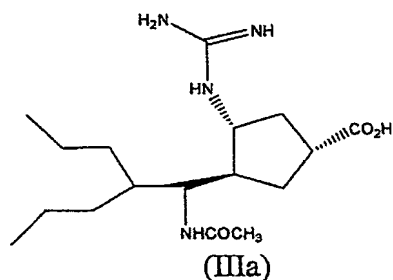
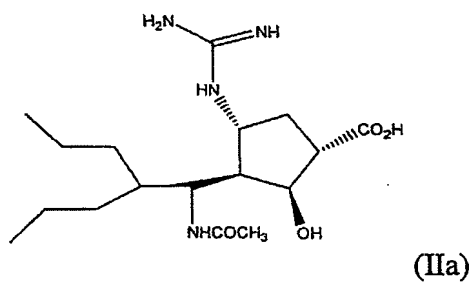
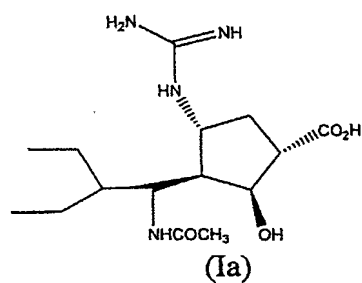
15 36. Uso de um composto de fórmula I, II, III ou IV:





ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo, na fabricação de um medicamento para injeção intramuscular para aumento de expectativa de vida ou redução da mortalidade em um grupo de mamíferos expostos a uma fonte de um vírus influenza, através de injeção intramuscular de uma dose do medicamento em cada membro do grupo apresentando sintomas clínicos de infecção.

37. Uso de acordo com a reivindicação 36, em que o composto de fórmula I, II, III ou IV é um composto de fórmula Ia, IIa, IIIa ou IVa:



ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo.

38. Uso de acordo com a reivindicação 36 ou 37, em que o vírus influenza é um vírus influenza de ave.

39. Uso de acordo com a reivindicação 38, em que o vírus influenza da ave é H5N1 ou uma linhagem mutante dele.

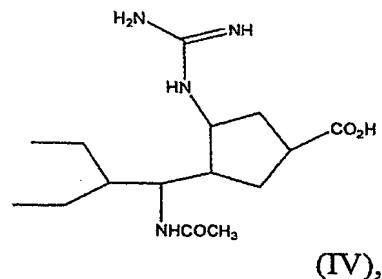
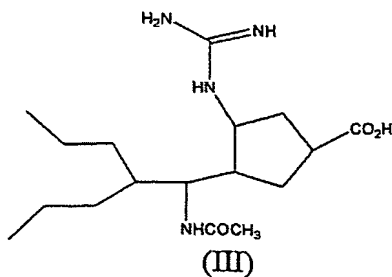
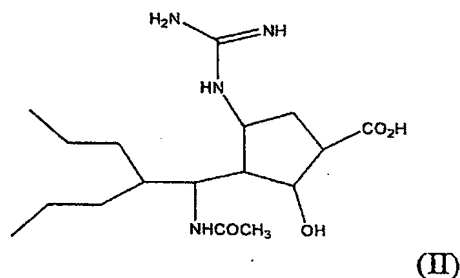
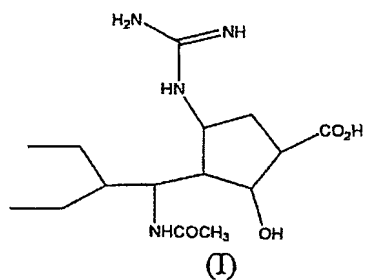
40. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 36-39,

em que cada membro do grupo apresentando sintomas de infecção recebe apenas uma dose intramuscular do medicamento.

41. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 36-40 para aumento da expectativa de vida ou redução da mortalidade em um grupo de mamíferos, em que os membros do grupo apresentando sintomas clínicos de infecção são tratados oralmente com um inibidor de neuraminidase.

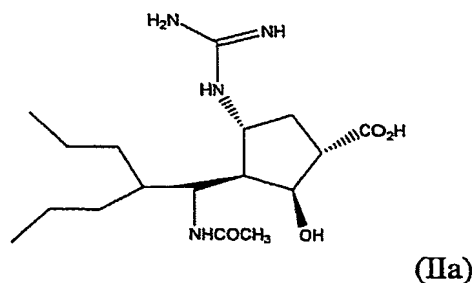
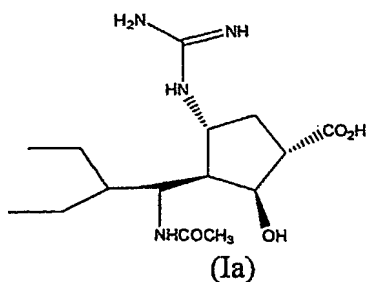
42. Uso de acordo com a reivindicação 41, em que o inibidor de neuraminidase é carboxilato de oseltamivir.

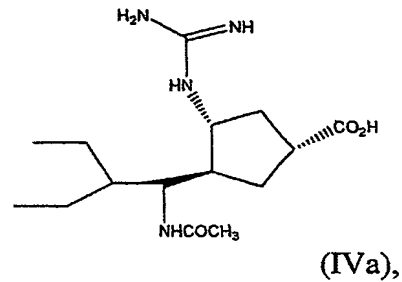
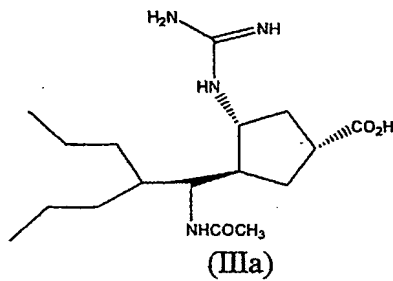
43. Uso de acordo com a reivindicação 41, em que o inibidor de neuraminidase é um composto de fórmula I, II, III ou IV:



ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo.

44. Uso de acordo com a reivindicação 41, em que o inibidor de neuraminidase é um composto de fórmula Ia, IIa, IIIa ou IVa:





ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo.

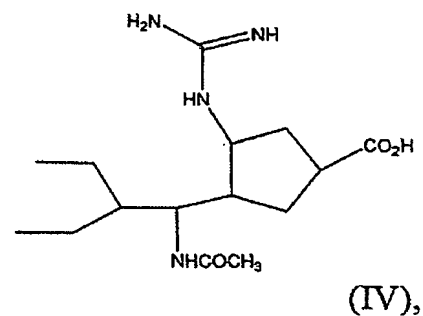
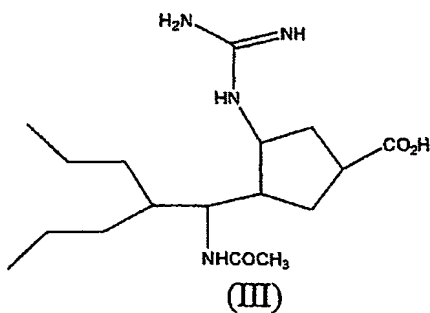
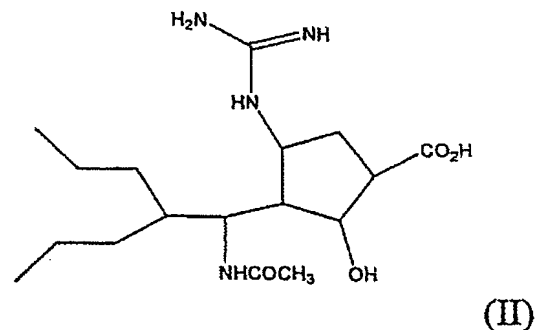
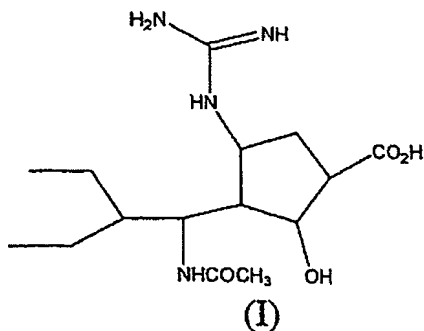
45. Uso de acordo com a reivindicação 41, em que o inibidor de neuraminidase é um composto de fórmula Ia ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo.

5 46. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 36-45, em que a fonte do vírus é uma ave infectada.

47. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 36-45, em que a fonte do vírus é um mamífero apresentando sintomas de infecção.

10 48. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 36-47 que é para redução de mortalidade.

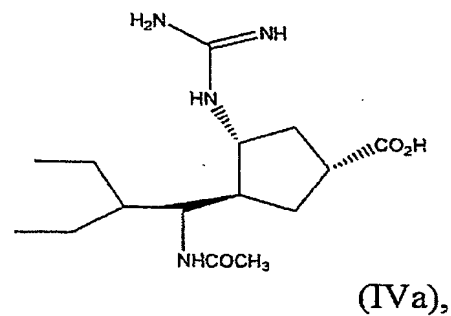
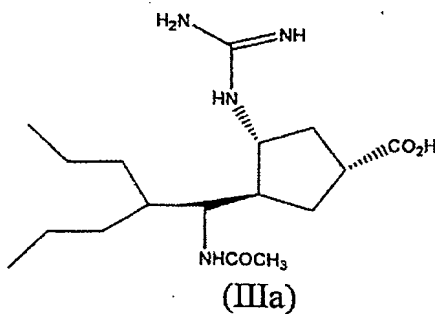
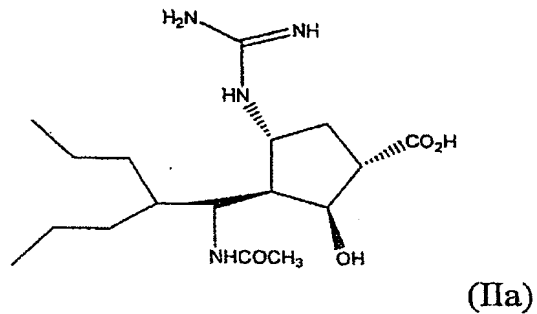
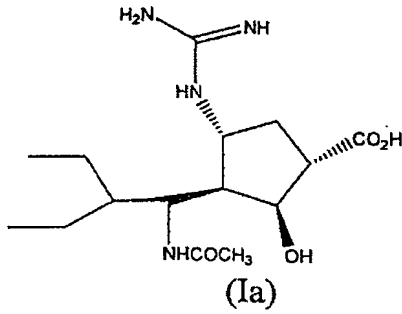
49. Uso de um composto de fórmula I, II, III ou IV:



ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo, na fabricação de um medicamento para injeção intramuscular para aumento da expectativa de vida ou redução da mortalidade em um grupo de mamíferos expostos a uma fon-

te de um vírus influenza, através de injeção intramuscular de uma dose do medicamento em cada membro do grupo.

50. Uso de acordo com a reivindicação 49, em que o composto de fórmula I, II, III ou IV é um composto de fórmula Ia, IIa, IIIa ou IVa:



5 ou um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo.

51. Uso de acordo com a reivindicação 49 ou 50, em que o vírus influenza é um vírus influenza de ave.

52. Uso de acordo com a reivindicação 51, em que o vírus influenza de ave é H5N1 ou uma linhagem mutante dele.

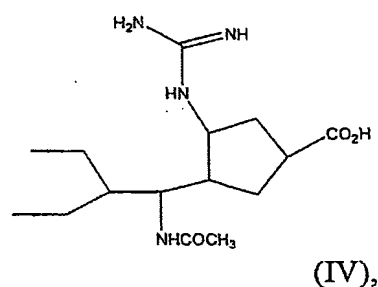
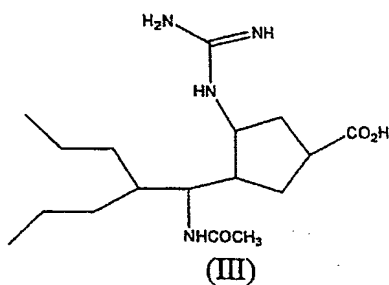
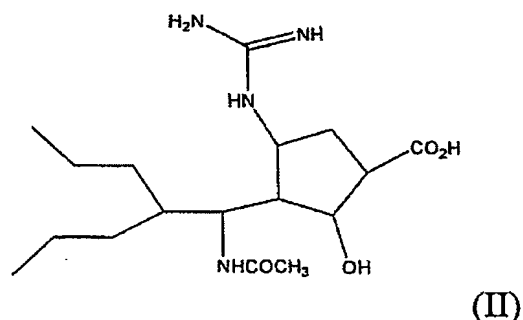
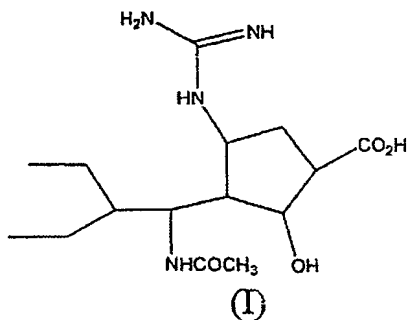
10 53. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 49-52, em que cada membro do grupo recebe apenas uma dose intramuscular do medicamento.

15 54. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 49-53 para aumento da expectativa de vida ou redução da mortalidade em um grupo de mamíferos, em que os membros do grupo são tratados oralmente com um inibidor de neuraminidase.

55. Uso de acordo com a reivindicação 54, em que o inibidor de neuraminidase é carboxilato de oseltamivir.

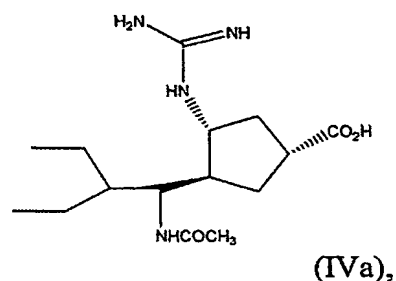
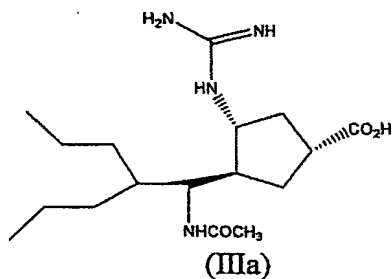
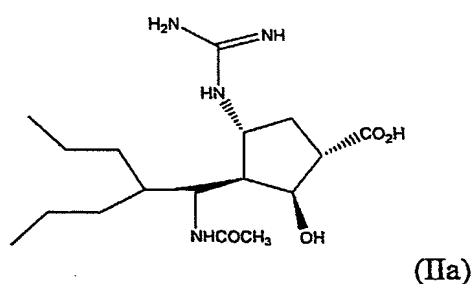
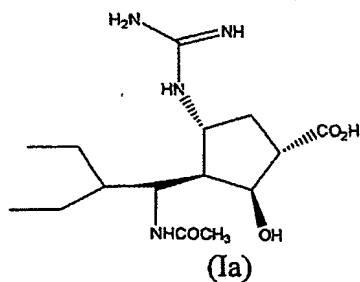
56. Uso de acordo com a reivindicação 54, em que o inibidor de

neuraminidase é um composto de fórmula I, II, III ou IV:



ou um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo.

57. Uso de acordo com a reivindicação 54, em que o inibidor de neuraminidase é um composto de fórmula Ia, IIa, IIIa ou IVa:



5 ou um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo.

58. Uso de acordo com a reivindicação 54, em que o inibidor de neuraminidase é um composto de fórmula Ia ou um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo.

59. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 49-58, em que a fonte do vírus é uma ave infectada.

60. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 49-58, em que a fonte do vírus é um mamífero apresentando sintomas de infecção.

5 61. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 49-60, que é para redução da mortalidade.

PT 062352-1

RESUMO

Patente de Invenção: "TRATAMENTOS ANTIVIRAIS INTRAMUSCULARES".

A presente invenção refere-se a formas de dosagem unitárias,
5 kits e métodos úteis para tratamento de infecções virais.