



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) **СКОРРЕКТИРОВАННОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ**

Примечание: библиография отражает состояние при переиздании

(21)(22) Заявка: 2013127793, 09.11.2011

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
09.11.2011

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
19.11.2010 CN 201010551433.8

(43) Дата публикации заявки: 27.12.2014 Бюл. № 36

(45) Опубликовано: 08.08.2017

(15) Информация о коррекции:
Версия коррекции №1 (W1 C2)

(48) Коррекция опубликована:
29.09.2017 Бюл. № 28

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 19.06.2013

(86) Заявка РСТ:
AU 2011/001446 (09.11.2011)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2012/065212 (24.05.2012)

Адрес для переписки:

119019, Москва, Гоголевский б-р, 11, этаж 3,
"Гоулингз ВЛГ (Интернэшнл) Инк.", Лыу
Татьяна Нгоковна

(72) Автор(ы):

КО Сай Ин (CN)

(73) Патентообладатель(и):

БИОЛИНГУС АйПи ЛЛСи (CN)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: GARIBOLDI S., et al., Low dose
oral administration of cytokines for treatment
of allergic asthma. Pulm Pharmacol Ther. 2009
Dec;22(6):497-510. doi: 10.1016/
j.pupt.2009.05.002. Epub 2009 May 21. EP 1 210
434 B1, 12.03.2008. WO 97/41831 A1, 13.11.1997.
PAN HF., et al., Therapeutic potential of IL-27
in systemic lupus erythematosus. Expert Opin
Ther (см. прод.)

(54) **ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ КОМПОЗИЦИИ**

(57) Реферат:

Группа изобретений относится к медицине и касается способа лечения воспалительного состояния у субъекта, включающего подъязычное введение субъекту интерлейкина-2 (IL-2) в дозе от 4000 МЕ до 12000 МЕ в сутки, и где воспалительное состояние выбрано из артрита, синусита, аллергических нарушений, псориаза, акне, воспалительных заболеваний кишечника, синдрома хронической усталости, аутоиммунных нарушений, синдрома Шёгрена, воспаления предстательной железы, воспаления мочевыводящих путей, панкреатита, васкулита,

диабета, подагры или сопутствующего состояния и периодической боли. Группа изобретений также касается применения интерлейкина-2 (IL-2) для лечения воспалительных состояний, где лекарственное средство вводится подъязычно в дозе от 4000 МЕ до 12000 МЕ в сутки. Группа изобретений обеспечивает достижение эффективного лечения с более низкими дозами по сравнению с доступной на данный момент системной доставкой. 2 н. и 11 з.п. ф-лы, 5 пр., 5 ил., 4 табл.

(56) (продолжение):

Targets. 2010 May;14(5):479-84. doi: 10.1517/14728221003769911. US 6,007,804 A, 28.12.1999.

R U 2 6 2 7 4 5 1 C 9

R U 2 6 2 7 4 5 1 C 9



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

Note: Bibliography reflects the latest situation

(21)(22) Application: **2013127793, 09.11.2011**

(24) Effective date for property rights:
09.11.2011

Priority:

(30) Convention priority:
19.11.2010 CN 201010551433.8

(43) Application published: **27.12.2014 Bull. № 36**

(45) Date of publication: **08.08.2017**

(15) Correction information:
Corrected version no1 (W1 C2)

(48) Corrigendum issued on:
29.09.2017 Bull. № 28

(85) Commencement of national phase: **19.06.2013**

(86) PCT application:
AU 2011/001446 (09.11.2011)

(87) PCT publication:
WO 2012/065212 (24.05.2012)

Mail address:

**119019, Moskva, Gogolevskij b-r, 11, etazh 3,
"Goulingz VLG (Interneshnl) Ink.", Lyu Tatyana
Ngokovna**

(72) Inventor(s):

KO, Sai Ying (CN)

(73) Proprietor(s):

BIOLINGUS IP LLC (CH)

(54) **ANTI-INFLAMMATORY COMPOSITIONS**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: method for inflammatory condition treatment includes sublingual introduction of interleukin-2 (IL-2) at a dose of 4000 IU to 12000 IU per day, and where the inflammatory condition is selected from arthritis, sinusitis, allergic disorders, psoriasis, acne, inflammatory bowel disease, chronic fatigue syndrome, autoimmune disorders, Sjogren syndrome, prostate gland inflammation, urinary tract

inflammation, pancreatitis, vasculitis, diabetes, gout or accompanying state and periodic pain. The group of inventions also concerns the use of interleukin-2 (IL-2) for inflammatory conditions treatment, where the drug is injected sublingually at a dose of 4000 IU to 12000 IU per day.

EFFECT: effective treatment with lower doses compared to the currently available systemic delivery.

13 cl, 5 ex, 5 dwg, 4 tbl

Область техники

Настоящее изобретение в целом относится к способам и композициям для применения в лечении воспалительных состояний. В частности, настоящее изобретение относится к такому лечению, которое включает доставку через слизистую интерлейкина, в частности интерлейкина-2 (IL-2). Более конкретно, настоящее изобретение относится к подъязычному введению композиций, содержащих IL-2.

Уровень техники

Воспаление является механизмом нормальной и жизненно необходимой реакции, способствующим защите организма от инфекции и повреждения. Однако патологические или неконтролируемые воспалительные реакции могут приводить к развитию острых или хронических воспалительных нарушений или состояний. Хронические воспалительные состояния могут быть изнуряющими и могут вызывать большой дискомфорт и боль у больных. Более того, увеличивается распространенность воспалительных состояний, таких как ревматоидный артрит, поскольку население во всем мире стареет.

Одним основным недостатком традиционных, основанных на химических соединениях методов лечения воспалительных состояний является то, что эти средства направлены только на облегчение боли, ассоциированной с состоянием, а не на устранение лежащей в основе патофизиологии состояния. Также ассоциированы с длительным применением стероидов, что вызывает серьезные побочные эффекты, в том числе язвы желудка и кровотечение. Например, в противовоспалительной терапии в течение многих лет использовались нестероидные противовоспалительные лекарственные средства (NSAID), однако хорошо известно, что NSAID вызывают поражения желудочно-кишечного тракта в зависимости от продолжительности лечения и от типа лекарственного средства. Эта проблема имеет особое значение в случае, когда терапия должна быть длительной, например, при лечении хронических воспалительных заболеваний, в том числе ревматоидного артрита, когда длительное лечение необходимо для обеспечения контроля воспалительного состояния и ассоциированной боли.

Следовательно, растет интерес к разработке методов терапии на основе биологических средств, в попытке снизить такие побочные эффекты, а также замедлить или обратить развитие заболевания.

Более того, поскольку большинство воспалительных и аутоиммунных заболеваний являются хроническими заболеваниями, требующими длительного лечения, методы терапии на основе инъекций и лечения, требующие введения врачом или другим работником здравоохранения, не являются идеальными. Таким образом, разработка альтернативных методов терапии и альтернативных подходов к введению находятся в центре внимания большинства исследований.

Одним биологическим средством, который был признан перспективным для лечения некоторых видов рака, является цитокин интерлейкин-2 (IL-2). Рекомбинантная форма интерлейкина-2, алдеслейкин (Proleukin®), получил одобрение FDA для лечения путем инъекции метастатической меланомы и почечно-клеточной карциномы. Однако на сегодняшний день широкое распространение и эффективное использование IL-2 для терапевтических целей было существенно затруднено из-за значительных побочных эффектов, ассоциированных с его введением, в основном из-за требуемого внутривенного или подкожного способа доставки путем инъекции и связанных высоких доз, необходимых для достижения какой-либо терапевтической пользы. Пациенты, получающие системную IL-2 терапию, часто испытывают подобные гриппу симптомы. Гипотония, анемия и сниженное количество тромбоцитов также ассоциированы с

высокими суммарными дозами, требуемыми для внутривенного введения. Наиболее серьезная токсичность, ассоциированная с доступным в настоящее время внутривенным или подкожным введением IL-2, является результатом способности молекулы увеличивать проницаемость капилляров, что может привести к гипотонии, асцитам, анасарке и отеку легких. Синдром капиллярной утечки в конечном итоге может привести к крайне низкому кровяному давлению и пониженному кровообращению, сердечным и легочным патологиям, задержке жидкости, ментальным изменениям, патологиям почек и/или желудочно-кишечным патологиям. Эти эффекты могут быть тяжелыми и могут приводить к смерти.

Необходимость внутривенных или подкожных инъекций IL-2 также препятствует возможности индивидуумов заниматься самолечением и контролировать свой собственный режим лечения. Следовательно, существует необходимость разработки простых, недорогих вариантов лечения, которые позволяют страдающим воспалительными состояниями удобно и без боли или побочного эффекта вводить свой медицинский препарат.

Продолжительное терапевтическое применение IL-2 в настоящее время тщательно оценивается в свете его значительной токсичности и относительно небольшого показателя клинического ответа. Однако автор настоящего изобретения вопреки ожиданию обнаружил, что доставка через слизистую IL-2 обеспечивает существенные терапевтические преимущества по сравнению с существующей на данный момент инъекционной доставкой, включающие возможность достижения эффективного лечения с гораздо более низкими дозами по сравнению с необходимыми для доступной на данный момент системной доставки. Настоящее изобретение, тем самым, обеспечивает осуществимые новые возможности для экономичного, эффективного терапевтического лечения воспалительных состояний с пониженными побочными эффектами и позволяет пациентам самостоятельно вводить свой медицинский препарат.

Сущность изобретения

Согласно первому аспекту настоящее изобретение относится к способу лечения патологического воспаления или воспалительного состояния у субъекта, причем способ предусматривает введение субъекту через слизистую эффективного количества интерлейкина или его фрагмента или производного.

Интерлейкином могут быть рекомбинантный интерлейкин человека. Как правило, интерлейкином является интерлейкин-2 (IL-2).

Типично введение через слизистую представляет собой пероральное введение, более типично введением является буккальное или подъязычное.

Воспалительным состоянием может быть хроническое воспалительное заболевание и может быть выбрано, например, из артрита, такого как ревматоидный артрит, синусита, аллергических нарушений, таких как астма, псориаза, акне, воспалительных заболеваний кишечника, синдрома хронической усталости, аутоиммунных нарушений, таких как системная красная волчанка, синдрома Шегрена, воспаления предстательной железы, воспаления мочевыводящих путей, панкреатита, васкулита, диабета, воспаления стопы, в том числе подагры, и периодической боли.

Интерлейкин может быть введен в любой форме, приемлемой для пероральной доставки, как правило, для подъязычной или буккальной доставки, такой как, например, в твердой или жидкой единичной дозированной форме.

Способ может дополнительно предусматривать введение одного или более противовоспалительных средств. Такие средства могут быть введены тем же путем, что и интерлейкин, или другим путем. Введение нескольких средств может быть

последовательным или одновременным.

Согласно второму аспекту настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции для введения через слизистую для лечения патологического воспаления или воспалительных состояний, причем композиция содержит интерлейкин или его фрагмент или производное, необязательно вместе с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями, наполнителями и/или разбавителями.

Согласно третьему аспекту настоящее изобретение относится к способу лечения патологического воспаления или воспалительного состояния у субъекта, причем способ предусматривает введение субъекту через слизистую эффективного количества композиции согласно второму аспекту.

Согласно четвертому аспекту настоящее изобретение относится к применению интерлейкина или его фрагмента или производного для изготовления лекарственного средства для лечения патологического воспаления или воспалительных состояний, при этом лекарственное средство вводится через слизистую.

Также обеспечивается применение интерлейкина или его фрагмента или производного в способе лечения патологического воспаления или воспалительного состояния.

В соответствии с вышеупомянутыми аспектами интерлейкин может вводиться в форме полинуклеотида, кодирующего интерлейкин. Полинуклеотид может быть расположен в генном конструкте, функционально связанном с промотором.

Краткое описание чертежей

В настоящем документе описаны варианты осуществления настоящего изобретения, исключительно в качестве примера, со ссылкой на приложенные графические материалы.

Фигура 1. Опухание (балл опухания), измеренное на правых задних лапах крыс с индуцированным ревматоидным артритом после парентерального (Inj) или подъязычного (Sub) введения рекомбинантного IL-2 человека: подъязычная низкая доза = 4000 МЕ/кг веса тела дважды в сутки в течение 7 суток; подъязычная высокая доза = 12000 МЕ/кг веса тела дважды в сутки в течение 7 суток; инъекционная низкая доза = 4000 МЕ/кг веса тела дважды в сутки в течение 7 суток; инъекционная высокая доза = 16000 МЕ/кг веса тела дважды в сутки в течение 7 суток.

Фигура 2. Опухание (индекс RA), измеренное на трех лапах без индуцирования крыс с индуцированным ревматоидным артритом на правой задней лапе после парентерального (Inj) или подъязычного (Sub) введения рекомбинантного IL-2 человека в течение 3 суток (A) или 7 суток (B): подъязычная низкая доза = 4000 МЕ/кг веса тела дважды в сутки в течение 7 суток; подъязычная высокая доза = 12000 МЕ/кг веса тела дважды в сутки в течение 7 суток; инъекционная низкая доза = 4000 МЕ/кг веса тела дважды в сутки в течение 7 суток; инъекционная высокая доза = 16000 МЕ/кг веса тела дважды в сутки в течение 7 суток.

Фигура 3. Измерения синусита у крыс с индуцированным синуситом после подъязычного (Sub) введения рекомбинантного IL-2 человека в течение 14 дней:

подъязычная низкая доза = 1000 МЕ/кг дважды в сутки в течение 7 суток, затем каждые вторые сутки; подъязычная высокая доза = 4000 МЕ/кг дважды в сутки в течение 7 суток, затем каждые вторые сутки. (A) Тимусный индекс - вес тимуса (г) на 100 г веса тела. (B) Индекс селезенки - вес селезенки (г) на 100 г веса тела.

Фигура 4. Поведение крыс с индуцированным синуситом после подъязычного (Sub) введения рекомбинантного IL-2 человека в течение 14 суток, измеренное по частоте потирания носа, чихания и степени выделения из носа: подъязычная низкая доза = 1000 МЕ/кг дважды в сутки в течение 7 суток, затем каждые вторые сутки; подъязычная высокая доза = 4000 МЕ/кг дважды в сутки в течение 7 суток затем каждые вторые

сутки.

Фигура 5. Изображения, показывающие изменения псориаза, поражающего локоть и руку человека после двух месяцев введения подкожного IL-2 при 5000 мЕ в сутки.

Нуклеотидные последовательности упоминаются под идентификационным номером последовательности (SEQ ID NO). SEQ ID NO нумерационно отвечают идентификаторам последовательностей <400>1 (SEQ ID NO:1), <400>2 (SEQ ID NO:2) и т.д. В частности, аминокислотная последовательность, изложенная в SEQ ID NO:1, представляет форму предшественника IL-2 человека, аминокислотная последовательность, изложенная в SEQ ID NO:2, представляет зрелую форму IL-2 человека. Нуклеотидная последовательность, кодирующая IL-2 человека, изложена в SEQ ID NO:3.

Подробное описание изобретения

По всему настоящему описанию и формуле изобретения, которая следует далее, если контекст не требует иного, выражение "содержать" и вариации, такие как "содержит" или "содержащий", следует понимать как подразумевающие включение указанного элемента, целого числа или этапа или группы элементов, целых чисел или этапов, а не исключение какого-либо другого элемента, целого числа или этапа или группы элементов, целых чисел или этапов.

Форма единственного числа используется в настоящем документе для обозначения одного или более одного (т.е. по меньшей мере одного) грамматического объекта в единственном числе. Например, "элемент" означает один элемент или более чем один элемент.

Используемое в настоящем документе выражение "эффективное количество" предусматривает в своем значении нетоксичное, но достаточное, количество средства или соединения для обеспечения желаемого терапевтического эффекта. Точное необходимое количество будет варьировать от субъекта к субъекту в зависимости от факторов, таких как виды, подлежащие лечению, возраст и общее состояние субъекта, тяжесть состояния, подлежащего лечению, конкретное средство, подлежащее введению, и способ введения и т.п. Таким образом, невозможно определить точное "эффективное количество". Однако, для любого данного случая соответствующее "эффективное количество" может быть определено специалистом в данной области с использованием только лишь стандартного эксперимента.

Используемые в настоящем документе термины "обработка" и "лечение" означают какое-либо и все применения, которые излечивают состояние заболевания или ослабляют симптомы, предупреждают возникновение заболевания или иным путем предупреждают, препятствуют, задерживают или обращают развитие заболевания или других нежелательных симптомов в любой форме. Таким образом, "лечение" означает не только лечение, рассчитанное на излечение или устранение симптомов у индивидуума, а также проводимую терапию, рассчитанную на контроль и подавление возникновения симптомов. Лечение может длиться определенный период времени или обеспечивается постоянно в зависимости от конкретных обстоятельств того или иного индивидуума.

Используемое в настоящем документе выражение "полипептид" означает полимер из аминокислот, связанных вместе пептидными связями. Выражения "полипептид" и "белок" используются взаимозаменяемо в настоящем документе, хотя для целей настоящего изобретения "полипептид" может составлять часть белка полной длины. Термин "полинуклеотид", используемый в настоящем документе, означает одно- или двухцепочечный полимер дезоксирибонуклеотидных, рибонуклеотидных оснований или известных аналогов или природных нуклеотидов или их смеси.

Настоящее изобретение основано на открытиях автора, заключающихся в том, что

на моделях *in vivo* различных воспалительных состояний подъязычное введение рекомбинантного IL-2 дает значительную и статистически значимую терапевтическую пользу без явной токсичности. Кроме того, проиллюстрированное в настоящем документе это введение через слизистую практически не зависит от дозы. В этом

5 заключается отличие от известного в уровне техники введения путем инъекции, при котором, как правило, требуются более высокие дозы для достижения подобного терапевтического эффекта, при этом доза для введения ограничена возникновением побочных эффектов и токсичности.

Следовательно, настоящее изобретение обеспечивает новые варианты

10 терапевтического лечения ряда воспалительных состояний с низкими дозировками, такие, что побочные эффекты, обычно наблюдаемые с ныне доступными типами системного лечения, либо исключаются, либо снижаются. В настоящее время терапия IL-2 для лечения воспалительных состояний ограничивается только внутривенной или подкожной. Такое введение требует высоких доз интерлейкина на уровнях, считающихся

15 патологически высокими относительно уровней, на которых цитокины, такие как IL-2, действуют естественно с опосредованием клеточных ответов. Эти высокие дозы приводят к существенным побочным эффектам у пациентов.

Новое открытие автора терапевтически эффективного введения через слизистую интерлейкина открывает путь для разработки экономичных, нетоксичных

20 терапевтических альтернатив доступных на данный момент инъекционным видам терапии.

Следовательно, в одном аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения воспалительного состояния у субъекта, причем способ предусматривает введение субъекту через слизистую эффективного количества интерлейкина или его фрагмента

25 или производного.

Для применения в соответствии с настоящим изобретением интерлейкин может быть выбран, например, из IL-2, IL-12, IL-15 или IL-18. В конкретных вариантах осуществления интерлейкином является IL-2, типично IL-2 человека и более типично рекомбинантный IL-2 человека.

30 Интерлейкин(ы), используемый(ые) в способах и композициях в соответствии с настоящим изобретением может(могут) быть природным(и), рекомбинантным(и) или синтетическим(и) и может(могут) быть получен(ы) очисткой из приемлемого источника или получен(ы) стандартными техниками рекомбинации ДНК, такими как техники, хорошо известные специалистам в данной области и описаны, например, в Sambrook et

35 al., *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press (описание которой включено в настоящий документ посредством ссылки). Специалист в данной области оценит, что определенная последовательность интерлейкинов, подлежащая использованию в соответствии с настоящим изобретением, может варьировать в зависимости от ряда факторов, например, видов и/или воспалительных состояний,

40 подлежащих лечению. Упоминания "интерлейкина" или "интерлейкинов" следует понимать как ссылку на все формы этой молекулы и на ее функциональные производные, варианты и гомологи. Это предусматривает, например, любые изоформы, которые возникают из-за альтернативного сплайсинга субъектной мРНК интерлейкина или функциональных мутантов или полиморфных вариантов этих белков. Также настоящим

45 изобретением охватываются гомологи или миметики, которые обладают качественной биологической активностью подобно зрелому интерлейкину полной длины. Кроме того, настоящее изобретение охватывает не только применение интерлейкинового полипептида, а также полинуклеотиды, кодирующие его.

"Производные" интерлейкинов включают в себя аналоги, функциональные фрагменты, части, доли или варианты либо из природных, либо неприродных источников. Неприродные источники включают в себя, например, рекомбинантные или синтетические источники. Под "рекомбинантными источниками" подразумевается генетически измененный клеточный источник, из которого взята субъектная молекула. "Аналог" означает полипептид, который является производным интерлейкина, причем производное содержит добавление, делецию, замену одной или несколькими аминокислотами так, что полипептид практически сохраняет ту же функцию, что и у нативного интерлейкина, из которого он получен. Модификации могут быть выполнены для увеличения биологической активности или уровня экспрессии интерлейкина или для усиления иной эффективности полипептида с достижением желаемого результата. Термин "консервативная замена аминокислоты" означает замену или замещение одной аминокислоты на другую аминокислоту с подобными свойствами в полипептидной цепи (первичной последовательности белка). Например, замена заряженной аминокислоты глутаминовой кислоты (Glu) на подобно заряженную аминокислоту аспаргиновую кислоту (Asp) будет консервативной заменой аминокислоты. Производные со вставленной аминокислотой также включают в себя amino- и/или карбокси-концевые слияния, а также вставки внутри последовательности одной или нескольких аминокислот. Вариантами последовательности со вставленной аминокислотой являются варианты, в которых один или несколько аминокислотных остатков вводятся в предварительно определенный участок в белке, хотя также возможна случайная вставка с соответствующим отбором полученного в результате продукта. Варианты с делениями характеризуются удалением одной или нескольких аминокислот из последовательности. Варианты с замененной аминокислотой представляют собой варианты, в которых по меньшей мере один остаток в последовательности был удален, а другой остаток вставлен на его место.

Термин "фрагмент" означает полипептид, который является компонентом интерлейкина полной длины. Фрагмент, как правило, обладает качественной биологической активностью подобно интерлейкину полной длины. Фрагмент может быть получен из интерлейкинового полипептида полной длины или альтернативно может быть синтезирован каким-либо другим путем, например химическим синтезом. Используемый в настоящем документе "вариант" интерлейкина означает молекулу практически подобной последовательности интерлейкину, вариантом которого он является и который проявляет по меньшей мере некоторую часть функциональной активности интерлейкина, вариантом которого он является. Вариант может иметь любую форму и может быть природного или неприродного происхождения. Как правило, вариантные полипептиды могут характеризоваться по меньшей мере 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности последовательности.

Используемый в настоящем документе "гомолог" означает, что интерлейкин получен из видов, отличных от того, который подлежит лечению в соответствии с настоящим изобретением. Это может происходить, когда, например, определено, что виды, отличные от того, который подлежит лечению, продуцируют форму интерлейкина, которая проявляет функциональные характеристики, подобные и приемлемые тому интерлейкину, который природно продуцируется субъектом, получающим лечение.

В соответствии с конкретным вариантом осуществления в соответствии с настоящим изобретением интерлейкином, подлежащим введению, является IL-2 человека, такой как рекомбинантный IL-2 человека. IL-2 человека полной длины имеет аминокислотную

последовательность, изложенную в SEQ ID NO:1 (форма предшественника) или в SEQ ID NO:2 (зрелая форма), и его нативная форма представляет собой гликозилированный белок приблизительно 15500 Да.

Варианты осуществления в соответствии с настоящим изобретением также относятся к введению интерлейкина в форме полинуклеотида, кодирующего интерлейкиновый полипептид, как описано выше. Как правило, полинуклеотид кодирует IL-2 человека. Например, полинуклеотид IL-2 в соответствии с настоящим изобретением может иметь нуклеотидную последовательность, изложенную в SEQ ID NO:3. Кроме полинуклеотидов, кодирующих полипептид человека полной длины, настоящее изобретение также охватывает применение полинуклеотидов, кодирующих его гомологи, фрагменты и варианты.

В конкретных вариантах осуществления в соответствии с настоящим изобретением полинуклеотид может быть введен в вектор. Вектором может быть плазмидный вектор, вирусный вектор или любой другой приемлемый носитель, адаптированный для вставки в чужеродные последовательности и введения в эукариотические клетки. Как правило, вектором является вектор экспрессии, способный управлять транскрипцией последовательности ДНК полинуклеотида, кодирующего желаемый полипептид, в мРНК. Вектор может содержать последовательности контроля экспрессии и процессинга, такие как промотор, энхансер, сайты связывания с рибосомой, сигналы полиаденилирования и последовательности терминации транскрипции. Примеры приемлемых вирусных векторов экспрессии включают, например, векторы на основе вируса Эпштейна-Барра, вируса папилломы крупного рогатого скота, аденовируса и аденоассоциированного вируса. Вектор может быть эписомальным.

Способы и композиции в соответствии с настоящим изобретением находят применение в лечении ряда воспалительных состояний, в том числе хронических воспалительных заболеваний. Исключительно в качестве примера, воспалительное состояние может быть выбрано из артрита, такого как ревматоидный артрит, синусита, аллергических нарушений, таких как астма, псориаза, акне, воспалительных заболеваний кишечника, синдрома хронической усталости, аутоиммунных нарушений, таких как системная красная волчанка, синдрома Шегрена, воспаления предстательной железы, воспаления мочевыводящих путей, воспаления стопы, панкреатита, васкулита, диабета, воспаления стопы, в том числе подагры, и периодической боли. Однако специалист в данной области легко поймет, что настоящее изобретение не ограничивается состояниями, явно упомянутыми в настоящем документе, но подходит для лечения любого воспалительного состояния, поддающегося лечению путем введения через слизистую активного средства.

Настоящее изобретение относится к способам и композициям для доставки через слизистую интерлейкина. Предпочтительным введением через слизистую интерлейкина является пероральное введение, хотя также предусматривается другое интраназальное введение, например, ингаляция. Как правило, пероральное введение включает подъязычное или буккальное введение, посредством чего композиция помещается для контакта со слизистой оболочкой щеки либо под язык, либо за щеку, что обеспечивает попадание активного средства непосредственно в кровоток путем абсорбции. Приемлемые формы для перорального введения предусматривают твердые, жидкие, эмульсию, гель и суспензию. В конкретном варианте осуществления композиция в соответствии с настоящим изобретением вводится в твердой единичной дозированной форме, например, в форме таблетки, капсулы, капсуловидной таблетки или пастилки. В одном варианте осуществления введение может предусматривать гель, введенный в носовую, буккальную или подъязычную зону. В случаях, когда интерлейкин является

нестабильным в данной жидкости, этого можно избежать путем разбавления лиофилизированного порошка интерлейкина в разбавителе, например, в воде с медом или карбоксиметилцеллюлозе, декстрани, мальтодекстрине, камедях, альбумине, сахарах, таких как декстроза, мальтоза, маннит и т.д. Мед является особенно полезным, поскольку он содержит много антигенов, которые могут способствовать иммунной реакции на интерлейкин.

Как правило, приемлемые композиции могут быть получены согласно способам, которые известны специалисту в данной области, и могут содержать фармацевтически приемлемый разбавитель, вспомогательное средство и/или наполнитель. Разбавители, вспомогательные средства и наполнители должны быть "приемлемыми" в отношении совместимости с другими ингредиентами композиции и не вредными для их реципиента.

Примерами фармацевтически приемлемых разбавителей являются деминерализованная или дистиллированная вода; солевой раствор; растительные масла, такие как ореховое масло, сафлоровое масло, оливковое масло, хлопковое масло, кукурузное масло, кунжутное масло, арахисовое масло или кокосовое масло; силиконовые масла, в том числе полисилоксаны, такие как метилполисилоксан, фенилполисилоксан и метилфенилполисилоксан; летучие кремнийорганические соединения; минеральные масла, такие как жидкий парафин, мягкий парафин или сквалан; производные целлюлозы, такие как метилцеллюлоза, этилцеллюлоза, карбоксиметилцеллюлоза, натрия карбоксиметилцеллюлозы или гидроксипропилметилцеллюлоза; низшие спирты, например, этанол или изопропанол; низшие алканолы; низшие полиалкиленгликоли или низшие алкиленгликоли, например, полиэтиленгликоль, полипропиленгликоль, этиленгликоль, пропиленгликоль, 1,3-бутиленгликоль или глицерин; сложные эфиры жирных кислот, такие как изопропилпальмитат, изопропилмиристат или этилолеат; поливинилпирролидон; агар; каррагенан; трагакантовая камедь или акациевая камедь и вазелин. Разбавителем может быть декстран, декстрин, декстроза, сахароза, мальтоза, маннит, желатин, прежелатинизированный крахмал, крахмал, аминокислоты, трегалоза, карбоксиметилцеллюлоза, целлюлоза, метилцеллюлоза, этилцеллюлоза, альбумин и пропиленгликоль. Как правило, носитель или носители будут составлять от 0,1% до 99,9% веса композиций.

В конкретных вариантах осуществления в соответствии с настоящим изобретением интерлейкин, например IL-2, вводится в форме твердой единичной дозированной формы, такой как таблетка, капсула или пастилка, приемлемой для перорального, наиболее типично, подъязычного введения. Приемлемые твердые композиции могут предусматривать быстро или медленно распадающуюся композицию, содержащую интерлейкин в фармацевтически приемлемом растворимом в воде или диспергируемом в воде материале-носителе. Такие композиции могут распадаться или растворяться во рту при помещении под язык или за щеку. Композиции могут быть составлены для быстрого или немедленного высвобождения интерлейкина или альтернативно для замедленного или контролируемого высвобождения. Техники и способы достижения замедленного или контролируемого высвобождения активных средств хорошо известны специалистам в данной области.

Широкий ряд способов получения таких дозированных форм хорошо известен специалистам в данной области и предполагается настоящим изобретением. Например, приемлемые составы могут быть получены способами, предусматривающими лиофилизацию под вакуумом, сушку с использованием сверхкритических жидкостей, сушку распылением с использованием тепла и сушку распылением в псевдооживленном

слое. Нанесение в контексте конкретных вариантов осуществления в соответствии с настоящим изобретением представляет собой способ, предусматривающий микроинкапсуляцию, посредством которой активным ингредиентом покрывают гранулы, таблетки или микрочастицы, как правило, с использованием растворителей.

5 Один особенно приемлемый способ предусматривает применение процесса распыления в псевдооживленном слое, обеспечивающего покрытие гранул при комнатной температуре активными ингредиентами, в том числе полипептидами, с растворяющимся в воде покрытием, как раскрыто в публикации международной патентной заявки № WO 02/058735 (раскрытие которой включено в настоящий документ посредством ссылки
10 в полном объеме). Таким образом могут быть покрыты микрочастицы, такие как растворимые в воде сахара, или гелеобразующие частицы, или альтернативно ядро таблетки, пастилки или капсулы может быть покрыто распылением. Также в уровне техники известен способ получения пероральных композиций, содержащих шипучее средство в качестве усилителя проникновения для усиления проницаемости активного
15 средства через слизистую оболочку щеки и языка (см., например, патент США №6974590, раскрытие которого включено в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме). Другие способы доставки, предполагаемые настоящим изобретением, предусматривают применение биоадгезивов, мукоадгезивов и липосом.

Композиции в соответствии с настоящим изобретением также могут вводиться в
20 форме липосом. Липосомы могут быть получены из фосфолипидов или других липидных веществ, и образуются моно- или многослойными гидратированными жидкими кристаллами, диспергированными в водной среде. Конкретными примерами липосом, применяемых для введения или доставки композиции в клетки-мишени являются DODMA, синтетические холестерины, DSPC, PEG-cDMA, DLinDMA или какой-либо
25 другой нетоксичный, физиологически приемлемый и метаболизируемый липид, способный формировать липосомы. Композиции в липосомной форме могут содержать стабилизаторы, консерванты и/или наполнители. Способы получения липосом хорошо известен в уровне техники, см. например *Methods in Cell Biology*, Volume XIV, Academic Press, New York, N.Y. (1976), p.33 ff., содержание которой включено в настоящий документ
30 посредством ссылки.

Композиции в соответствии с настоящим изобретением также можно вводить в форме микрочастиц. Могут быть использованы биоразрушаемые микрочастицы, образованные из полилактида (PLA), сополимера полилактида и гликолида (PLGA), а также эILON-капролактона (ϵ -капролактона).

35 Композиции в соответствии с настоящим изобретением могут содержать матрицу контролируемого высвобождения, которая состоит из изобутирата ацетата сахарозы (SAIB) и органического растворителя или смеси органических растворителей. Полимерные добавки могут быть добавлены для дополнительного повышения вязкости, чтобы снизить скорость высвобождения.

40 Специалисту в данной области будет понятно, что существует ряд приемлемых процессов и техник для изготовления приемлемых пероральных композиций в соответствии с настоящим изобретением, и что настоящее изобретение не ограничивается упоминанием какого-либо одного конкретного процесса или техники.

Твердые формы для перорального введения могут содержать связующие, приемлемые
45 в медицинской и ветеринарной фармацевтической практике, подсластители, средства для улучшения распадаемости, разбавители, ароматизаторы, покрытия, консерванты, смазки и/или средства замедления. Приемлемые связующие включают в себя акациевую камедь, желатин, кукурузный крахмал, прежелатинизированный крахмал, трагакантовую

камедь, альгинат натрия, карбоксиметилцеллюлозу или полиэтиленгликоль. Приемлемые подсластители включают в себя сахарозу, лактозу, глюкозу, аспартам или сахарин. Приемлемые средства для улучшения распадаемости включают в себя кукурузный крахмал, метилцеллюлозу, поливинилпирролидон, гуаровую камедь, ксантановую камедь, бентонит, альгиновую кислоту или агар. Приемлемые разбавители включают в себя лактозу, сорбит, маннит, декстрозу, каолин, целлюлозу, карбонат кальция, силикат кальция или гидрофосфат кальция. Приемлемые ароматизаторы включают в себя масло мяты, масло грушанки, ароматизаторы вишни, апельсина или малины. Приемлемые покрытия включают в себя полимеры или сополимеры акриловой кислоты и/или метакриловой кислоты, и/или их эфиры, воски, жирные спирты, зеин, шеллак или глютен. Приемлемые консерванты включают в себя бензоат натрия, витамин Е, альфа-токоферол, аскорбиновую кислоту, метилпарабен, пропилпарабен или бисульфит натрия. Приемлемые смазки включают в себя стеарат магния, стеариновую кислоту, олеат натрия, хлорид натрия или тальк. Приемлемые средства замедления включают в себя глицерилмоностеарат или глицерил дистеарат.

Жидкие формы для перорального введения кроме вышеупомянутых средств могут содержать жидкий носитель. Приемлемые жидкие носители включают в себя воду, масла, такие как оливковое масло, ореховое масло, кунжутное масло, подсолнечное масло, сафлоровое масло, арахисовое масло, кокосовое масло, жидкий парафин, этиленгликоль, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль, этанол, пропанол, изопропанол, глицерин, жирные спирты, триглицериды или их смеси.

Суспензии для перорального введения могут дополнительно содержать диспергирующие средства и/или суспендирующие средства. Приемлемые суспендирующие средства содержат натрия карбоксиметилцеллюлозу, метилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, поливинилпирролидон, альгинат натрия или ацетиловый спирт. Приемлемые диспергирующие средства включают в себя лецитин, полиоксиэтиленовые сложные эфиры жирных кислот, такие как стеариновая кислота, полиоксиэтиленсорбита моно- или ди-олеат, -стеарат или -лаурат, полиоксиэтиленсорбитана моно- или ди-олеат, -стеарат или -лаурат и т.п.

Эмульсии для перорального введения могут дополнительно содержать одно или несколько эмульгирующих средств. Приемлемые эмульгирующие средства включают в себя диспергирующие средства, показанные выше, или природные камеди, такие как гуаровая камедь, акациевая камедь или трагакантовая камедь.

Терапевтически эффективный уровень дозы композиции в соответствии с настоящим изобретением для какого-либо конкретного пациента будет зависеть от ряда факторов, в том числе любого одного или нескольких из типа воспалительного состояния, подлежащего лечению, и стадии воспалительного состояния; активности применяемого активного средства; применяемой композиции; возраста, веса тела, общего состояния здоровья, пола и режима питания пациента; времени введения; скорости секвестрации соединений; длительности лечения; лекарственных средств, применяемых в комбинации или совмещаемых с лечением, вместе с другими связанными факторами, хорошо известными в медицине.

Специалист в данной области сможет с помощью традиционного эксперимента определить эффективную, нетоксичную дозировку, которая потребуется для лечения соответствующих опухолей. Чаще всего это будет определяться в каждом конкретном случае индивидуально.

В конкретных вариантах осуществления в соответствии с настоящим изобретением предпочтительная доза интерлейкина, например IL-2, составляет порядка от

приблизительно 1 МЕ до приблизительно 3 миллионов МЕ в сутки, хотя предусматриваются дозы выше и ниже этого диапазона. Особенность настоящего изобретением заключается в том, что введение через слизистую интерлейкина позволяет значительно снизить применяемые дозы интерлейкина по сравнению с подходами известного уровня при сохранении терапевтического эффекта. Следовательно, минимальная доза интерлейкина, которую можно использовать в соответствии с настоящим изобретением, может быть определена специалистом в данной области, при условии, что доза достаточна для достижения терапевтического эффекта. Что касается максимальной дозы, она также может быть определена специалистом в данной области с учетом факторов, обсуждаемых в настоящем документе. Например, в некоторых случаях подходящей может быть доза до нескольких миллионов МЕ в сутки. Как правило, применяемая доза интерлейкина в соответствии с настоящим изобретением составляет от приблизительно 1 МЕ до приблизительно 100000 МЕ в сутки, от приблизительно 10 МЕ до приблизительно 50000 МЕ в сутки, от приблизительно 100 МЕ до приблизительно 20000 МЕ в сутки или от приблизительно 500 МЕ до приблизительно 10000 МЕ в сутки. В зависимости от ряда факторов, описанных в настоящем документе, в том числе от природы и тяжести воспалительных состояний, подлежащих лечению, суточная доза, вводимая пациенту, нуждающемуся в этом, могут составлять порядка приблизительно 100 МЕ, 200 МЕ, 300 МЕ, 400 МЕ, 500 МЕ, 600 МЕ, 700 МЕ, 800 МЕ, 900 МЕ, 1000 МЕ, 2000 МЕ, 3000 МЕ, 4000 МЕ, 5000 МЕ, 6000 МЕ, 7000 МЕ, 8000 МЕ, 9000 МЕ, 10000 МЕ, 11000 МЕ, 12000 МЕ, 13000 МЕ, 14000 МЕ, 15000 МЕ, 18000 МЕ, 20000 МЕ, 25000 МЕ, 30000 МЕ, 35000 МЕ, 40000 МЕ, 45000 МЕ и приблизительно 50000 МЕ.

Специалисту в данной области будет очевидно, что оптимальное количество и интервал индивидуальных дозировок будут определяться природой и степенью воспалительных состояний, подлежащих лечению, формы, пути и участка введения, а также от особенности конкретного индивидуума, подлежащего лечению. Кроме того, такие оптимальные состояния могут быть определены традиционными техниками, известными специалистам в данной области. Например, субъекту можно вводить желаемую суточную дозу одной единичной дозированной формой раз в сутки или двумя единичными дозированными формами, вводимыми дважды в сутки.

Специалисту в данной области также будет очевидно, что оптимальный курс лечения, например, несколько доз композиции, данных в сутки в течение определенного количества суток, может быть определен специалистом в данной области с использованием традиционных тестов определения курса лечения.

Способы и композиции в соответствии с настоящим изобретением могут быть использованы в комбинации с другими видами терапии для лечения воспалительных состояний. Например, IL-2 могут быть комбинированы с одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами, в том числе, например, другими иммуномодуляторными средствами, такими как кортикостероиды или другие цитокины или хемокины, например, интерлейкины или интерферон. Приемлемые средства, которые могут быть использованы в комбинации с композициями в соответствии с настоящим изобретением, будут известны специалистам в данной области.

Для такой комбинированной терапии каждый компонент комбинации может быть введен одновременно или последовательно в любом порядке или в разное время, чтобы обеспечить желаемый терапевтический эффект. Раздельное введение может быть предпочтительным для компонентов, подлежащих введению одинаковым путем введения, хотя не обязательно это должно быть так. В качестве альтернативы,

компоненты могут быть составлены вместе в одну дозированную единицу в качестве комбинированного продукта.

Все публикации, упомянутые в этом описании, включены в настоящий документ посредством ссылки. Ссылка в настоящем описании на какую-либо публикацию известного уровня техники (или на информацию, полученную из нее), или на какой-либо объект, который является известным, не рассматривается и не должен рассматриваться как подтверждение, или признание, или в любой форме указание того, что публикация известного уровня техники (или информация, полученная из нее) или известный объект представляет часть известного уровня техники в этой области, к которой относится настоящее описание.

Специалистам в данной области будет очевидно, что многочисленные вариации и/или модификации могут быть сделаны для настоящего изобретения без отступления от идеи или объема настоящего изобретения, как широко описано. Поэтому варианты осуществления настоящего изобретения следует рассматривать во всех отношениях как иллюстративные и неограничивающие.

Далее настоящее изобретение будет более подробно описано посредством ссылки на следующие конкретные примеры, которые не следует рассматривать как каким-либо путем ограничивающие объем настоящего изобретения.

Примеры

Пример 1 - Вводимый через слизистую рекомбинантный IL-2 человека и ревматоидный артрит

Для определения эффективности введения через слизистую IL-2 при лечении ревматоидного артрита использовали крысиную модель, у которой ревматоидный артрит индуцировали введением 0,1 мл полного адьюванта Фрейнда в правую заднюю лапу самцов крыс (вес тела 210-240 г). Использовали крысиные модели для исследования патогенеза ревматоидного артрита (RA), поскольку крысы чрезвычайно чувствительны к индуцированию артрита адьювантами.

Рекомбинантный IL-2 человека приобретали у Beijing Four Rings Bio Pharmaceutical Co., Ltd. (Beijing, People's Republic of China). Он представлял собой таблетированную форму, при чем каждая таблетка содержала 1,2 миллиона МЕ IL-2 на таблетку и хранилась при 25°C. Путем добавления воды таблетки IL-2 растворяли с образованием пасты. Затем получали различные концентрации IL-2, как требовалось для экспериментов, путем добавления различных количеств воды перед применением. Крыс произвольно распределяли в пять групп из десяти животных, как показано в таблицах 1 и 2 ниже. Две дозы (высокую дозу и низкую дозу) IL-2, как подробно описано в таблицах 1 и 2, вводили либо внутривенной инъекцией в хвост, либо подъязычно в форме пасты из таблеток начиная с 16 дня. Опухание стопы крыс определяли на 19 и 23 дни после введения адьюванта Фрейнда для индуцирования артрита. Определяли баллы опухания на стопе, в которой измеряли опухание. В таблице 1 и на фигуре 1 показан бал опухания на правой задней лапе крыс (на стопе которых индуцировали артрит), в то время как в таблице 2 и на фигуре 2 показаны баллы опухания ("индекс RA") на остальных трех стопах крыс.

Как можно видеть из таблиц и на фигурах 1 и 2, подъязычно введенный и инъецированный IL-2 существенно снижает опухание при ревматоидном артрите ($p < 0,01$). Из индекса RA (таблица 2 и фигура 2A) можно видеть, что подъязычное введение обеспечивает более раннее облегчение (19 день) опухания, чем введение инъекцией. Не наблюдали токсичность в какой-либо из групп лечения.

Таблица 1

Баллы опухания ¹ в крысиной модели ревматоидного артрита				
Группа	Доза лечения	16 день ²	19 день	23 день ³
Модель RA (контроль)	-	0,22±0,07	0,37±0,16	0,64±0,16
Подъязычный IL-2 (низкая)	4000 МЕ/кг BW дважды в сутки (7 дней)	0,22±0,13	0,31±0,22	0,25±0,12**
Подъязычный IL-2 (высокая)	12000 МЕ/кг BW дважды в сутки (7 дней)	0,39±0,21	0,33±0,17	0,29±0,16**
Инъекция IL-2 (низкая)	4000 МЕ/кг BW ежедневно (7 дней)	0,36±0,18	0,41±0,24	0,26±0,10**
Инъекция IL-2 (высокая)	16000 МЕ/кг BW ежедневно (7 дней)	0,35±0,10	0,38±0,17	0,32±0,14**
1 = опухание на правой задней стопе; 2 = начало дозирования; 3 = окончание дозирования;				
** = p<0,01.				

Баллы опухания ¹ в крысиной модели ревматоидного артрита				
Группа	Доза лечения	16 день ²	19 день	23 день ³
Модель RA (контроль)	-	6,10±0,32	5,90±0,73	5,60±0,70
Подъязычный IL-2 (низкая)	4000 МЕ/кг BW дважды в сутки (7 дней)	6,30±0,48	4,50±0,85**	4,56±1,13*
Подъязычный IL-2 (высокая)	12000 МЕ/кг BW дважды в сутки (7 дней)	7,00±0,50	4,33±0,87**	4,22±0,67**
Инъекция IL-2 (низкая)	4000 МЕ/кг BW ежедневно (7 дней)	6,30±0,48	5,60±0,70	4,30±0,67**
Инъекция IL-2 (высокая)	16000 МЕ/кг BW ежедневно (7 дней)	6,30±0,67	5,60±0,97	3,40±0,52**
1 = общий бал не вызывающего сомнений опухания на трех стопах; 2 = начало дозирования; 3 = окончание дозирования; * = p<0,05; ** = p<0,01.				

Пример 2 - Подъязычное введение рекомбинантного IL-2 человека и синусит

Также с использованием крысиной модели исследовали способность подъязычно вводимого рекомбинантного IL-2 человека для уменьшения симптомов синусита и обращенных характеристических физиологических изменений, вызванных синуситом. В этом случае синусит индуцировали у крыс с весом тела 130-150 г путем внутриназального введения 10% толуол-2,4-диизоцианата (TDI) в 10 мкл оливкового масла ежедневно в течение 7 суток, затем каждые вторые сутки. Контрольные животные получали 10 мкл оливкового масла только внутриназально в течение такого же периода.

Крыс произвольно распределяли на четыре группы по пять животных, как показано в таблице 3 ниже. Как подробно описано в таблице 3, две дозы (высокая доза и низкая доза) IL-2 вводили подъязычно в форме пасты из таблеток дважды в сутки в течение 14 дней, начиная с 8 дня. Крыс умерщвляли в последний день эксперимента (15 день после введения медицинского препарата) и удаляли тимус и селезенку для взвешивания.

Как показано в таблице 3 и на фигуре 3, 1000 МЕ IL-2 существенно (p<0,05) снижало тимусный индекс (вес тимуса в г/100 г веса тела), тогда как 4000 МЕ IL-2 существенно (p<0,05) снижало индекс селезенки (вес селезенки в г/100 г веса тела). Не наблюдали токсичность в какой-либо из групп лечения.

Индексы тимуса и селезенки в крысиной модели синусита			
Группа	Вес тела в конце эксперимента	Тимусный индекс (г/100 г)	Индекс селезенки (г/100 г)
Нормальная ¹	292,5±56,2	0,21±0,02	0,25±0,036
Модель синусита (контроль) ²	267,0±53,2	0,22±0,05	0,31±0,06
Подъязычный IL-2 (высокая) ³	247,5±52,8	0,18±0,05	0,25±0,04*
Подъязычный IL-2 (низкая) ⁴	275,0±54,5	0,16±0,021*	0,28±0,03

1 = 10 мкл оливкового масла внутриназально ежесуточно в течение 7 суток, затем каждые вторые сутки; 2 = 10% TDI в 10 мкл оливкового масла внутриназально ежесуточно в течение 7 суток, затем каждые вторые сутки; 3 = 4000 МЕ/кг BD 8 день, затем + 10% TDI в 10 мкл оливкового масла внутриназально ежесуточно в течение 7 суток, затем каждые вторые сутки; 4 = 1000 МЕ/кг BD 8 день, затем + 10% TDI в 10 мкл оливкового масла внутриназально ежесуточно в течение 7 суток, затем каждые вторые сутки; * = $p < 0,05$ cf контроль.

С использованием тех же групп лечения наблюдали возникновение различных поведенческих реакций, ассоциированных с синуситом у крыс, особенно частоту потирания носа, чихание и степень выделения из носа. Сразу же после введения TDI у крыс наблюдали изменение поведения и оценивали в баллах в течение 30 минут. Определяли балл поведения на основе комбинации вышеупомянутых поведенческих реакций, что показана в таблице 4 ниже, на 7, 9 и 15 дни. Как можно видеть из этой таблицы и представленных графически на фигуре 4 результатов на 15 день, 4000 МЕ IL-2 существенно ($p < 0,01$) снижало наблюдаемые симптомы индуцированного TDI синусита.

Таблица 4

Поведенческие баллы ¹ в крысиной модели синусита				
Группа ²	Доза лечения	7 день	9 день	15 день
Нормальная	-	1	1	1
Модель синусита (контроль)	-	6,43	6,8	6,8
Подъязычный IL-2 (высокая)	4000 МЕ/кг BW дважды в сутки	6,45	4,6	3,95
Подъязычный IL-2 (низкая)	1000 МЕ/кг BW дважды в сутки	6,35	5,4	5,4

1 = общий балл на основе частоты потирания носа, чихания и степени выделения из носа; 2 = группы как в таблице 3.

Пример 3 - Ситуационные исследования подъязычного введения рекомбинантного IL-2 человека у людей

(i) P1: Псориаз

Субъекту-человеку (P1), страдающему от тяжелого псориаза на локтях и тыльной стороне рук назначали ежесуточный режим 5000 МЕ рекомбинантного IL-2 человека, вводимого подъязычно в таблетированной форме в течение периода 2 месяца. На изображениях, показанных на фигуре 5, четко видно снижение тяжести и распространения псориаза на обоих локтях и руках P1.

(ii) P2: Ревматоидный артрит

Субъекта-человека (P2) с диагнозом ревматоидного артрита в течение многих лет лечили рядом противовоспалительных лекарственных средств, в том числе метотрексатом. После перенесения обострения воспаления P2 назначили режим - "Leflunomide" (Arava) вместе с "Methotrexate" и "Mobic". Уровень воспаления заметно снизился, однако количество лейкоцитов упало ниже нормального уровня, сделав необходимым снижение метотрексата от 20 до 10 мг в неделю и, главное, снижение лефлуномида от 100 до 80 мг в неделю. P2 придерживался сначала ежесуточного режима 5000 МЕ рекомбинантного IL-2 человека, вводимого подъязычно в таблетированной форме. P2 отмечал снижение опухания рук, в частности, увеличенные суставы пальцев и кости пальцев стали более очерченными. Кроме того, P2 страдал от больших мозолей ('ревматоидная стопа') на подъеме правой стопы, где кости опускались. Это было источником большого дискомфорта и боли в течение многих лет.

В ряде случаев воспаление под мозолью инфицировалось и требовало вскрытия с последующими антибиотиками. В 2008 году P2 сделал рентгенограмму для стоп и проконсультировался с 2 хирургами, которые рекомендовали хирургическую процедуру под названием интерпозиционная артропластика Dwyer (MTP) из-за разрушения хряща в межфаланговых суставах, что приводило к образованию мозоли. Поскольку

принимаемые подъязычные таблетки IL-2 успокаивали боль, подлежащее воспаление снизилось. То же самое отмечалось для «шишки» рядом с большим пальцем на каждой стопе. Теперь они намного меньше реагировали и опухали. Кроме того, после длительных проблем с разрушением зубов и вертикальными трещинами ряда корней, Р2 перенес хирургическое вмешательство по удалению 10 зубов. Зубной хирург выразил удивление по поводу отличного заживления после хирургического вмешательства, которое объясняли терапией IL-2. Наблюдаемые улучшения с IL-2 наблюдали без очевидных признаков побочного эффекта.

(iii) P3: Артрит и синдром раздраженного кишечника

Субъект-человек (P3) страдал от ряда заболеваний, в том числе от артритной боли, экземы и синдрома раздраженного кишечника, и получал ряд видов лечения этих состояний в течение приблизительно 10-летнего периода с переменными результатами. Затем P3 начал курс лечения, включающий ежедневный режим 5000 МЕ рекомбинантного IL-2 человека, вводимого подъязычно в таблетированной форме. P3 сразу же отметил снижение всех типов артритной боли в день начала терапии IL-2.

Наиболее значительным было в левом большом пальце. До лечения IL-2 основание большого пальца было болезненным, и P3 потерял хватку левой руки из-за слабости большого пальца. В течение нескольких дней после начала терапии IL-2 боль исчезла, и вернулось нормальное функционирование и использование большого пальца.

Улучшения продолжались в течение нескольких месяцев, и большинство форм артритной боли исчезло или значительно утихло без очевидных признаков побочного эффекта. За период приблизительно пять месяцев улучшения подвижности и снижение симптомов артрита стали гораздо значительней, чем испытанное P3 когда-либо ранее, вернув уровень подвижности, которой у P3 не было в течение по меньшей мере 17 лет.

Диетические предостережения, которые P3 получил ранее, также были проигнорированы без ущерба во время и после подъязычной терапии IL-2.

В течение некоторого времени P3 принимал дапсон из-за состояния целиакии. Хотя, как позже выяснилось, это был неправильный диагноз (правильным состоянием был синдром раздраженного кишечника), дапсон эффективно лечил диарею. Врач объяснял это противовоспалительной природой дапсона. Подъязычная терапия IL-2 смогла значительно продлить период защиты, обеспеченной дапсоном. До терапии IL-2 необходимая дозировка дапсона составляла одну таблетку каждые семь дней (приблизительно). С IL-2 положительный эффект был продлен до приблизительно десяти дней. С прекращением терапии IL-2 P3 пришлось возобновить прием дапсона каждые семь дней или меньше.

(iv) P4: Ревматоидный артрит

P4 страдал от ревматоидного артрита в течение более 20 лет и применял различные виды лечения для контролирования воспаления, в том числе метотрексат. Однако P4 продолжал страдать от чрезмерной боли и усталости. В течение нескольких месяцев после начала подъязычной терапии с 5000 МЕ IL-2 ежедневно в таблетированной форме P4 сообщил о значительном снижении уровней боли и об исчезновении проблем, вызванных ревматоидным артритом.

(v) P5 Системная красная волчанка (SLE)

P5 страдал от SLE, которая вызывала опухание рук, стоп и некоторых суставов. В течение 10 дней после начала подъязычной терапии с 5000 МЕ IL-2 ежедневно в таблетированной форме P5 сообщила о значительном снижении опухания ее рук и стоп.

Пример 4 - Типичные композиции для лечения

В соответствии с вариантами осуществления в соответствии с настоящим

изобретением, как раскрыто в настоящем документе, IL-2, типично вводили в форме фармацевтической композиции, приемлемой для перорального, наиболее типично подъязычного введения. Пример композиции в соответствии с настоящим изобретением приводится ниже. Следующее следует рассматривать лишь как иллюстративный пример, а не как ограничение объема настоящего изобретения каким-либо образом.

Пример 4А - Композиция для перорального введения в таблетированной форме

Композиция, содержащая IL-2, в форме таблетки может быть получена заключением IL-2 в пленку, содержащую одно или несколько из желатина, мальтодекстрина, карбоксиметилцеллюлозы, глюкозы, карбомера, и покрытием пленкой ядра таблетки, сделанного из известных фармацевтически приемлемых ингредиентов, выбранных из крахмала, фосфатов кальция, карбоксиметилэтилцеллюлозы, маннита, мальтозы, талька и стеарата магния.

Пример 4В - Композиция для перорального введения в капсулированной форме

Композиция, содержащая IL-2, в форме капсулы, может быть получена путем наполнения стандартной состоящей из двух частей твердой желатиновой капсулы IL-2 в порошковой форме, 100 мг лактозы, 35 мг талька и 10 мг стеарата магния.

Пример 5 - Фармакокинетика rhIL-2, вводимого крысам подъязычно

Распределение в ткани рекомбинантного IL-2 человека (rhIL-2) определяли с использованием преципитационных анализов с ^{125}I -меченным rhIL-2 и ТСА

(трихлоруксусной кислотой). Одну дозу 32000 МЕ ^{125}I -меченного rhIL-2 вводили подъязычно 13 самцам и 13 самкам зрелых, здоровых крыс Wistar. После введения крыс умерщвляли через 10 минут, 30 минут, 1 час и 3 часа и определяли распределение rhIL-2 в различных тканях и органах. Самый нижний предел количественного определения (LLOQ) составлял 6 МЕ-эквивалент/г (мл).

В порядке убывания ^{125}I -меченный rhIL-2 обнаруживали в желудке, подъязычной ткани, двенадцатиперстной кишке, тонкой кишке, моче, сыворотки крови, почке, подчелюстном лимфатическом узле, подчелюстной железе, подвздошном лимфатическом узле, поджелудочной железе, суставах костей, печени, тимусе, надпочечной железе, чревных лимфатических узлах, сердце, селезенке и головном мозге. Таким образом, самые высокие концентрации обнаруживали в желудочно-кишечном тракте, подъязычной ткани, мочевыделительной системе, лимфатических узлах рядом с участком введения и подчелюстных лимфатических узлах. Концентрации ^{125}I -rhIL-2, обнаруженные в головном мозге, были очень низкими, что показало отсутствие транспорта молекулы сквозь гематоэнцефалитический барьер.

Следует отметить, что радиоактивно меченный IL-2 вводили крысам в жидкой форме и путем помещения жидкости крысам под язык. Невозможно гарантировать, что вся жидкость остается под языком крыс, поскольку жидкость всасывается подъязычно, и как следствие, большая часть жидкости проглатывается. Это объясняет высокую концентрацию ^{125}I -rhIL-2 в желудочно-кишечном тракте. Период полувыведения IL-2 в сыворотке составляет всего 15 минут (у людей). Таким образом, любой IL-2, который всасывается в тело, будет быстро удаляться почками. Это объясняет высокие концентрации IL-2 в моче и в почках. Тем не менее, значительное количество ^{125}I -rhIL-2 в лимфоузлах демонстрирует, что молекула успешно проходит через поверхность слизистой оболочки в лимфатическую ткань и лимфатические узлы, где может быть стимулирована иммунная реакция.

В ходе данных экспериментов, сравнивали специфическую активность и

иммунокомпетентность радиоактивно меченного rhIL-2 с такой же молекулой, но не радиоактивно меченной, и не обнаружили существенного различия (данные не показаны).

(57) Формула изобретения

1. Способ лечения воспалительного состояния у субъекта, включающий подъязычное введение субъекту интерлейкина-2 (IL-2) в дозе от 4000 МЕ до 12000 МЕ в сутки, и где воспалительное состояние выбрано из артрита, синусита, аллергических нарушений, псориаза, акне, воспалительных заболеваний кишечника, синдрома хронической усталости, аутоиммунных нарушений, синдрома Шёгрена, воспаления предстательной железы, воспаления мочевыводящих путей, панкреатита, васкулита, диабета, подагры или сопутствующего состояния и периодической боли.

2. Способ по п. 1, где IL-2 является рекомбинантным IL-2.

3. Способ по п. 1 или 2, где IL-2 является IL-2 человека.

4. Способ по п. 1, где воспалительным состоянием является хроническое воспалительное заболевание.

5. Способ по п. 1, где артритом является ревматоидный артрит.

6. Способ по п. 1, где аллергическим нарушением является астма.

7. Способ по п. 1, где аутоиммунным нарушением является системная красная волчанка.

8. Способ по п. 1, где IL-2 составлен в фармацевтическую композицию, содержащую один или несколько фармацевтически приемлемых носителей, наполнителей или разбавителей.

9. Способ по п. 8, где фармацевтическая композиция находится в твердой единичной дозированной форме.

10. Способ по п. 9, где твердая единичная дозированная форма содержит таблетку или капсулу.

11. Способ по п. 8, где фармацевтическая композиция находится в форме геля.

12. Способ по п. 1, дополнительно предусматривающий введение одного или более дополнительных противовоспалительных средств.

13. Применение интерлейкина-2 (IL-2) для лечения воспалительных состояний, где лекарственное средство вводится подъязычно в дозе от 4000 МЕ до 12000 МЕ в сутки, и где воспалительное состояние выбрано из артрита, синусита, аллергических нарушений, псориаза, акне, воспалительных заболеваний кишечника, синдрома хронической усталости, аутоиммунных нарушений, синдрома Шегрена, воспаления предстательной железы, воспаления мочевыводящих путей, панкреатита, васкулита, диабета, подагры или сопутствующего состояния и периодической боли.

1

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> Ко Сай Ин

<120> Противовоспалительные композиции

<130> 35011298

<160> 3

<170> PatentIn версия 3.1

<210> 1

<211> 153

<212> белок

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met	Tyr	Arg	Met	Gln	Leu	Leu	Ser	Cys	Ile	Ala	Leu	Ser	Leu	Ala	Leu
1				5					10					15	

Val	Thr	Asn	Ser	Ala	Pro	Thr	Ser	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu
				20				25					30		

Gln	Leu	Glu	His	Leu	Leu	Leu	Asp	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile
		35					40						45		

2

2

Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
50 55 60

Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
65 70 75 80

Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
85 90 95

Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile
100 105 110

Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala
115 120 125

Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe
130 135 140

Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
145 150

<210> 2

<211> 133

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

3

20

25

30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Lys Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 3

<211> 405

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 3

atgcctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat
60

4

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc
120

acattttaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa
180

gaagaactca aacctctgaa ggaagtgcta aatttagctc aaagcaaaaa ctttcactta
240

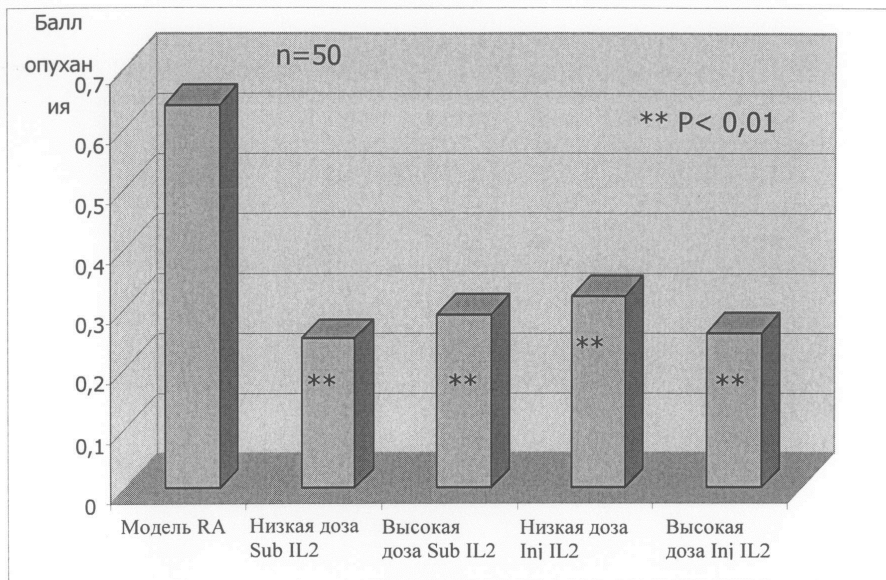
agaccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa
300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga
360

tggattacct tttctcaaag catcatctca acactgactt gataa
405

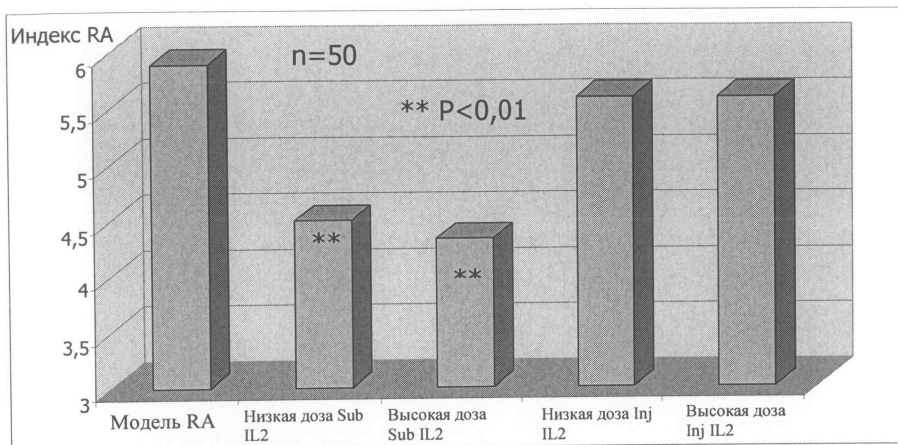
1/5

ФИГУРА 1

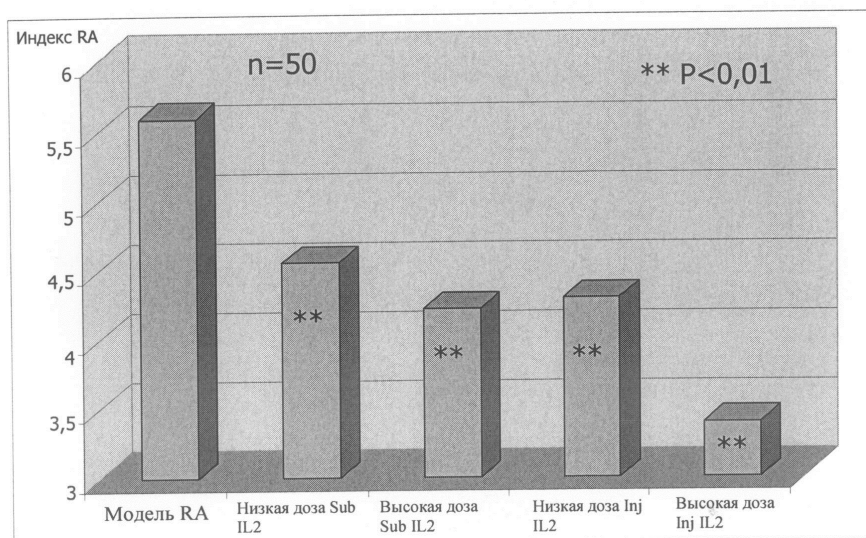


2/5

ФИГУРА 2А

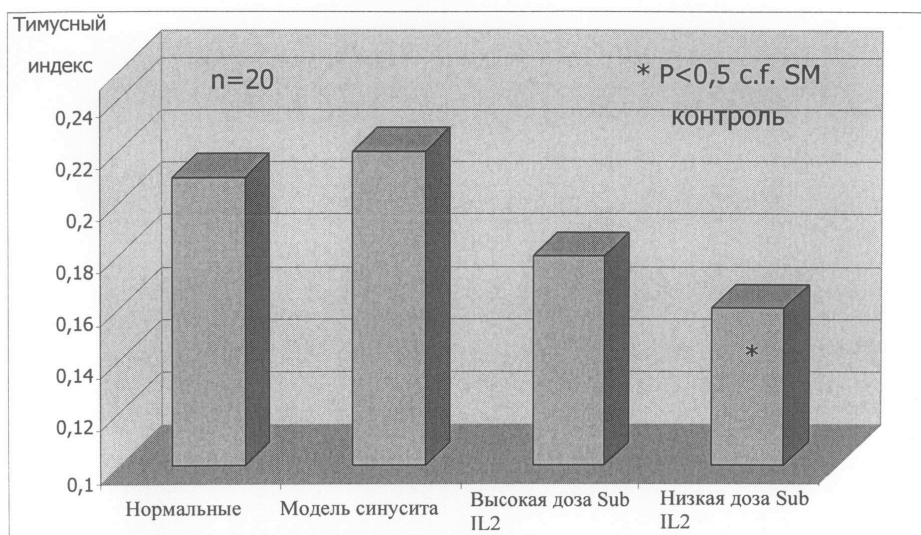


ФИГУРА 2В

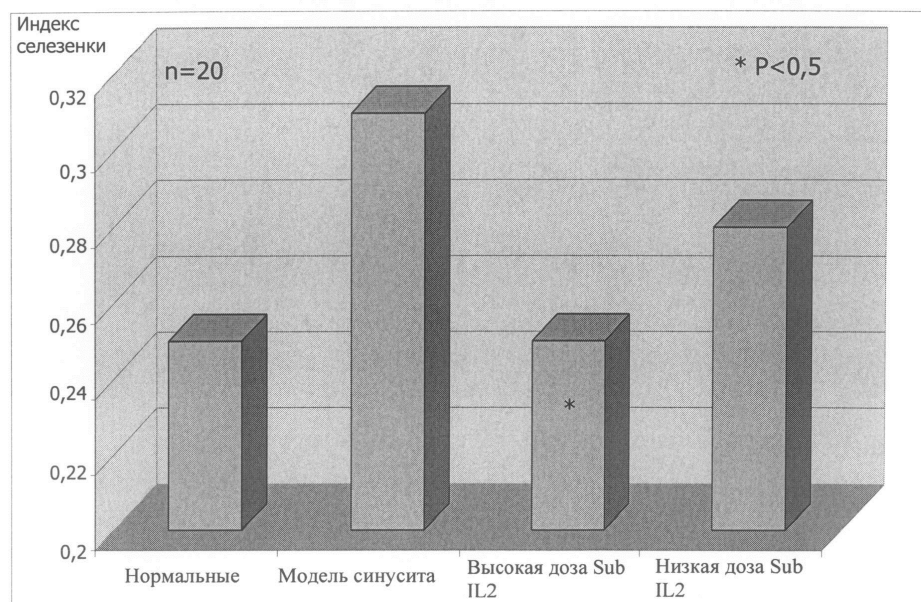


3/5

ФИГУРА 3А

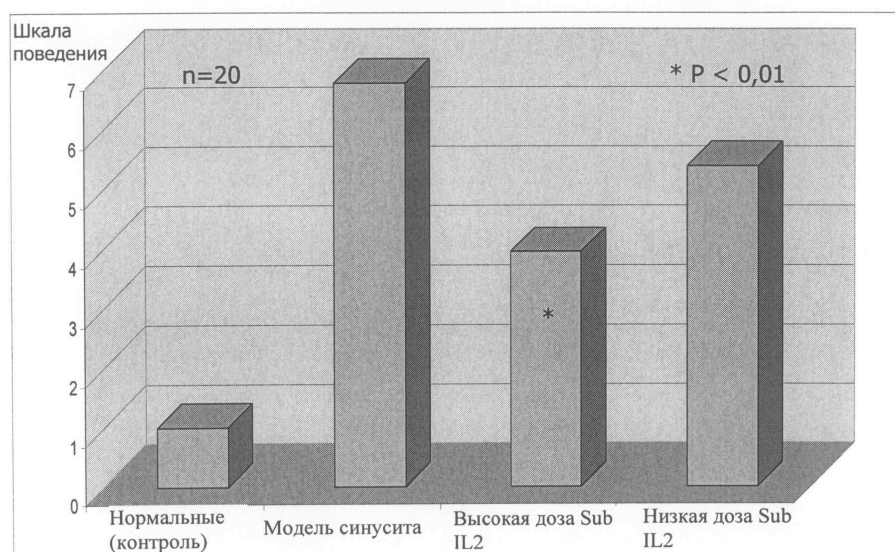


ФИГУРА 3В



4/5

ФИГУРА 4



5/5

ФИГУРА 5



11-2009



1-2010

