

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

2003-308

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.:

A61K 31/4196

A61K 31/70

A61P 31/12

A61P 1/16

A61P 35/00

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **21.08.2001**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **22.08.2000 13.10.2000**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **2000/226869 2000/240627**

(33) Země priority: **US US**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu:

(Věstník č: 3/2004)

(86) PCT číslo: **PCT/US2001/026057**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 2002/015904**

(71) Přihlašovatel:

RIBAPHARM INC., Costa Mesa, CA, US

(72) Původce:

Lau Johnson, Newport Beach, CA, US

Hong Zhi, Aliso Viejo, CA, US

(74) Zástupce:

**PATENTSERVIS PRAHA a.s., Jivenská 1273, Praha 4,
14000**

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Farmaceutický přípravek pro léčení virové nebo
neoplastické nemoci hepatocitu**

(57) Anotace:

Použití látky pro přípravu farmaceutického přípravku pro
léčení virové nebo neoplastické nemoci hepatocitu, kde látka
má karboxamidovou skupinu, a kde hepatocyt obsahuje
transportér pro transport látky přes plasmatickou membránu
hepatocytu, přičemž transport látky není významně inhibován
ribavirinem, a kde transportér je membránově asociovaný
protein nebo proteinový komplex, který napomáhá průniku
látky plasmatickou membránou do hepatocytu.

Farmaceutický přípravek pro léčení virové nebo neoplastické nemoci hepatocitu

Oblast techniky

Vynález se týká farmaceutického přípravku pro léčení virové nebo neoplastické nemoci

Dosavadní stav techniky

Existuje množství farmakologicky aktivních molekul, které jsou do organismu podávány orálně nebo parenterálně (často savčího, typicky lidského). Tyto látky se vyznačují aktivitou uvnitř buňky, například v cytoplasmě nebo jádře. Tyto molekuly tudíž musí projít buněčnou membránou, než se dostanou na místo jejich působení. Dopravování antivirových léčiv (kromě jiných různých farmakologicky aktivních molekul) do cytoplasmy nebo jádra je obzvláště důležité pro jejich důkladnou protivirovou aktivitu.

Je známo přespočet modifikací, které ulehčují transport těchto molekul do cílové buňky. Například, některé modifikace zahrnují části celého substrátu buněčného transportéru (například glukózy pro GLUT-1, polybasické aminokyseliny pro asialoglykoprotein atd.). Bohužel tyto modifikace často zvyšují molekulovou hmotnost, nebo přidávají nevhodnou metabolickou zátěž k farmakologicky aktivní molekule. V závislosti na chemické struktuře molekuly nebo typu její modifikace může dojít k vychytávání, zprostředkovanému receptorem přes různé membránové transportéry. Například, různá monokarboxylátová léčiva mohou být importována pomocí monokarboxylátového transportéru, zatímco o některých endogenních aminech a xenobiotických je známo, že jsou do buňky importovány cestou transportéru

organických kationtů. Další transportéry importují do buňky nukleosidy v závislosti na jejich koncentraci nebo nezávisle na jejich koncentraci. Přehledný článek o různých membránových transportérech byl publikován autorem Lee, V.H (Eur. J. Pharm.Sci.11, Suppl. 2 (2 000):41-50) a je uveden v citované literatuře.

Další modifikace zahrnují oblast- nebo orgán-specifické modifikace. Například, adukty žlučových kyselin zvyšují oběh farmakologicky aktivních molekul v hepatobiliárním systému. Nicméně, tyto modifikace mají sklon ke snižování rozpustnosti látky, a tudíž potenciálně snižují celkovou dosažitelnou koncentraci. V jiném příkladu, modifikace na fosfátové skupině (například tvorba fosfonátového esteru) proměňuje molekulu léčiva na proléčivo, které se vyznačuje relativně vysokou orgánovou specificitou. Toto proléčivo je posléze opětovně proměněno v léčivo orgán-specifickým enzymatickým systémem. (viz například US Patent 6 225 460 nebo US Patent 6 110 903). Další modifikace zahrnují protilátky nebo jejich fragmenty, které zvyšují cílovou specificitu farmakologicky aktivní molekuly nesoucí tuto protilátku. Navzdory relativně vysoké selektivitě protilátek, jsou tyto problematické ve smyslu imunogenicity a náročnosti jejich přípravy a purifikace.

Ačkoliv ve vědecké literatuře je mnoho odkazů na různé modifikace farmakologicky aktivních molekul, všechny nebo jejich většina má jednu nebo vícero nevýhod. Tudíž je neustále potřeba zlepšených metod a sloučenin pro zvýšení specificity farmakologicky aktivních molekul.

Podstata vynálezu

Vynález se týká použití látky pro přípravu farmaceutického přípravku pro léčení virové nebo neoplastické nemoci hepatocitu, kde látka má karboxamidovou skupinu, a kde hepatocyt obsahuje transportér pro transport látky přes plasmatickou membránu hepatocytu, přičemž transport látky není významně inhibován ribavirinem, a kde transportér je membránově asociovaný protein nebo proteinový komplex, který napomáhá průniku látky plasmatickou membránou do hepatocytu.

Vyrobený farmaceutický přípravek je určený k dopravování léčiv do hepatocytů a k inhibici růstu flavivirů v buněčném systému.

Jedním z hledisek předkládaného vynálezu farmaceutický přípravek určený k dopravě léčiva do hepatocytu, která zahrnuje krok, využívající antivirovou nebo protinádorovou sloučeninu, obsahující karboxamidinovou skupinu. Dalším krokem je důkaz, že hepatocyt obsahuje transportér, který transportuje sloučeninu přes plasmatickou membránu hepatocytu, přičemž transport sloučeniny není významným způsobem inhibován ribavirinem, a dále, transportér je vystaven účinku sloučeniny.

Jiným hlediskem předkládaného vynálezu je, že uvažovaná sloučenina obsahuje nukleosid s heterocyklickou bází napojenou na cukr, kde báze je s výhodou monocyklická báze (napří. 1,2,4-triazol) a cukr s výhodou zahrnuje beta-ribofuranozu. Obzvláště výhodné sloučeniny zahrnují D- a L- ViramidinTM.

Dalším hlediskem předkládaného vynálezu je, že v uvažované sloučenině je karboxamidinová skupina v hepatocytu přeměněna na karboxamidovou skupinu, a dále je s výhodou, že je

sloučenina enzymaticky fosforylována a tudíž je akumulována v hepatocytu. Dalším hlediskem je, že hepatocyt je napaden například virovou infekcí. Uvažované transportéry specificky zahrnují ATP-závislé transportéry a transmembránové proteiny.

Dalším hlediskem předkládaného vynálezu je metoda inhibice růstu virů z čeledě flavivirů, v buněčném systému, přičemž metoda zahrnuje krok, ve kterém se podává farmakologická

sloučenina nesoucí karboxamidinovou skupinu. V dalším kroku je k buňce v buněčném systému přidán farmakologický prostředek, který je transportován přes buněčnou membránu buňky, přičemž transport prostředku není významně inhibován ribavirinem.

Další obrázky, charakteristiky, hlediska a výhody předkládaného vynálezu budou zřejmé z dalšího detailního popisu předkládaného vynálezu, společně s doprovodnými obrázky.

Stručný popis obrázků

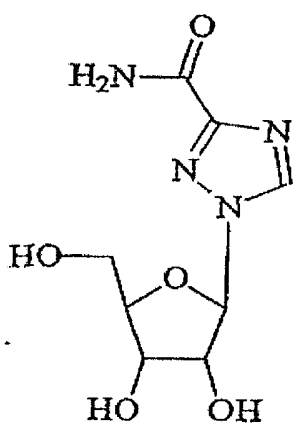
Obr. 1 znázorňuje vychytávání nukleosidů různými buněčnými liniemi jaterních buněk.

Obr. 2 znázorňuje kompetici vychytávání [^3H]-Viramidinu Ribavirinem a ViramidinemTM v HepG2 buňkách.

Obr. 3 znázorňuje graf demonstrující kompetici [^3H]-Viramidinu Ribavirinem a ViramidinemTM v HepG2 buňkách.

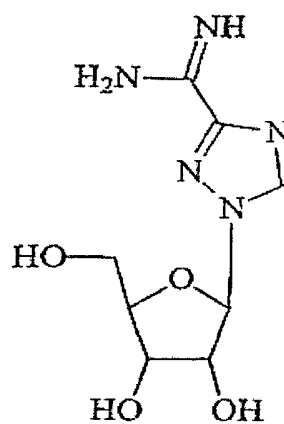
Studie zaměřené na transport 1-beta-D-ribofuranosyl-1,2,4-triazol-3-karboxamidu (Ribavirin) do lidských erytrocytů naznačovaly, že Ribavirin vstupuje do erytrocytů cestou nukleosidového transportéru citlivého na 6-[(4-nitrobenzyl)thio]-9-beta-D-ribofuranosylpurin (NBMPR). Rovněž bylo prokázáno, že transport Ribavirinu do erytrocytů lze inhibovat NBMPR v dávce IC_{50} přibližně 0,99 nM (viz např. Jarvis et al., 1998).

Překvapivě bylo zjištěno, že transport blízce příbuzné sloučeniny 1-beta-D-ribofuranosyl-1,2,4-triazol-3-karboxamidu (ViramidinTM) do hepatocytů zahrnuje jiný buněčný transportér než ten, který transportuje do hepatocytů Ribavirin. Ribavirin a ViramidinTM jsou sloučeniny obecných vzorců I a II:



Ribavirin

(I)



Viramidine

(II)

Navíc bylo zjištěno, že rychlost vychytávání do buněk, jako i celková koncentrace ViramidinuTM v hepatocytech je ve srovnání s Ribavirinem významně vyšší. ViramidinTM tudíž představuje novou cestu ke zvýšení efektivní koncentrace antivirové látky v hepatocytu.

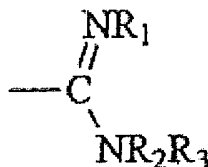
Pro zjištění, zda-li Ribavirin a ViramidinTM využívají podobného způsobu vstupu do lidských hepatocytů, předkladatelé vynálezu provedli několik experimentů. V prvním z nich byly různé linie hepatocytů (Hep3B, HepG2 a Huh7) inkubovány s různými nukleotidovými analogy (např. Ribavirin, Levovirin (L-isomer Ribavirinu) a ViramidinTM). Výsledek experimentu s vychytáváním nukleosidů je znázorněn na Obr. 1. Testovaná data vychytávání jasně naznačují, že všechna tři triazolová nukleosidová analoga jsou v testovaných hepatocytech vychytávána, ačkoli různou rychlostí a v různém množství. Specifičtěji, D-isomer Ribavirinu byl vychytáván účinněji, než L-isomer Ribavirinu. Významným zjištěním bylo, že karboxamidin-obsahující nukleosidový analog ViramidinTM byl vychytáván významně výrazněji ve všech třech testovaných buněčných liniích než karboxamidin-obsahující nukleosidová analoga v D- a L-konformaci.

Tyto a další experimenty (data neuvedena) naznačovaly, že vychytávání nukleosidů Ribavirinu a ViramidinuTM může skutečně probíhat jinými mechanismy. Pro osvětlení provedli předkladatelé vynálezu experimenty založené na měření kompetice vychytávání radioaktivně značeného Ribavirinu a ViramidinuTM a neznačeného ViramidinuTM a Ribavirinu. Výsledek těchto experimentů je uveden na obrázcích 2 a 3. Překvapivě bylo zjištěno, že oba experimenty ukazovaly na alespoň částečnou kompetici mezi Ribavirinem a ViramidinemTM, což jasně naznačuje různý mechanismus vychytávání ViramidinuTM a Ribavirinu hepatocyty.

Následně bylo uzavřeno, že se hepatocyty vyznačují buněčným vychytáváním a transportním systémem pro ViramidinTM nebo jiné karboxyamidin-obsahující sloučeniny, které jsou alespoň částečně, jestli ne zcela odlišné od transportního systému pro Ribavirin (tj. NBMPR-citlivý nukleosidový transportér). Tudíž lze předpokládat, že hepatocyt může být cíleně ovlivněn farmakologicky aktivními látkami, které selektivně využívají Viramidinového vychytávacího a/nebo transportního systému. Termín „transportní systém“ a „transportér“ je v předkládaném vynálezu používán záměnně a představuje membránově –asociovaný protein (transmembránový protein nebo protein ležící nebo zakotvený ve vnější nebo vnitřní vrstvě membrány) nebo proteinový komplex, který umožňuje prostup sloučenin do buňky přes buněčnou membránu. Typicky, tyto transportéry jsou závislé na dodávce energie (např. ATP-závislé) a mohou být dále regulovány různými faktory (např. membránový potenciál, koncentrace Ca^{2+} iontů, cGTP atd.). Navíc, vhodné transportérové systémy lze inhibovat další sloučeninou, která nese karboxamidinovou skupinu.

S ohledem na uvedené farmakologické sloučeniny si lze představit, že vhodné molekuly nezahrnují pouze ViramidinTM, ale rovněž velké množství modifikací ViramidinuTM. Například, uvažované modifikace zahrnují L-isomer ViramidinuTM. Další modifikace zahrnují hlavně mono-, di- a trifosfátové formy ViramidinuTM a všechny chemicky nebo fyziologicky relevantní proléčivové formy. Příklady těchto proléčiv jsou uvedeny v PCT přihlášce PCT/US01/08713 s názvem „Nukleosidové sloučeniny a jejich použití“, založeny 15. března 2001 a uvedeny zde v citované literatuře.

Navíc, další vhodné nukleosidy a nukleosidová analoga zahrnují nukleotidová analoga nesoucí karboxamidinovou funkční skupinu, nebo modifikovanou karboxamidinovou funkční skupinu, přičemž termín „modifikovaná karboxamidinová funkční skupina“ zahrnuje skupiny obecného vzorce



kde R₁, R₂ a R₃ nezávisle zahrnují H, alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl a alkaryl, přičemž všechny mohou být lineární nebo větvené, a další zahrnují funkční skupiny. Zvláště s výhodou použité funkční skupiny zahrnují polární, basické, kyselé, elektrofilní nebo nukleofilní skupiny (karboxylát, thiol, terciární nebo kvartérní amoniové skupiny, estery, hydroxyly, amidy, imidy, ethery atd.) a halogeny. Dalším alternativním hlediskem je, že báze vhodných nukleosidů nebo nukleotidových analogů zahrnují přírodně se vyskytující jako i syntetické

báze, obzvláště guanin, hypoxantin, uracil, cytidin, adenin, fluorouracil, monocyklické baze (např. 1,2,4-triazol) atd.

Podobně, cukerná skupina může zahrnovat přírodní a/nebo modifikované cukry. Například, v případech, kde jsou preferovány přírodní cukry, lze použít ne-ribofuranozové cukry jako například arabinozu. Na druhou stranu, syntetické cukry mohou s výhodou zahrnovat konformačně jednotné cukry, cukry obsahující substituenty jiné než -OH (např. ethynyl, halogen, alkyl) nebo deoxy- cukry. Obzvláště výhodné nukleosidy se budou vyznačovat antivirovou aktivitou proti flavivirům a obzvláště aktivitou proti viru hepatitidy C (např. HCV virus nebo pestivirus), nebo protinádorovou aktivitou proti nádorovým hepatocytům.

Je nutno rovněž zdůraznit, že existuje velké množství buněk jiných než hepatocyty (které mohou nebo nemusí být nádorové), které se vyznačují vychytáváním ViramidinuTM, který není významně ovlivněn kompeticí s Ribavirinem v koncentračním rozmezí použitém v experimentech na Obr. 2. a 3. Termín „není významně ovlivněn“ je používán ve smyslu snížení vychytávání ViramidinuTM o ne více než 15 %, s výhodou ne více než 10 %, výhodněji ne více než 8 % a nejvýhodněji o ne více než 5 %. S výhodou použité buňky jsou hepatocyty a obzvláště nemocné hepatocyty (např. virová infekce).

Lze tudíž zdůraznit, že toxicita nukleosidu nebo nukleotidové sloučeniny může být snížena tím, že se sloučenina modifikuje karboxamidinovou skupinou nebo modifikovanou karboxamidinovou skupinou jak bylo uvedeno výše, přičemž cílová buňka pro modifikovanou sloučeninu nese transportérový systém a necílová buňka jej nemá. Například, Ribavirin je velmi rychle vychytáván erytrocyty a hepatocyty a je v buňce udržován po intracelulární fosforylaci, což často vede k hemolytické anemii u pacientů, kteří jsou léčeni

vysokodávkovaným nebo dlouhodobě podávaným Ribavirinem. Zajímavé je, že ViramidinTM není vychytáván erytrocyty, zatímco je vychytáván hepatocyty. Předpokládá se, že tento rozdíl ve vychytávání lze připsat chybění vychytávacího nebo transportního systému pro ViramidinTM. Ve skutečnosti, experimenty ukazují, že ViramidinTM není vychytáván erytrocyty (data neuvedena) ve významné míře.

Navíc, díky relativně vysoké hladině deamináz (deaminázové aktivitě hepatocytů) v hepatocytech, je ViramidinTM v játrech přeměňován na Ribavirin (nepublikované výsledky) a následně je intracelulárně fosforylován na Ribavirinmonofosfát, který je typicky udržován v hepatocytech. Tudiž, vnesením karboxamidové skupiny do molekuly a využitím relativně vysoké hladiny deamináz/deaminázové aktivity hepatocytů, lze určité molekuly specificky směřovat do jater. S ohledem na uvedené molekuly nesoucí $-C(NR_1)(NR_2R_3)$ si lze představit, že různé deaminázy/deaminázové aktivity hepatocytů jsou dostatečně vysoké k tomu, aby přeměňovaly tyto sloučeniny z proléčiva do formy aktivního léčiva (např. aktivita léčiva se zvyšuje přítomností karboxamidové skupiny).

Předpokládá se, že konverze sloučeniny obsahující karboxamidin na odpovídající karboxamid obsahující sloučeninu zahrnuje enzymatickou konverzi a enzym přeměňující karboxamidin obsahující sloučeninu na odpovídající karboxamid obsahující sloučeninu (např. přeměna ViramidinuTM na Ribavirin) patří do třídy aminohydroláz. Uvažované aminohydrolázy zahrnují adenosin nebo cytosindeaminázy, aryldeaminázy a glutamátpyruvát transaminázy.

Následně, metoda dopravování léčiva do hepatocytu zahrnuje krok, ve kterém se vyskytuje antivirová nebo protinádorová sloučenina nesoucí karboxamidinovou skupinu. V dalším kroku je nutné, aby hepatocyt obsahoval transportér, který transportuje sloučeninu přes

buněčnou membránu hepatocytu, přičemž transport sloučeniny není podstatně ovlivněn ribavirinem. Termín „není podstatně ovlivněn ribavirinem“ označuje inhibici ne větší než 20 %, typičtěji ne větší než 15 %, ještě typičtěji ne větší než 10 % a nejtypičtěji ne větší než 8 %, přičemž koncentrace Ribavirinu je mezi 100 μ M a 2 mM v testovacích podmínkách jak bylo popsáno v experimentální části. V dalším kroku, transportér je vystaven sloučenině.

Dalším hlediskem předkládaného vynálezu je, že růst specifických rodin virů, specifičtěji flavivirů, může být inhibován v buněčném systému tím, že se do buněčného systému přidá některá z výše uvedených sloučenin, obzvláště hydrochloridová sůl ViramidinuTM (1-beta-D-ribofuranosyl-1,2,4-triazol-3-karboxamidin*HCl (data neuvedena). Rodina flavivirů si v poslední době získala pozornost v důsledku několika výskytů encefalitidy viru západního Nilu ve východní části USA, čehož výsledkem bylo 7 hlášených úmrtí a nejméně 62 případů těžkých onemocnění. Navíc, viry podobné viru hepatitidy C (a HCV virus) rovněž patří do rodiny flavivirů, což dále přidává na důležitosti flavivirům z hlediska zdraví populace a jednotlivce. Tudíž je oprávněné si myslet, že zvýšený transport ViramidinuTM*HCl je mimořádně výhodný pro léčbu flavivirové infekce.

Následně, infekce vhodné pro léčbu ViramidinemTM*HCl zahrnují hepatitidu C (HSV), encefalitidu způsobenou virem západního Nilu, žlutou zimnici, Kokobera virosu, encefalitidu údolí Murray, Kunjun virosu a Lagnat virosu a nemoci vzniklé na podkladě klíšťové encefalitidy, japonské encefalitidy a skupiny nemocí způsobených virem Dengue.

Tudíž, metoda inhibice růstu viru patřícího do rodiny flavivirů v buněčném systému zahrnuje krok, ve kterém je podáván farmakologický přípravek obsahující karboxamidinovou skupinu. V dalším kroku, buňce v buněčném systému je předkládán farmakologický přípravek, přičemž

sloučenina je transportována přes plasmatickou membránu buňky a přičemž transport sloučeniny není významně inhibován ribavirinem. Obzvláště výhodný je systém, který obsahuje *in vitro* (tj. Petriho miska nebo buněčná kultura) a *in vivo* systém (např. savci a obzvláště člověk). Vhodné buňky zahrnují hepatocyty infikované virem.

ViramidinTM*HCl (bud' v D- anebo L- konformaci) je podáván v jakékoli vhodné farmakologické podobě a podle jakéhokoli vhodného protokolu. Podávání může být orální, parenterální (zahrnující podkožní injekce, intravenózní, intramuskulární, intrasternální injekce nebo infúzní techniky), inhalační (inhalačním sprejem), rektální, místní atd. Dávkové formulace zahrnují běžné netoxické farmakologicky přípustné nosiče, adjuvancia a vehikula. ViramidinTM*HCl může být formulován ve směsi s farmakologicky přípustným nosičem. Například, ViramidinTM*HCl může být podáván orálně jako farmakologicky přípustná sůl. Protože je ViramidinTM*HCl téměř rozpustný ve vodě, lze jej podávat intravenózně rozpuštěný ve fyziologickém roztoku (např. pufovaný na pH přibližně 7,2 až 7,5). Běžně používané pufrы, jako například fosfátové, bikarbonátové nebo citrátové lze použít pro tyto účely. Samozřejmě, odborník v oboru může modifikovat uvedené způsoby podávání a přizpůsobit tak léčivo specifickému podávání, aniž by se stal ViramidinTM*HCl nestabilním nebo aniž by došlo ke snížení jeho terapeutické aktivity. Obzvláště, modifikace ViramidinTM*HCl, které způsobí, že je ViramidinTM*HCl lépe rozpustný ve vodě nebo jiném vehikulu, lze snadno provést drobnými změnami (solná formulace, esterifikace atd.), které jsou odborníkovi dobře známy. Odborník může rovněž modifikovat způsob podání a dávkovací režimy konkrétní sloučeniny tak, aby bylo u konkrétní sloučeniny dosaženo maximálně účinné farmakokinetiky u pacienta.

U určitých farmakologických dávkových forem jsou s výhodou použity proléčivové formy sloučenin, hlavně zahrnující acylované (acetylované a jiné) deriváty, pyridinové estery a různé formy solí předkládaných sloučenin. Odborník okamžitě zjistí, jakým způsobem modifikovat předkládané sloučeniny na proléčivové formy tak, aby se zlepšilo dopravování aktivních sloučenin na cílové místo v organismu pacienta. Odborník rovněž využije výhodných farmakokinetických parametrů proléčivové formy léčiva tak, že tam, kde je to možné, dopraví předkládané sloučeniny na cílová místa v organismu za účelem maximalizovat kýžený efekt sloučeniny.

Navíc, ViramidinTM*HCl lze podávat samostatně nebo v kombinaci s jinými látkami určenými k léčbě výše uvedených infekcí nebo nemocí. Kombinované terapie z hlediska předkládaného vynálezu zahrnují podávání alespoň jedné sloučeniny předkládaného vynálezu nebo jeho funkčního derivátu a alespoň jedné farmakologicky aktivní složky. Aktivní složka (složky) a farmakologicky aktivní látky lze podávat samostatně nebo současně. V případě, že jsou tyto podávány samostatně, lze je podávat v jakémkoli pořadí. Množství aktivní látky a farmakologicky aktivních látek a relativní načasování podávání se určí tak, aby bylo dosaženo kýženého kombinovaného terapeutického efektu. S výhodou, kombinovaná terapie zahrnuje podávání ViramidinTM*HCl nebo jeho fyziologicky aktivních derivátů a jedné z látek uvedených níže.

Příklady jiných látek nebo aktivních složek, které jsou účinné v kombinaci s ViramidinemTM jsou antivirové látky jako například různé interferony, zahrnující, ale neomezující se na interferon α a γ , Ribavirin, acyclovir a AZTTM, antifungální látky jako například tolnaftát, FungizonTM, LotriminTM, MycelexTM, Nystatin a Amphotericin, antiparazitární látky jako například MintezolTM, NiclocideTM, VermoxTM a FlagylTM, látky ovlivňující zažívací ústrojí

jako například ImmodiumTM, LomotilTM a PhazymeTM, protinádorové látky jako například interferon α a γ , AdriamycinTM, CytosanTM, ImuranTM, Methotrexat, MithracinTM, TiazofurinTM, TaxolTM, dermatologicky aktivní látky jako například AclovateTM, CyclocortTM, DenorexTM, FloroneTM, OxsoralenTM, dehet a kyselina salicylová, preparáty pro léčbu migrény jako například sloučeniny ergotaminu, steroidy a imunosupresiva, která v předkládaném patentu nebyla uvedena jako například cyklosporiny, DisprosoneTM, hydrokortison, FloronTM, LidexTM, Topicort a Valisone, metabolika jako například insulin a jiné látky, které nemusí zcela zapadat do výše uvedených kategorií, zahrnující cytokiny jako například IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 a IL-12. Obzvláště s výhodou použita primární léčiva zahrnují AZT, 3TC, 8-substituovaná guanosinová analoga, 2,3-dideoxynukleosidy, IL-2, interferony jako například I α B, tukaresol, levamisol, isoprinosin a cykloolignany.

Příklady dalších podobných terapeutických látek zahrnují látky, které jsou účinné v modulaci imunitního systému nebo při poruše imunity spojenou s nemocí. Příklady těchto látek zahrnují AZT, 3TC, 8-substituovaná guanosinová analoga, 2,3-dideoxynukleosidy, IL-2, interferony jako například I α B, tukaresol, levamisol, isoprinosin a cykloolignany. Určité sloučeniny vzhledem k předkládanému vynálezu mohou být účinné při zvyšování biologické aktivity určitých látek předkládaného vynálezu tím, že redukují metabolismus nebo inaktivují jiné sloučeniny. Jako také jsou podávány společně za účelem dosažení kýženého efektu.

Látky předkládaného vynálezu lze podávat v různých alternativních dávkách, zahrnujících dávky v rozmezí 1 až 200 mg/den a menší. S výhodou, vhodné dávky se pohybují v rozmezí od 10 do 200 mg/den. Ještě výhodněji, dávky se pohybují v rozmezí od 50 do 200 mg/den a ještě výhodněji, mezi 5 až 100 mg/den. Obecně, vhodná dávka závisí na mnoha parametrech, jako například typu virové infekce, stavu virové infekce, kýžené plasmatické koncentraci

ViramidinuTM, trvání léčby atd. Například, zatímco lze dosáhnout úspěchu léčby některých virových infekcí při relativně nízkých plasmatických koncentracích ViramidinuTM, jiné virové infekce mohou vyžadovat relativně vysoké dávky.

Podávání aktivní sloučeniny může být buď kontinuální (intravenosní infuze), nebo může být ve formě několika orálních dávek v průběhu dne (například Q.I.D.) a může zahrnovat podávání orální, místní, parenterální, intramuskulární, intravenosní, subkutánní, transdermální (může obsahovat látku zvyšující prostupnost léčiva kůží), bukalní a ve formě čípků, společně s jinými způsoby podávání.

Pro přípravu farmakologického prostředku předkládaného vynálezu, terapeuticky účinné množství jedné nebo vícero sloučenin předkládaného vynálezu se smíchá s farmakologicky přijatelným nosičem podle běžných farmakologických technik za vzniku lékové dávky. Nosič může mít různou formu v závislosti na kýžené formě určené pro podávání, např. orální nebo parenterální. Při přípravě farmakologického přípravku v orální dávkové formě lze použít kteréhokoli farmakologicky vhodného média. Tudiž, pro orální dávkové formy, jako například suspenze, elixíry a roztoky, vhodné nosiče a aditiva zahrnují vodu, glykoly, oleje, alkoholy, aromatizující látky, konzervancia, barviva apod. Pro pevné orální dávkové formy, jako například prášky, tablety, capsule a pro pevné dávkové formy jako například čípky, zahrnují vhodné nosiče a aditiva například škrob, cukerné nosiče, jako jsou například dextroza, manitol, laktoza a příbuzné nosiče, rozpouštědla, granulující látky, lubrikancia, pojiva, dezintegrující látky apod. V případě potřeby lze tablety nebo kapsule potáhnout enterosolventním obalem nebo jinou standardní technikou zajistit prodloužené uvolňování aktivní látky z lékové formy léčiva.

Pro parenterální podávání, nosič obvykle zahrnuje sterilní vodu nebo vodní roztok chloridu sodného, ačkoli lze použít i jiné látky, které napomáhají disperzi. Samozřejmě, v případech, kdy se použije sterilní voda a přípravek má zůstat sterilní, je nutné, aby všechny složky přípravku byly rovněž sterilizovány. Injekční suspenze lze připravit rovněž, a v těchto případech se použijí vhodné tekuté nosiče, suspendující látky apod.

Příklady použití vynálezu

Vychytávání Ribavirinu, ViramidinuTM a LevovirinuTM různými liniemi lidských nádorů

Hep3B, HepG2 a Huh7 buněčné linie byly použity v koncentraci 50 000 buněk/jamku na 24 jamkové destičce a byly inkubovány s [³H]-značeným Ribavirinem, LevovirinemTM a ViramidinemTM (20μCi/ml) a v přítomnosti 10 μM neznačeného nukleosidu po dobu 4 hodin při 37 °C. Poté byly buňky promyty PBS a lyzovány a radioaktivita buněčného lyzátu (tj. množství značeného nukleosidu vychytaného buňkami) byla změřena pomocí scintilačního počítáče.

Nukleosidová kompetiční esej

50 000 HepG2 buněk na jamku bylo vyseto na 24 jamkovou destičku a inkubováno s [³H]-značeným nukleosidem (20μCi/ml). Kompetiční experiment byl proveden pomocí zvyšující se koncentrace neznačeného (0, 100μM, 500 μM a 2 mM) kompetičního nukleosidu. Inkubační doba byla 2 hodiny při 37 °C. Poté byly buňky promyty PBS a lyzovány. Radioaktivita buněčného lyzátu (tj. množství značeného nukleosidu vychytaného buňkami) byla změřena pomocí scintilačního počítáče.

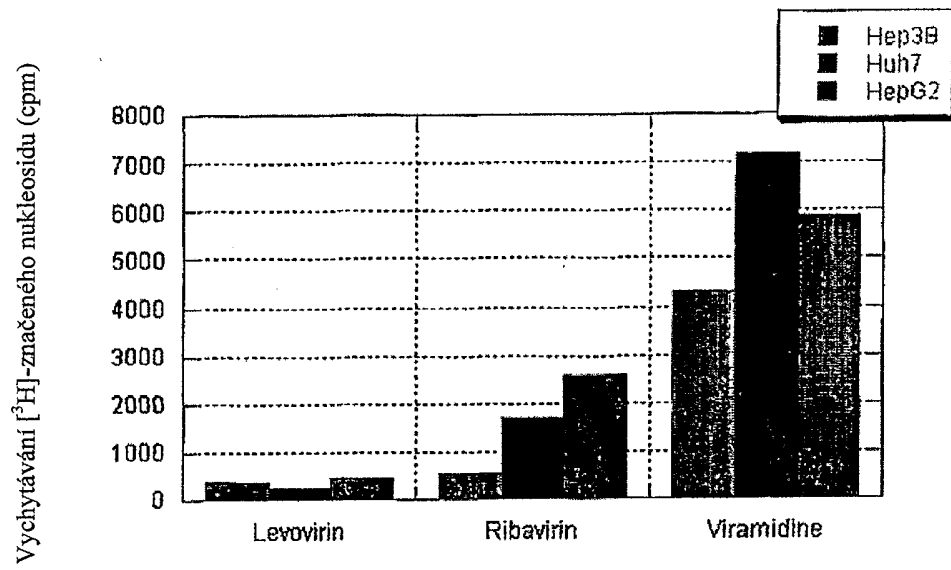
Předkládaný vynález uvádí specifickou metodu dopravování léčiva do hepatocytů a léčbu flavivirové infekce. Odborníkovi je zajisté zřejmé, že existují mnohé modifikace kromě těch, které jsou uvedeny v předkládaném vynálezu. Předkládaný vynález tudíž není omezen pouze na výše uvedené. Při interpretaci specifikací a patentových nároků, všechny položky by měly být interpretovány v nejširším možném smyslu v kontextu předkládaného vynálezu. Konkrétně, termíny „zahrnuje“ a „zahrnující“ je nutné interpretovat jako termíny spojené s elementy, komponenty nebo kroky, naznačujícími, že uvedené elementy, komponenty nebo kroky se mohou vyskytovat nebo mohou být použity nebo se mohou kombinovat s jinými elementy, komponenty nebo kroky, které nejsou doslovně uvedeny.

PATENTOVÉ NÁROKY

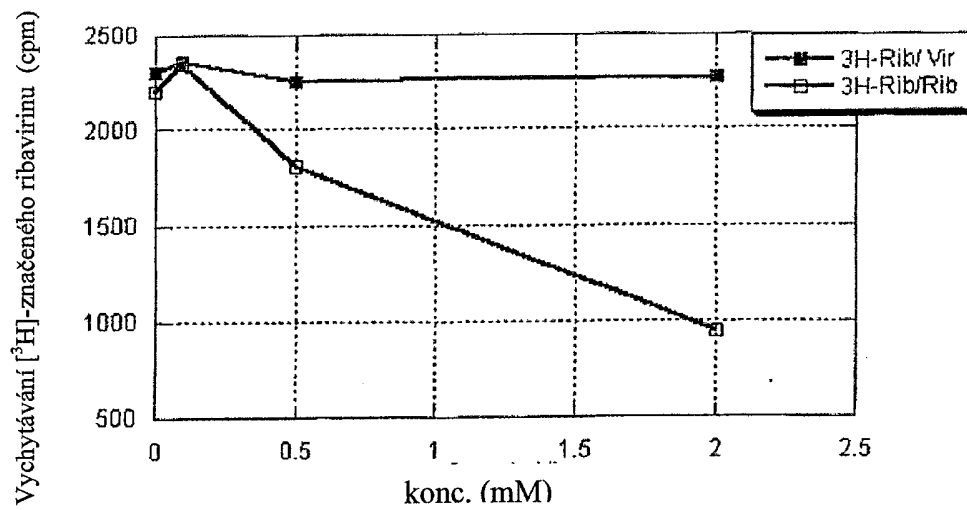
1. Použití látky pro přípravu farmaceutického přípravku pro léčení virové nebo neoplastické nemoci hepatocytu, kde látka má karboxamidovou skupinu, a kde hepatocyt obsahuje transportér pro transport látky přes plasmatickou membránu hepatocytu, přičemž transport látky není významně inhibován ribavirinem, a kde transportér je membránově asociovaný protein nebo proteinový komplex, který napomáhá průniku látky plasmatickou membránou do hepatocytu.
2. Použití podle nároku 1, kde látka obsahuje nukleosid, který má na bázi navázaný cukr.
3. Použití podle nároku 2, kde báze obsahuje monocyklickou bázi.
4. Použití podle nároku 3, kde monocyklická báze obsahuje 1,2,4-triazol.
5. Použití podle nároku 2, kde cukr obsahuje β -ribofuranosu.
6. Použití podle nároku 2, kde nukleosid obsahuje 1-beta-D-ribofuranosyl-1,2,4-triazol-3-karboxamidin.
7. Použití podle nároku 2, kde nukleosid obsahuje 1-beta-L-ribofuranosyl-1,2,4-triazol-3-karboxamidin.
8. Použití podle nároku 1, kde karboxamidinová skupina je přeměněna na karboxamidovou skupinu v hepatocytu.
9. Použití podle nároku 8, kde karboxamidová skupina je enzymaticky fosforylována a je tudíž akumulována v hepatocytu.
10. Použití podle nároku 1, kde antivirová aktivita představuje antivirovou aktivitu proti flavivirům.
11. Použití podle nároku 10, kde antivirová aktivita proti flavivirům představuje antivirovou aktivitu proti pestivirům a viru hepatitidy C.
12. Použití podle nároku 1, kde protinádorová aktivita zahrnuje protinádorovou aktivitu proti nádorovým hepatocytům.

13. Použití podle nároku 1, kde transportér obsahuje ATP-závislý transportér.
14. Použití podle nároku 1, kde transportér obsahuje transmembránový protein.
15. Použití podle nároku 1, kde hepatocyt je nemocný.
16. Použití podle nároku 1, kde transport látky obsahuje transport, který je inhibován druhou sloučeninou nesoucí karboxamidinovou skupinu.
17. Použití látky pro přípravu farmaceutického přípravku pro léčení virové nemoci, kde látka má karboxamidovou skupinu, a kde látka je transportována transportérem přes plasmatickou membránu buňky, přičemž transport látky není významně inhibován ribavirinem, a kde transportér je membránově asociovaný protein nebo proteinový komplex, který napomáhá průniku látky plasmatickou membránou do buňky, inhibující replikaci viru patřícího do rodiny flavivirů v buňce.
18. Použití podle nároku 17, kde virus je virus horečky západního Nilu.
19. Použití podle nároku 17, kde virus je virus hepatitidy C.
20. Použití podle nároku 17, kde buněčný systém je *in vitro* systém.
21. Použití podle nároku 17, kde buněčný systém je *in vivo* systém.
22. Použití podle nároku 21, kde *in vivo* systém obsahuje alespoň jeden hepatocyt, který je infikován virem.
23. Použití podle nároku 17, kde látka obsahuje 1-beta-D-ribofuranosyl-1,2,4-triazol-3-karboxamidin*HCl.
24. Použití podle nároku 17, kde látka se vyskytuje v L-konformaci.

11.04.03

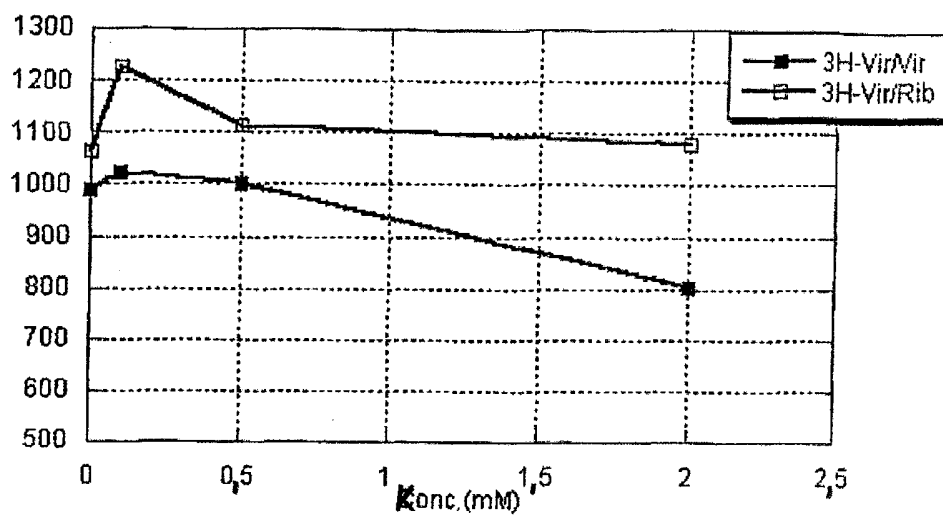


Obr. 1



Obr. 2

11.04.03

Vychytávání [^3H]-značeného ribavirinu (cpm)

Obr. 3