



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118488831 A

(43) 申请公布日 2024. 08. 13

(21) 申请号 202280083493.2

(22) 申请日 2022.12.23

(30) 优先权数据

21217653.1 2021.12.23 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.06.17

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/GB2022/053380 2022.12.23

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/118896 EN 2023.06.29

(71) 申请人 苏宾特罗有限公司

地址 英国

(72) 发明人 W·G·拉波特 伊藤和浩

J·舒尔

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

专利代理师 张建 黄革生

(51) Int. Cl.

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 9/12 (2006.01)

A61K 9/10 (2006.01)

A61K 47/12 (2006.01)

A61K 47/26 (2006.01)

A61K 47/38 (2006.01)

A61K 47/36 (2006.01)

A61K 47/10 (2006.01)

A61P 31/16 (2006.01)

A61K 31/5377 (2006.01)

A61K 31/245 (2006.01)

A61K 31/4045 (2006.01)

A61K 31/706 (2006.01)

A61K 31/7068 (2006.01)

A61K 31/513 (2006.01)

权利要求书4页 说明书20页

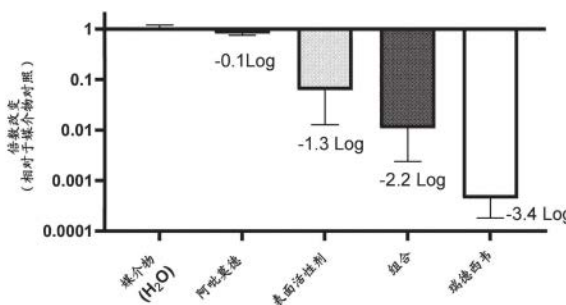
序列表(电子公布) 附图5页

(54) 发明名称

包含油酸的新抗病毒组合物

(57) 摘要

本发明特别提供了适合于局部施用于肺或鼻的液体药物制剂,其包含选自油酸或其药学上可接受的盐和油酸或其药学上可接受的盐与聚乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯的混合物的表面活性剂成分,任选地与抗病毒剂的组合,该药物制剂用于治疗或预防病毒感染或与病毒感染相关的疾病,其作为药物用于局部施用于肺或鼻。



1. 适合于局部施用于肺或鼻的液体药物制剂,其包含:(i)选自油酸或其药学上可接受的盐和油酸或其药学上可接受的盐与聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯的混合物的表面活性剂成分,和(ii)抗病毒剂。

2. 根据权利要求1的液体药物制剂,其中所述表面活性剂成分选自油酸或其药学上可接受的盐和油酸或其药学上可接受的盐与聚山梨醇酯80或聚山梨醇酯20的混合物。

3. 根据权利要求2的液体药物制剂,其中所述表面活性剂成分为油酸或其药学上可接受的盐与聚山梨醇酯80的混合物。

4. 根据权利要求1-3任一项的液体药物制剂,其中油酸为游离酸形式。

5. 根据权利要求1-4任一项的液体药物制剂,其中所述抗病毒剂选自阿吡莫德、卡莫司他、萘莫司他、乌米芬诺韦、瑞德西韦、莫尔奴匹韦、尼尔马特韦、洛匹那韦及其任意一种药学上可接受的盐。

6. 根据权利要求1-4任一项的液体药物制剂,其中所述抗病毒剂选自巴洛沙韦、恩司他韦、法维拉韦(T-705)、奥司他韦、羧酸奥司他韦、吡罗达韦、芦平曲韦、利巴韦林、扎那米韦、拉尼米韦、辛酸拉尼米韦及其任意一种药学上可接受的盐。

7. 根据权利要求5的液体药物制剂,其中所述抗病毒剂为阿吡莫德或其药学上可接受的盐,例如其甲磺酸盐。

8. 根据权利要求7的液体药物制剂,其中阿吡莫德为游离碱的形式。

9. 根据权利要求7的液体药物制剂,其中阿吡莫德为其甲磺酸盐的形式。

10. 根据权利要求5的液体药物制剂,其中所述抗病毒剂为卡莫司他或其药学上可接受的盐,例如其甲磺酸盐。

11. 根据权利要求5的液体药物制剂,其中所述抗病毒剂为萘莫司他或其药学上可接受的盐,例如其甲磺酸盐。

12. 根据权利要求5的液体药物制剂,其中所述抗病毒剂为乌米芬诺韦。

13. 根据权利要求5的液体药物制剂,其中所述抗病毒剂为瑞德西韦。

14. 根据权利要求5的液体药物制剂,其中所述抗病毒剂为莫尔奴匹韦。

15. 根据权利要求5的液体药物制剂,其中所述抗病毒剂为尼尔马特韦或其药学上可接受的盐,例如尼尔马特韦。

16. 根据权利要求5的液体药物制剂,其中所述抗病毒剂为尼尔马特韦或其药学上可接受的盐,例如任选地与利托那韦组合使用的尼尔马特韦。

17. 根据权利要求5的液体药物制剂,其中所述抗病毒剂为任选地与利托那韦组合使用的洛匹那韦。

18. 根据权利要求6的液体药物制剂,其中所述抗病毒剂为奥司他韦或其药学上可接受的盐,例如其磷酸盐,或为羧酸奥司他韦或其药学上可接受的盐,或为拉尼米韦或其药学上可接受的盐,或为辛酸拉尼米韦或其药学上可接受的盐,或为扎那米韦或其药学上可接受的盐。

19. 根据权利要求6的液体药物制剂,其中所述抗病毒剂为利巴韦林。

20. 根据权利要求6的液体药物制剂,其中所述抗病毒剂为吡罗达韦。

21. 根据权利要求1-20任一项的液体药物制剂,其为溶液制剂,其中所述抗病毒剂溶于该制剂中。

22. 根据权利要求1-20任一项的液体药物制剂,其为混悬液制剂,该混悬液制剂包含作为细碎形式的固体的抗病毒剂。

23. 根据权利要求1-22任一项的液体药物制剂,其中该液体药物制剂为水性制剂。

24. 根据权利要求23的液体药物制剂,其中该液体药物制剂为胶束溶液形式。

25. 根据权利要求1-22任一项的液体药物制剂,其中该液体药物制剂为加压液体制剂。

26. 根据权利要求25的液体药物制剂,其包含选自HFA134a、HFA227、HFA152a、HF01234ze、HF01234zf及其混合物的加压液体抛射剂。

27. 根据权利要求26的液体药物制剂,其包含HFA134a、HFA152a或HF01234ze作为加压液体抛射剂。

28. 罐,其包含多个剂量的根据权利要求25-27任一项的液体药物制剂,并且装配有计量阀。

29. 计量剂量吸入器,其包含根据权利要求28的罐,所述罐装配有适合于将所述制剂施用至肺的致动器。

30. 喷雾或雾化器装置,其包含含有多个剂量的根据权利要求1-24任一项的液体药物制剂的储库,并且装配有用于将所述制剂局部递送至肺或鼻的通道递送装置。

31. 根据权利要求1-27任一项的液体药物制剂,其用作局部施用于肺(例如经口吸入)或局部施用于鼻的药物。

32. 根据权利要求31使用的液体药物制剂,其用于治疗或预防病毒感染或与这种病毒感染相关的疾病。

33. 根据权利要求32使用的液体药物制剂,其用于治疗或预防SARS-CoV-2感染和/或COVID-19。

34. 根据权利要求32使用的液体药物制剂,其用于治疗或预防流感病毒感染和/或流感。

35. 根据权利要求32使用的液体药物制剂,其用于治疗或预防冠状病毒感染,例如季节性冠状病毒,例如229E感染和/或与冠状病毒感染,例如季节性冠状病毒,例如229E感染相关的疾病。

36. 根据权利要求32使用的液体药物制剂,其用于治疗或预防呼吸道合胞病毒(RSV)感染和/或与RSV感染相关的疾病。

37. 根据权利要求32使用的液体药物制剂,其用于治疗或预防人鼻病毒(HRV)感染和/或与HRV感染相关的疾病。

38. 治疗或预防病毒感染或与病毒感染相关的疾病或与这种病毒感染相关的疾病的方法,该方法包括向有需要的个体局部向肺或鼻施用治疗或预防有效量的根据权利要求1-27任一项的药物制剂。

39. 根据权利要求38的方法,其中所述病毒为SARS-CoV-2,且与这种病毒相关的疾病为COVID-19。

40. 根据权利要求38的方法,其中所述病毒为流感,且与这种病毒相关的疾病为流感。

41. 根据权利要求38的方法,其中所述病毒为冠状病毒,例如季节性冠状病毒,例如229E,并且所述与病毒感染相关的疾病为与冠状病毒感染,例如季节性冠状病毒,例如229E感染相关的疾病。

42. 根据权利要求38的方法,其中所述病毒为呼吸道合胞病毒(RSV),并且与病毒感染相关的疾病为与RSV感染相关的疾病。

43. 根据权利要求38的方法,其中所述病毒为人鼻病毒(HRV),并且与病毒感染相关的疾病为与HRV感染相关的疾病。

44. 适合于局部施用于肺或鼻的液体药物制剂,其包含选自油酸或其药学上可接受的盐和油酸或其药学上可接受的盐与聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯的混合物的表面活性剂成分,所述液体药物制剂作为用于局部施用于肺或鼻的药物用于治疗或预防病毒感染或与病毒感染相关的疾病。

45. 根据权利要求44使用的液体药物制剂,其中所述病毒感染为SARS-CoV-2感染,且与病毒感染相关的疾病为COVID-19。

46. 根据权利要求44使用的液体药物制剂,其中所述病毒感染为流感病毒感染,且与病毒感染相关的疾病为流感。

47. 根据权利要求44使用的液体药物制剂,其中所述病毒感染为冠状病毒感染,例如季节性冠状病毒,例如229E感染,并且所述与病毒感染相关的疾病为与冠状病毒感染,例如季节性冠状病毒,例如229E感染相关的疾病。

48. 根据权利要求44使用的液体药物制剂,其中所述病毒感染为呼吸道合胞病毒(RSV)感染,并且所述与病毒感染相关的疾病为与RSV感染相关的疾病。

49. 根据权利要求44使用的液体药物制剂,其中所述病毒感染为人鼻病毒(HRV)感染,并且所述与病毒感染相关的疾病为与HRV感染相关的疾病。

50. 治疗或预防病毒感染或与病毒感染相关的疾病的方法,该方法包含向有需要的个体局部施用于肺或鼻的治疗或预防有效量的药物制剂,该药物制剂包含选自油酸和油酸与聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯的混合物的表面活性剂成分。

51. 根据权利要求50的方法,其中所述病毒感染为SARS-CoV-2感染,所述与病毒感染相关的疾病为COVID-19。

52. 根据权利要求50的方法,其中所述病毒感染为流感病毒感染,并且所述与病毒感染相关的疾病为流感。

53. 根据权利要求50的方法,其中所述病毒感染为冠状病毒,例如季节性冠状病毒,例如229E感染,并且所述与病毒感染相关的疾病为与冠状病毒感染,例如季节性冠状病毒,例如229E感染相关的疾病。

54. 根据权利要求50的方法,其中所述病毒感染为呼吸道合胞病毒(RSV)感染,并且所述与病毒感染相关的疾病为与RSV感染相关的疾病。

55. 根据权利要求50的方法,其中所述病毒感染为人鼻病毒(HRV)感染,并且所述与病毒感染相关的疾病为与HRV感染相关的疾病。

56. 根据权利要求44-55任一项的液体药物制剂或方法,其中所述液体药物制剂为加压液体制剂。

57. 根据权利要求44-55任一项的液体药物制剂或方法,其中所述液体药物制剂为水性制剂。

58. 适合于局部施用于肺或鼻的液体药物制剂,其包含选自油酸或其药学上可接受的盐和油酸或其药学上可接受的盐与聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯的混合物的表面活性剂

成分。

包含油酸的新抗病毒组合物

[0001] 领域

[0002] 本发明涉及适于局部施用于肺或鼻的液体药物制剂和相关方面,包括包含所述制剂的罐以及喷雾器和雾化器装置和计量剂量吸入器。本发明还涉及用于治疗或预防病毒感染和与病毒感染相关的疾病(例如SARS-CoV-2感染或流感)的液体药物制剂以及相关的治疗方法。

[0003] 发明背景

[0004] 严重急性呼吸器官综合征冠状病毒-2(SARS-CoV-2)是一种有包膜有义单链RNA病毒,并且是冠状病毒科 β -冠状病毒属的成员。SARS-CoV-2是呼吸系统疾病COVID-19(冠状病毒疾病2019)的病原体。COVID-19的特征在于严重程度各异,从轻度上呼吸道疾病到重度间质性肺炎和急性呼吸窘迫综合征(ARDS),这是一种危及生命的肺部损伤,其使流体渗入肺部。COVID19后综合征也是一个重要方面,其涉及肺纤维化和继发性致死性真菌感染/侵袭。

[0005] 目前,已知7种冠状病毒可引起人类疾病。229E、OC43、NL63和HKU1人类冠状病毒(hCoVs)物种引起上呼吸道和下呼吸道的轻度疾病,并且据估计占“普通感冒”病例的三分之一(Ludwig和Zarbock,2020)。然而,冠状病毒物种的高患病率、广泛分布、遗传多样性和频繁的跨物种感染促进了新型人类病原体的出现。因此,严重急性呼吸器官综合征冠状病毒(SARS-CoV-1)、中东呼吸器官综合征相关冠状病毒(MERS-CoV)以及最近且最重要的SARS-CoV-2已经引起了与高死亡率相关的大流行。

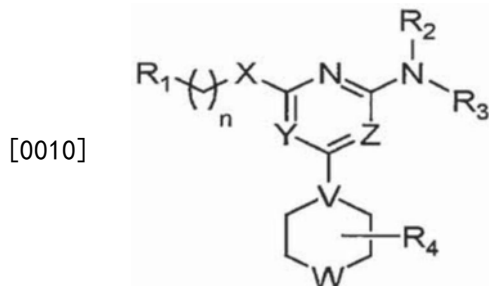
[0006] SARS-CoV-2感染的主要模式是病毒在上呼吸道和下呼吸道的被覆上皮中复制的结果。病毒的初始感染最初是在吸入非常细小的呼吸道飞沫和气溶胶颗粒,通过直接飞溅和喷雾将呼吸道飞沫和颗粒沉积在口、鼻或眼的暴露粘膜上,并用手触摸粘膜,所述粘膜直接被含病毒的呼吸道流体污染或间接通过触摸表面上的病毒污染(CDC:<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/science/science-briefs/sars-cov-2-transmission.html>)。病毒在疾病早期在上呼吸道中建立了稳健的病毒复制水平,随后前移入肺,发生病毒性肺炎,并且全身传播至其他器官。可利用的证据启示,疾病严重程度与呼吸道中的病毒载量有关,并且用抗病毒剂干预降低了疾病严重程度,这是病毒负荷降低的结果。

[0007] 通常,包膜呼吸道病毒附着于宿主细胞表面受体并通过内吞作用或病毒膜与宿主细胞膜的直接融合进入细胞。病毒突起蛋白与宿主细胞受体血管紧张素转化酶2(ACE2)的结合有助于SARS-CoV-2感染上呼吸道和下呼吸道上皮细胞。其他受体,例如AXL、CD147、CD209/CD209L、神经纤毛蛋白、DPP4被鉴定为潜在的病毒学相关共受体(Xie等人;Cantuti-Castelvetri等人)。随后通过宿主蛋白酶诸如顶端表面上的TMPRSS2激活突起蛋白对于加工病毒突起蛋白以使病毒体能够通过膜融合进入细胞是必需的。

[0008] 最近的研究表明,SARS-CoV-2可以通过两种不同的途径进入作为宿主细胞的人肺上皮细胞。首先,通过跨膜丝氨酸蛋白酶2(TMPRSS2)或替代丝氨酸蛋白酶激活突起蛋白后的细胞表面直接膜融合(早期途径)。其次,内吞摄取(晚期途径),由此组织蛋白酶L激活内体-溶酶体区室中的突起蛋白。关键的是,当表达TMPRSS2或替代丝氨酸蛋白酶时,优选早期

进入途径,而当不存在这些蛋白酶时,病毒依赖于晚期途径(Murgolo等人2021)。在晚期途径中,内体中的加工和病毒释放由降低的pH和蛋白水解引起,这是破坏病毒包膜并释放内部遗传物质所需的。PIKfyve是磷酸肌醇激酶,其磷酸化磷脂酰肌醇-3-磷酸(PI(3)P),以产生PI(3,5)P₂。PIKfyve在内体膜的成熟中起关键作用,从而使病毒膜融合并进入细胞质。

[0009] 已经存在关于PIKfyve抑制剂(包括阿吡莫德)治疗SARS-CoV-2感染的潜在用途的各种报道。W02021/211738公开了可用于降低病原性感染的可能性或用于减少所述病原体的传播的抗感染组合物,所述抗感染组合物包含选自包括阿吡莫德的化合物。W02021/158635公开了用于治疗或预防冠状病毒例如SARS-Cov-2感染的PIKfyve抑制剂,例如阿吡莫德及其组合物。W02016/161176公开了治疗病毒感染的方法,其包含向有需要的个体施用治疗有效量的式(I)的化合物;



[0011] 其包括阿吡莫德。

[0012] 在许多情况下,关于治疗SARS-CoV-2的药物的有效性的乐观预测在实践中被证明是不成功的。例如,许多鉴定SARS-CoV-2抗病毒剂的早期筛选实验利用Vero E6细胞系。由于该细胞系缺乏具有ACE2高表达的TMPRSS2,病毒进入依赖于内吞途径,因此是预测人上皮细胞感染的不完美模型。此外,另外的非特异性内吞病毒摄取机制促进病毒体进入Vero E6细胞。照此,许多调节核内体和溶酶体系统的分子,例如氯喹和阿吡莫德,已被鉴定为Vero E6细胞中强效的SARS-CoV-2药物,不过,这些观察结果可能不能转化至人肺上皮细胞(Hoffmann等人2020)。

[0013] 鉴定有效的SARS-CoV-2抗病毒药物的进一步尝试导致发现卡莫司他(作为甲磺酸盐)能够通过阻断TMPRSS2和相关蛋白酶来抑制SARS-CoV-2感染(Hoffmann等人2021)。此外,已经确定瑞德西韦可以重新用作强效的SARS-CoV-2药物(Pruijssers等人2020)。此外,已经发现抗凝血药萘莫司他(作为甲磺酸盐)抑制易感细胞的SARS-CoV-2感染(Hoffmann等人2020)。或者,可以设计新的SARS-CoV-2抗病毒药物。例如,2021年11月批准在英国使用的莫尔奴匹韦是一种口服可利用的SARS-CoV-2药物,其抑制病毒RNA依赖性RNA聚合酶的功能(Kabinger等人2021)。类似地,尼尔马特韦已被开发为SARS-CoV-2 3CL蛋白酶的抑制剂(Zhao等人2021)。已经发现,尼尔马特韦与HIV蛋白酶抑制剂利托那韦的组合减缓了尼尔马特韦的代谢,从而延长了活性(Zhao等人2021)。类似地,另一种HIV蛋白酶抑制剂洛匹那韦可能具有抗SARS-CoV-2活性的报道相互矛盾,特别是当与利托那韦组合使用时,增加洛匹那韦的血浆浓度(Cattaneo等人2020;Ford等人2020)。

[0014] 流感病毒包含四个物种,流感A-D病毒,其各自形成单独的属,分别为 α 、 β 、 γ 和 δ 流感病毒,属于正粘病毒科(Orthomyxoviridae)。流感病毒是具有节段基因组的包膜负义单链RNA病毒,其引起以发烧、喉咙痛、头痛、咳嗽和疲劳为特征的轻度至重度呼吸系统疾病。流感病毒利用内吞进入途径。病毒HA蛋白与宿主唾液酸受体的结合通过内体摄取触发细胞

进入。随后在内体中的酸化激活细胞蛋白酶例如组织蛋白酶,并诱导HA中的构象改变,这使得内体膜能够融合,从而将病毒体释放到细胞中。流感对进入的内吞途径的依赖已经产生了PIKfyve抑制剂例如阿吡莫德能够治疗流感病毒感染的推测。WO2021/211738推测本发明的抗感染组合物(其中所述组合物可以包含阿吡莫德)可以用于治疗流感感染,不过,没有提供抗流感活性的证据。

[0015] 乌米芬诺韦是一种广泛在俄罗斯和中国使用的流感抗病毒药物,其有显著的临床重要性。乌米芬诺韦与病毒HA蛋白结合并防止HA中能够发生膜融合的构象改变(Kadam和Wilson,2017)。存在矛盾的报道,即乌米芬诺韦也可能具有抗SARS-CoV-2的活性(Huang等人2020)。

[0016] SARS-CoV-2在人鼻和支气管上皮中的复制导致纤毛上皮的快速丧失,其特征在于粘膜纤毛清除受损,即呼吸道中上皮完整性降低与上皮紧密连接破坏(Hao等人,2020; Robinot等人,2020)。也报道SARS-CoV-2影响血气屏障(BGB)或肺泡毛细血管屏障,血气屏障(BGB)或肺泡毛细血管屏障是主要的组织屏障(Shirvaliloo,2021)。

[0017] 细胞病变感染需要 $2.5-10^5$ 个病毒体/ cm^2 上皮的高病毒载量(Hao等人,2020),对上呼吸道纤毛上皮层的广泛损伤先于促进扩散到更深的肺实质。

[0018] 因此,病毒介导的对上皮连接完整性的损伤导致宿主防御屏障的丧失,其中结果是炎症、流体渗漏和正常肺气体转移的丧失以及细菌和真菌的继发感染。

[0019] 用于吸入和鼻内递送的药物组合物中使用的常规赋形剂传统上被认为是用于优化活性药物部分(例如抗过敏剂和抗炎剂)的递送的药物惰性物质。在文献中已经报道,某些天然和合成的表面活性剂可以表现出关于对表面活性剂作用敏感的脂质包膜病毒的抗病毒性质。

[0020] Kohn等人1980年教导了不饱和脂肪酸里例如油酸对仙台病毒、新城疫病毒、甲型流感病毒、辛德毕斯病毒、西尼罗病毒和1型疱疹病毒表现出杀病毒活性,但对脊髓灰质炎病毒、脑心肌炎病毒或猿猴病毒40无活性。该活性被认为是掺入病毒脂质包膜的结果,从而导致病毒膜完整性的破坏。然而,该论文没有考虑这些分子对宿主细胞膜、人肺或鼻上皮细胞、冠状病毒或流感病毒的影响。

[0021] Thormar等人1987年研究了脂肪酸对新鲜牛奶中病毒的灭活作用。该论文教导了脂肪酸例如油酸在与单纯疱疹病毒、VSV(水泡性口炎病毒)和维斯纳病毒温育后降低病毒、但不降低脊髓灰质炎病毒的滴度。据报道,抗病毒脂肪酸破坏病毒包膜的完整性,导致渗漏,并且在较高浓度下,包膜和病毒颗粒完全崩解,但它们也导致组织培养细胞的质膜崩解,导致细胞裂解和死亡。然而,该论文没有考虑这些分子对人肺或鼻上皮细胞或冠状病毒或流感病毒的作用。

[0022] Anderson等人1991年教导了聚山梨醇酯80增强了化合物金丝桃素的抗病毒活性。然而,公开了当针对牛痘病毒和单纯疱疹病毒株进行测试时,聚山梨醇酯80本身没有直接的抗病毒活性。

[0023] Hilmarsson等人2007年教导了油酸在牛奶或果汁中温育后引起呼吸道合胞病毒(RSV)滴度的显著降低。然而,该研究教导了长链不饱和脂肪酸例如油酸的不稳定性使得其他杀微生物化合物例如月桂醇、月桂酸、甘油单月桂酸酯和甘油单癸酸酯更适合用于抗RSV、副流感或流感感染的局部制剂的活性成分。此外,该论文没有考虑油酸或类似分子对

肺或鼻上皮细胞或冠状病毒的影响。

[0024] Chen等人2019年教导了不能诱导包膜病毒失活的聚山梨醇酯80可以被裂解成油酸,其被证明对伪狂犬病病毒和异嗜性鼠白血病毒具有抗病毒活性,但对猪细小病毒不具有抗病毒活性。因此,这启示聚山梨醇酯80在制造过程中是Triton X-100的可行替代物。然而,该论文仅限于考虑抗病毒表面活性剂在生物药物制造环境中的作用,并且考虑表面活性剂既不对宿主细胞膜也不对冠状病毒或流感病毒的作用。

[0025] 替代的发现启示油酸实际上可能导致病毒载量增加:

[0026] Raini等人2021年教导了用油酸补充感染的细胞导致寨卡病毒滴度增加,这可能是由诱导脂滴形成引起的,因为脂滴是寨卡病毒复制的主要平台。

[0027] 因此,关于表面活性剂例如聚山梨醇酯80和油酸的抗病毒作用,存在大量相互矛盾和非特异性的文献。

[0028] 仍然需要开发用于治疗 and 预防病毒感染,特别是影响人肺或鼻上皮细胞的病毒感染的药物产品。

[0029] 发明概述

[0030] 常用的赋形剂通常被认为是药理学惰性的。令人惊讶的是,本发明人已经发现了与先前用作赋形剂的某些表面活性剂相关的新生物活性。

[0031] 因此,本发明提供了一种适合于局部施用于肺或鼻的具有抗病毒特性的液体药物制剂,其包含某些表面活性剂和抗病毒剂。本发明提供了一种适合于局部施用于肺或鼻的液体药物制剂,其包含(i)选自油酸或其药学上可接受的盐和油酸或其药学上可接受的盐与聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯的混合物的表面活性剂成分和(ii)抗病毒剂。

[0032] 本发明还提供了一种适合于局部施用于肺或鼻的液体药物制剂,其包含选自油酸和油酸与聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯的混合物的表面活性剂成分,该制剂作为局部施用于肺或鼻的药物用于预防病毒感染或与病毒感染相关的疾病。

[0033] 附图简述

[0034] 图1示例了实施例2中所述的实验方案。

[0035] 图2显示用阿吡莫德(作为甲磺酸盐)、表面活性剂(0.15%w/w聚山梨醇酯80和0.2%w/w油酸)及其组合进行顶部处理对来自SARS-CoV-2感染的气-液界面(ALI)培养的鼻上皮的顶部洗涤液中的SARS-CoV-2病毒载量的影响。将这些处理的效果与瑞德西韦的基底外侧处理进行比较。

[0036] 图3显示用阿吡莫德(作为甲磺酸盐)、表面活性剂(0.15%w/w聚山梨醇酯80和0.2%w/w油酸)及其组合进行顶部处理对SARS-CoV-2诱导的通过跨上皮电阻(TEER)测定的上皮完整性降低的影响。将这些处理的效果与瑞德西韦的基底外侧处理进行比较。

[0037] 图4显示与载体(水)处理的感染对照相比,顶部处理的羧酸奥司他韦(1 μ M)、表面活性剂(0.15%聚山梨醇酯80和0.2%油酸)及其组合对来自H1N1-A/Switzerland/7717739/2013(H1N1)感染的气-液界面培养的鼻上皮的顶部洗涤液中的病毒载量的影响。通过RT-PCR检测H1N1流感病毒颗粒,并显示根据标准曲线计算的基因组拷贝数。还在基底外侧室中处理羧酸奥司他韦(10 μ M)作为测定对照。

[0038] 图5显示与媒介物(水)处理的感染对照相比,顶部处理的羧酸奥司他韦(1 μ M)、表面活性剂(0.15%聚山梨醇酯80和0.2%油酸)及其组合对H1N1-流感诱导的上皮完整性降

低的影响。通过TEER (跨上皮电阻) 确定上皮完整性。还在基底外侧室中处理羧酸奥司他韦 (10 μ M) 作为测定对照。

[0039] 发明详述

[0040] 本发明基于通过测试不同抗病毒剂与特定表面活性剂的组合和单独的特定表面活性剂的抗病毒活性而获得的发现。本发明基于以下发现：(i) 顶部施用的油酸与聚山梨醇酯80的混合物，特别是与抗病毒剂阿吡莫德组合，在SARS-CoV-2感染培养的鼻上皮的模型中具有降低病毒载量的强大作用 (参见实施例2, 图2)，其中存在表面活性剂混合物和阿吡莫德之间协同作用的证据；(ii) 顶部施用的油酸与聚山梨醇酯80的混合物，任选地与抗病毒剂阿吡莫德组合，在SARS-CoV-2感染培养的鼻上皮的模型中在改善屏障功能方面具有强大的作用 (参见实施例2, 图3)；(iii) 顶部施用的油酸与聚山梨醇酯80的混合物与抗病毒剂羧酸奥司他韦在培养的鼻上皮被流感病毒H1N1感染的模型中在降低病毒载量方面具有强大的作用 (参见实施例2, 图4)，其中证明表面活性剂混合物与羧酸奥司他韦之间具有协同作用；和 (iv) 顶部施用的油酸与聚山梨醇酯80的混合物，特别是与抗病毒剂羧酸奥司他韦组合，在流感病毒H1N1感染培养的鼻上皮的模型中在改善屏障功能方面具有强大的作用 (参见实施例2, 图5)。

[0041] 本发明的液体制剂包含选自油酸或其药学上可接受的盐和油酸或其药学上可接受的盐与聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯的混合物的表面活性剂成分。示例性聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯包括聚山梨醇酯80 (例如Tween80) 和聚山梨醇酯20。例如，表面活性剂成分为油酸或其药学上可接受的盐，尤其是油酸。更合适地，表面活性剂成分为油酸或其药学上可接受的盐与聚山梨醇酯20或聚山梨醇酯80的化合物、尤其是油酸或其药学上可接受的盐 (例如油酸) 与聚山梨醇酯80的混合物。

[0042] 典型地，表面活性剂成分可以以10-30000ug/mL、例如100-20000ug/mL、例如100-5000ug/mL的浓度存在于制剂中。例如，当表面活性剂为油酸或其药学上可接受的盐时，油酸可以以1-100ug/mL的浓度存在于制剂中。例如，当表面活性剂成分为油酸或其药学上可接受的盐与聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯例如聚山梨醇酯20或聚山梨醇酯80时，油酸可以以10-30000ug/mL、例如100-20000ug/mL、例如100-5000ug/mL的浓度存在，且聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯例如聚山梨醇酯20或聚山梨醇酯80可以以10-20000ug/mL、例如100-15000ug/mL、例如100-5000ug/mL的浓度存在于制剂中。例如，各自以ug/mL测定的油酸或其药学上可接受的盐与聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯的量之比约为5:1-1:5，例如2:1-1:2。当使用盐形式时，上述量和比率基于游离酸 (油酸) 的当量。合适地，油酸作为油酸 (即不作为盐形式) 使用。

[0043] 可以使用的油酸的药学上可接受的盐形式包括钠盐、钾盐、铵盐，特别是钠盐。最合适地，油酸作为游离酸使用。

[0044] 本发明的液体药物制剂将适合于局部施用于肺或鼻。本发明的液体药物制剂可以通过吸入施用，例如可以通过口服吸入局部施用于肺或可以局部施用于鼻。应当理解，当通过口腔吸入局部施用于肺或局部施用于鼻时，适合于施用于肺或鼻的本发明的制剂因此可以牵涉施用于咽。

[0045] 在某些实施方案中，本发明的液体药物制剂包含抗病毒剂。抗病毒剂包括具有直接抗病毒活性的物质，例如通过抑制病毒复制，以及具有间接抗病毒活性的物质，例如通过

削弱病毒摄取,例如通过调节靶细胞的内体和溶酶体系统或通过刺激宿主免疫系统以引发抗病毒应答。在一个实施方案中,所述抗病毒剂为阿吡莫德(即游离碱)或其药学上可接受的盐,例如甲磺酸盐。在一个实施方案中,所述抗病毒剂为卡莫司他或其药学上可接受的盐,例如甲磺酸盐。在一个实施方案中,所述抗病毒剂为乌米芬诺韦。在一个实施方案中,所述抗病毒剂为奥司他韦或其药学上可接受的盐,特别是磷酸奥司他韦。在一个实施方案中,所述抗病毒剂为利巴韦林或其药学上可接受的盐,特别是利巴韦林。在一个实施方案中,所述抗病毒剂为吡罗达韦或其药学上可接受的盐,特别是吡罗达韦。在一个实施方案中,所述抗病毒剂为瑞德西韦或其药学上可接受的盐,特别是瑞德西韦。在一个实施方案中,所述抗病毒剂为莫尔奴匹韦或其药学上可接受的盐,特别是莫尔奴匹韦。在一个实施方案中,所述抗病毒剂为冠状病毒3CL蛋白酶抑制剂,例如尼尔马特韦或其药学上可接受的盐,特别是尼尔马特韦。在一个实施方案中,所述抗病毒剂为洛匹那韦或其药学上可接受的盐,特别是洛匹那韦。在一个实施方案中,所述抗病毒剂为尼尔马特韦或其药学上可接受的盐,特别是尼尔马特韦。在一个实施方案中,所述抗病毒剂为利托那韦或其药学上可接受的盐,特别是利托那韦,其与利托那韦或其药学上可接受的盐,特别是利托那韦组合使用。在一个实施方案中,所述抗病毒剂为洛匹那韦或其药学上可接受的盐,特别是洛匹那韦,其与利托那韦或其药学上可接受的盐,特别是利托那韦组合使用。在一个实施方案中,所述抗病毒剂为巴洛沙韦或其药学上可接受的盐,特别是巴洛沙韦酯。在一个实施方案中,所述抗病毒剂为恩司他韦或其药学上可接受的盐,特别是富马酸恩司他韦。在一个实施方案中,所述抗病毒剂为法维拉韦(T-705)或其药学上可接受的盐,特别是法维拉韦。在一个实施方案中,所述抗病毒剂为扎那米韦或其药学上可接受的盐,特别是扎那米韦。

[0046] 在一个实施方案中,所述抗病毒剂为奥司他韦或其药学上可接受的盐,特别是磷酸奥司他韦。在一个实施方案中,所述抗病毒剂为羧酸奥司他韦或其药学上可接受的盐。在一个实施方案中,所述抗病毒剂为拉尼米韦或其药学上可接受的盐,特别是拉尼米韦。在一个实施方案中,所述抗病毒剂为辛酸拉尼米韦。在一个实施方案中,所述抗病毒剂为芦平曲韦或其药学上可接受的盐,特别是芦平曲韦。

[0047] 当本发明的液体药物制剂用于治疗或预防SARS CoV-2感染或COVID-19时,合适地,所述抗病毒剂选自阿吡莫德、卡莫司他、萘莫司他、乌米芬诺韦、瑞德西韦、莫尔奴匹韦、尼尔马特韦、洛匹那韦及其任意一种的药学上可接受的盐。或者,合适地,所述抗病毒剂选自恩司他韦、法维拉韦、芦平曲韦及其任意一种的药学上可接受的盐。

[0048] 当本发明的液体药物制剂用于治疗或预防流感病毒感染或流感时,合适地,所述抗病毒剂选自卡莫司他、萘莫司他、乌米芬诺韦及其药学上可接受的盐。或者,合适地,所述抗病毒剂选自巴洛沙韦、法维拉韦、奥司他韦、扎那米韦、拉尼米韦、辛酸拉尼米韦及其药学上可接受的盐,特别是奥司他韦或羧酸奥司他韦及其药学上可接受的盐。

[0049] 当本发明的液体药物制剂用于治疗或预防呼吸道合胞病毒(RSV)感染或与RSV相关的疾病时,合适地,所述抗病毒剂选自利巴韦林及其药学上可接受的盐。

[0050] 当本发明的液体药物制剂用于治疗或预防人鼻病毒(HRV)感染或与HRV相关的疾病时,合适地,所述抗病毒剂选自吡罗达韦、芦平曲韦及其药学上可接受的盐。

[0051] 当本发明的液体药物制剂用于治疗或预防冠状病毒感染(例如季节性冠状病毒感染,例如229E感染)并且与病毒感染相关的疾病是与冠状病毒感染相关的疾病(例如季节性

冠状病毒感染,例如229E感染)时,合适地,所述抗病毒剂选自阿吡莫德、卡莫司他、恩司他韦、法维拉韦、萘莫司他、乌米芬诺韦、瑞德西韦、芦平曲韦、莫尔奴匹韦、尼尔马特韦、洛匹那韦及其任意一种的药学上可接受的盐。

[0052] 相关抗病毒剂和利托那韦的合成细节可以从如下文件中收集:阿吡莫德:W02003/047516,卡莫司他:Senokuchi等人,萘莫司他:EP0048433B1,乌米芬诺韦:Chai等人,瑞德西韦:W02017/184668,莫尔奴匹韦:US2020/0276219,尼尔马特韦:Owen等人,洛匹那韦:US5914332,ritonavir:US5541206,奥司他韦:US5763483,吡罗达韦:US5231184,利巴韦林:USRE29835,巴洛沙韦:JPW02016/175224,恩司他韦:Unoh等人,法维拉韦:US6800629,芦平曲韦:Dragovich等人,和扎那米韦:US5360817,每篇文件各自的内容通过引用整体并入作为参考。尼尔马特韦也称作PF07321332。

[0053] 可以使用的碱性化合物的药学上可接受的盐包括酸加成盐,例如盐酸盐、氢溴酸盐、乙酸盐、琥珀酸盐和甲磺酸盐。

[0054] 典型地,抗病毒剂可以以0.01-2000ug/mL、例如0.01-200ug/mL的浓度存在于制剂中。例如,当所述抗病毒剂为阿吡莫德(即游离碱)或其药学上可接受的盐(例如甲磺酸盐)时,阿吡莫德可以以2-200ug/mL的浓度存在于制剂中。例如,当所述抗病毒剂为卡莫司他(即游离碱)或其药学上可接受的盐(例如甲磺酸盐)时,卡莫司他可以以1-100ug/mL的浓度存在于制剂中。例如,当所述抗病毒剂为萘莫司他(即游离碱)或其药学上可接受的盐(例如甲磺酸盐)时,萘莫司他可以以0.1-100ug/mL的浓度存在于制剂中。例如,当所述抗病毒剂为乌米芬诺韦或其药学上可接受的盐时,乌米芬诺韦可以以10-10000ug/mL的浓度存在于制剂中。例如,当所述抗病毒剂为瑞德西韦或其药学上可接受的盐时,瑞德西韦可以以0.01-100ug/mL的浓度存在于制剂中。例如,当所述抗病毒剂为莫尔奴匹韦或其药学上可接受的盐时,莫尔奴匹韦可以以0.01-10ug/mL的浓度存在于制剂中。例如,当所述抗病毒剂为尼尔马特韦或其药学上可接受的盐时,尼尔马特韦可以以0.01-10ug/mL的浓度存在于制剂中。例如,当所述抗病毒剂为洛匹那韦或其药学上可接受的盐时,洛匹那韦可以以1-1000ug/mL的浓度存在于制剂中。例如,当所述抗病毒剂为奥司他韦或其药学上可接受的盐时,奥司他韦可以以0.01-100ug/mL的浓度存在于制剂中。例如,当所述抗病毒剂为羧酸奥司他韦或其药学上可接受的盐时,羧酸奥司他韦可以以0.01-100ug/mL的浓度存在于制剂中。例如,当所述抗病毒剂为吡罗达韦或其药学上可接受的盐时,吡罗达韦可以以0.1-100ug/mL的浓度存在于制剂中。例如,当所述抗病毒剂为利巴韦林或其药学上可接受的盐时,利托那韦可以以1-1000ug/mL的浓度存在于制剂中。例如,当所述抗病毒剂为巴洛沙韦或其药学上可接受的盐时,巴洛沙韦可以以0.01-10ug/mL的浓度存在于制剂中。例如,当所述抗病毒剂为恩司他韦或其药学上可接受的盐时,恩司他韦可以以0.01-100ug/mL的浓度存在于制剂中。例如,当所述抗病毒剂为法维拉韦或其药学上可接受的盐时,法维拉韦可以以1-1000ug/mL的浓度存在于制剂中。例如,当所述抗病毒剂为扎那米韦或其药学上可接受的盐时,扎那米韦可以以0.01-100ug/mL的浓度存在于制剂中。例如,当所述抗病毒剂为拉尼米韦或其药学上可接受的盐时,拉尼米韦可以以0.01-100ug/mL的浓度存在于制剂中。例如,当所述抗病毒剂为辛酸拉尼米韦或其药学上可接受的盐时,辛酸拉尼米韦可以以0.01-100ug/mL的浓度存在于制剂中。例如,当所述抗病毒剂为芦平曲韦或其药学上可接受的盐时,芦平曲韦可以以0.01-100ug/mL的浓度存在于制剂中。

[0055] 利托那韦或其药学上可接受的盐为肠和肝细胞色素p450 3A4的强效抑制剂,并且可以包含在液体药物制剂中以增强另一种抗病毒剂例如尼尔马特韦或洛匹那韦的作用(Choy等人)。

[0056] 例如,当包括利托那韦或其药学上可接受的盐时,利托那韦可以以0.005-5ug/mL的浓度存在于制剂中。

[0057] 例如,当所述抗病毒剂为与利托那韦或其药学上可接受的盐组合使用的尼尔马特韦或其药学上可接受的盐时,尼尔马特韦可以以0.01-10ug/mL的浓度存在于制剂中,且利托那韦可以以0.005-5ug/mL的浓度存在。例如,当所述抗病毒剂为与利托那韦或其药学上可接受的盐组合使用的洛匹那韦或其药学上可接受的盐时,洛匹那韦可以以1-1000ug/mL的浓度存在于制剂中,且利托那韦可以以0.25-250ug/mL的浓度存在。当使用盐形式时,上述量基于抗病毒剂的游离形式(例如碱/酸)的当量。

[0058] 液体药物制剂可以为溶液制剂,其中抗病毒剂溶解在该制剂中。在溶液制剂的情况下,选择抗病毒剂的可溶形式。例如,阿吡莫德的甲磺酸盐可溶于水。

[0059] 或者,水性药物制剂可以为混悬液制剂,其包含细碎形式的固体抗病毒剂。当固体为细碎形式时,其具有适合于预期的递送途径,即递送至肺或鼻的尺寸。

[0060] 在某些实施方案中,液体药物制剂可以为水性制剂,其中抗病毒剂可以溶解或悬浮在制剂中。在抗病毒剂溶解在水性制剂中(即制剂是溶液制剂)的情况下,选择抗病毒剂的可溶形式。例如,阿吡莫德的甲磺酸盐可溶于水。抗病毒剂的溶解可以通过在制剂中包含溶剂来辅助,所述溶剂例如极性有机溶剂,例如醇、多元醇或聚乙二醇(PEG),例如乙醇。在抗病毒剂悬浮在水性制剂中的情况下,选择抗病毒剂的相对不溶性形式。例如,阿吡莫德碱相对不溶于水。在这种混悬液制剂中,抗病毒剂可以为固体和细碎的形式,其大小适合于预期的递送途径,即递送至肺或鼻。在水性制剂的情况下,制剂中使用的水可以为灭菌水。水性制剂可以任选地包括其他成分,例如防腐剂、缓冲剂和渗透剂。实例防腐剂包括依地酸及其碱金属盐,例如EDTA二钠(也称作“依地酸二钠”或“依地酸的二钠盐”)和EDTA钙(也称作“依地酸钙”)、苜醇、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、对羟基苯甲酸丁酯、三氯叔丁醇、苯乙醇、苯扎氯铵、硫柳汞、丙二醇、山梨酸和苯甲酸衍生物。实例缓冲剂包括基于弱有机酸的缓冲剂,例如柠檬酸盐/柠檬酸缓冲剂。渗透剂增加了制剂的摩尔渗透压浓度,因此增加了患者的舒适度。实例渗透剂包括多元醇,例如糖和糖醇,例如木糖醇和甘油(丙三醇)。适合于鼻部局部施用的水性制剂可以任选地包含润湿剂和增稠剂,例如透明质酸或其药学上可接受的盐。水性混悬液制剂可以任选地包含助悬剂以辅助维持混悬液,例如表面活性剂和纤维素衍生物,例如微晶纤维素/羧甲基纤维素钠(Avicel)、角叉菜胶和透明质酸或其药学上可接受的盐。制剂中的表面活性剂成分可以用作或有助于助悬剂的功能。

[0061] 水性液体药物制剂的pH典型地可以在宽范围内,例如在4-8。

[0062] 在某些实施方案中,水性液体药物制剂可以为胶束溶液,其中表面活性剂分子的亲水性“头部”区域与周围溶剂接触,隔离由表面活性剂分子的“尾部”区域形成的胶束中心中的疏水性单-尾区域。

[0063] 在某些实施方案中,液体药物制剂可以为加压液体制剂,其中抗病毒剂可以溶解或更优选悬浮在该制剂中。在加压液体混悬液制剂的情况下,将选择抗病毒剂的相对不溶性形式。例如,阿吡莫德的甲磺酸盐及其碱形式相对不溶于加压液体例如氢氟烷烃。在加压

液体溶液制剂的情况下,可以通过在制剂中包含溶剂(例如极性有机溶剂,例如乙醇)来辅助抗病毒剂的溶解。在混悬液制剂中,抗病毒剂将呈固体细碎的形式。制剂中的表面活性剂成分可以用作或有助于助悬剂的功能以辅助维持混悬液。当固体为细碎的形式时,其具有适合于预期的递送途径,即递送至肺或鼻的尺寸。

[0064] 典型地,上述制剂中的细碎形式的固体颗粒具有1-10 μm 范围内的质量中值空气动力学直径(MMAD),适当尺寸的颗粒可以通过空气喷射研磨、喷雾干燥、超临界流体萃取或纳米研磨来制备。固体颗粒的MMAD可以使用下一代冲击器(NGI)测定(Marple等人2021)。

[0065] 在加压液体制剂中使用的加压液体合适地为挥发性非极性液体,例如氢氟烷烃(HFA)或氢氟烯烃(HFO),例如HFA134a、HFA227、HFA152a、HF01234ze或HF01234zf或其混合物,尤其是HFA134a、HFA 152a或HF01234ze。

[0066] 在一些实施方案中,非加压液体药物制剂可以通过鼻喷雾装置或滴鼻剂施用器施用于鼻。鼻喷雾装置和滴鼻剂施用器在本领域中是已知的,并且在美国专利号US2577321和美国专利号US6000580中公开,其各自的内容通过引用整体并入本文。如本文所用,术语“滴鼻剂施用器”是指适合于施用滴鼻剂的任何分配器。鼻喷雾装置典型地施用计量体积的液体,例如其可以施用50-200 μL ,特别是100 μL 的体积。将计量体积适当地施用于每个鼻孔(例如每个鼻孔一次或两次)。

[0067] 在一些实施方案中,非加压液体药物制剂,特别是水性制剂,例如水溶液制剂,可以通过雾化器装置施用。雾化器典型地以连续方式产生用于吸入的气溶胶,只要它们被接通或呼吸致动即可。雾化器装置可以是手持式和便携式的,或者用于家庭或医院使用(即非便携式)。已建立的雾化器产品包括 **Aeroneb®**和 **Pari®**装置,并且在美国专利号US9364618中公开,其内容通过引用整体并入本文。雾化器装置可以例如是压电雾化器装置,已知其基于含有小孔(典型地为微米尺寸)的金属(典型地为不锈钢)网或膜的高频振动来产生均匀的气溶胶。产生的气溶胶可以通过合适的口或鼻件吸入而被引导至肺或肺和鼻。当本发明的制剂通过口腔吸入局部施用于肺或局部施用于鼻时,制剂可由此施用于咽。

[0068] 加压制剂通常将保持在用阀(例如计量阀)封闭的罐(例如铝罐)中,并装配到设置有接口管的致动器中。

[0069] 罐通常包含能够承受HFA抛射剂的蒸气压的容器,例如塑料或塑料涂覆的玻璃瓶,或优选金属罐,例如铝罐,其可任选地被阳极化、漆涂覆和/或塑料涂覆,该容器用计量阀封闭。如WO 96/32151中所述,优选罐涂覆有氟碳聚合物,例如聚醚砜(PES)和聚四氟乙烯(PTFE)的共聚物。可以考虑的用于涂层的另一种聚合物为FEP(氟化乙烯丙烯)。计量阀被设计成每次致动递送计量量的制剂,并且包含垫圈以防止抛射剂通过阀泄漏。垫圈可以包含任何合适的弹性体材料,例如低密度聚乙烯、氯丁基化合物、黑白丁二烯-丙烯腈橡胶、丁基橡胶和氯丁橡胶。如WO 92/11190中所述的热塑性弹性体阀和如WO 95/102651中所述的含有EPDM橡胶的阀是特别合适的。合适的阀可以从气溶胶工业中众所周知的制造商商购获得,例如,从Valois,法国(例如DF10,DF30,DF60)、Bespak pic,UK(例如BK300,BK356,BK357)和3M-Neotechnic Ltd,UK(例如Spraymiser™)法得到。法国Valois的DF 31阀也是合适的。

[0070] 阀密封件,特别是垫圈密封件,将优选由对制剂的内容物惰性并抵抗提取到制剂的内容物中的材料制成,特别是当内容物包括乙醇时。阀材料,特别是计量室的制造材料,

将优选由对制剂内容物惰性并抵抗制剂内容物变形的材料制造,特别是当内容物包括乙醇时。用于制造计量室的特别合适的材料包括聚酯,例如聚对苯二甲酸丁二醇酯(PBT)和缩醛,特别是PBT。计量室和/或阀杆的制造材料可以理想地是氟化的、部分氟化的或用含氟物质浸渍,以便抵抗药物沉积。阀室的尺寸将适合于待分配的剂量和液体药物制剂的浓度,例如25-100 μ L,例如25 μ L或100 μ L。

[0071] 可以采用药物气雾剂制造领域的技术人员众所周知的常规批量制造方法和机器来制备用于商业生产填充罐的大规模批次。因此,例如,在一种批量制造方法中,将计量阀压接到铝罐上以形成空罐。将含有药物、抛射剂和任何其它制剂成分的制剂通过装料容器压力填充到制造容器中。典型地,在为药物用途制备的批次中,每个填充的罐被检查称重,用批号编码并在释放测试之前包装到托盘中用于储存。在一种替代方法中,在以下条件下将液化制剂的等分试样添加到开口罐中:其足够冷,使得制剂不会蒸发,然后将计量阀压接到罐上。典型地,在为药物用途制备的批次中,每个填充的罐被检查称重,用批号编码并在释放测试之前包装到托盘中用于储存。

[0072] 每个填充的罐在使用之前方便地装配到合适的通道装置中,以形成用于将药物施用到患者的肺或鼻腔中的计量剂量吸入器。合适的引导装置包括例如阀致动器和圆柱形或锥形通道,药物可以通过该通道从填充的罐经由计量阀递送到患者的鼻或嘴,例如接口管致动器。计量剂量吸入器被设计成每次致动或“抽吸”递送固定单位剂量的药物,例如每次抽吸10-5000 μ g药物。

[0073] 在一种典型的布置中,阀杆位于喷嘴块中,该喷嘴块具有通向膨胀室的孔口。膨胀室具有延伸到烟嘴中的出口孔。致动器(出口)孔口直径在0.1-0.45mm的范围内通常是合适的,例如,0.15、0.22、0.25、0.30、0.33或0.42mm。孔口的尺寸不应小到使射流发生堵塞。

[0074] 致动器射流长度典型地在0.30-1.7mm的范围内,例如0.30、0.65或1.50mm。用于口腔施用(即口服施用)。

[0075] 致动器的精确形状和尺寸将适合于适当地局部施用到肺或鼻。

[0076] 本发明的一个方面为如本文所述的液体药物制剂,其用作局部施用于肺或鼻的药物,特别是用于治疗或预防病毒感染或与这种病毒感染相关的疾病。在一个实施方案中,所述液体药物制剂用于治疗病毒感染或与病毒感染相关的疾病。在另一个实施方案中,所述液体药物制剂用于预防病毒感染或与病毒感染相关的疾病。

[0077] 本发明的另一方面是治疗或预防病毒感染或与病毒感染相关的疾病或与这种病毒感染相关的疾病的方法,其包含向有需要的个体局部施用治疗或预防有效量的如本文所述的药物制剂。在一个实施方案中,该方法是治疗病毒感染或与病毒感染相关的疾病的方法。在另一个实施方案中,该方法是预防病毒感染或与病毒感染相关的疾病的方法。

[0078] 本发明的另一方面为如本文所述的液体药物制剂在制备用于局部施用于肺或鼻的药物中的用途,特别是用于治疗或预防病毒感染或与这种病毒感染相关的疾病。

[0079] 本发明的一个方面是适合于局部施用于肺或鼻的液体药物制剂,其包含选自油酸或其药学上可接受的盐和油酸或其药学上可接受的盐与聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯的混合物的表面活性剂成分,该制剂作为用于局部施用于肺(例如通过口服吸入)或鼻的药物用于治疗或预防病毒感染或与病毒感染相关的疾病。在一个实施方案中,液体药物制剂用于治疗病毒感染或与病毒感染相关的疾病。在另一个实施方案中,所述液体药物制剂用于

预防病毒感染或与病毒感染相关的疾病。

[0080] 本发明的另一方面为治疗或预防病毒感染或与病毒感染相关的疾病的方法,其包含向有需要的个体局部向肺(例如通过口服施用)或鼻施用治疗或预防有效量的药物制剂,所述药物制剂包含选自油酸或其药学上可接受的盐和油酸或其药学上可接受的盐与聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯的混合物的表面活性剂成分。在一个实施方案中,该方法为治疗病毒感染或与病毒感染相关的疾病的方法。在另一个实施方案中,该方法为预防病毒感染或与病毒感染相关的疾病的方法。

[0081] 本发明的另一方面为适合于局部施用至肺或鼻的液体药物制剂在制备用于局部施用于肺(例如通过口服吸入)或鼻的药物中的用途,所述液体药物制剂包含选自油酸或其药学上可接受的盐和油酸或其药学上可接受的盐与聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯的混合物的表面活性剂成分,所述药物用于预防病毒感染或与病毒感染相关的疾病。

[0082] 本发明的另一方面为适合于局部施用至肺(例如通过口服吸入)或鼻的液体药物制剂,其包含表面活性剂成分,所述表面活性剂成分选自油酸或其药学上可接受的盐和油酸或其药学上可接受的盐与聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯的混合物,该制剂用于改善体内上皮屏障功能(特别是肺或鼻上皮的屏障功能)。

[0083] 本发明的另一方面为适合于局部施用于肺(例如通过口服吸入)或鼻的液体药物制剂,其包含(i)选自油酸或其药学上可接受的盐和油酸或其药学上可接受的盐与聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯的混合物的表面活性剂成分,和(ii)用于改善体内上皮屏障功能(特别是肺或鼻上皮的屏障功能)的抗病毒剂。

[0084] 本发明的另一方面为一种改善个体的上皮屏障功能(特别是肺或鼻上皮的屏障功能)的方法,其包含向所述个体的肺(例如通过口服吸入)或鼻上皮局部施用液体药物制剂,所述液体药物制剂包含选自油酸或其药学上可接受的盐和油酸或其药学上可接受的盐与聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯的混合物的表面活性剂成分。

[0085] 本发明的另一方面为改善个体的上皮屏障功能(特别是肺或鼻上皮的屏障功能)的方法,该方法包含向所述个体的肺(例如通过口服吸入)或鼻上皮局部施用液体药物制剂,该液体药物制剂包含(i)表面活性剂成分,该表面活性剂成分选自油酸或其药学上可接受的盐和油酸或其药学上可接受的盐与聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯的混合物,和(ii)抗病毒剂。

[0086] 例如,关于上述方面,病毒感染为冠状病毒感染。例如,在上述方面,病毒感染为SARS-CoV-2感染,与病毒感染相关的疾病为COVID-19。例如,关于上述方面,病毒感染是季节性冠状病毒,例如229E,并且与病毒感染相关的疾病为与季节性冠状病毒例如229E感染相关的疾病。例如,关于上述方面,病毒感染为流感病毒感染,并且与病毒感染相关的疾病为流感。例如,关于上述方面,病毒感染为呼吸道合胞病毒(RSV),并且与病毒感染相关的疾病为与RSV感染相关的疾病。例如,关于上述方面,病毒感染为人鼻病毒(HRV),并且与病毒感染相关的疾病为与HRV感染相关的疾病。

[0087] 如本文所用,“流感病毒”包括甲型流感病毒、乙型流感病毒、丙型流感病毒和丁型流感病毒,例如甲型流感病毒或乙型流感病毒。

[0088] 在预防病毒感染或与病毒感染相关的疾病的方法中,液体药物制剂适当地在潜在暴露于病毒感染之前约1-3天施用于有需要的个体,例如每天直至每天1-4次。

[0089] 在治疗病毒感染或与病毒感染相关的疾病的方法中,液体药物制剂适当地首先在暴露于病毒感染的72小时内,适当地在48小时内施用于有需要的个体。治疗施用典型地进行3-10天,例如5-10天。

[0090] 在本文所述的方法中,将液体药物制剂以每天1-4次的频率施用。

[0091] 用于如本文所述的方法的每次施用的液体药物制剂的合适剂量为治疗或预防有效剂量,其可以由本领域技术人员确定。

[0092] 适当地,如本文所述的治疗或预防用于治疗或预防哺乳动物、特别是人的病毒感染或疾病。

[0093] 本发明的一个替代方面涉及一种适合于局部适用于肺或鼻的液体药物制剂,其包含选自油酸或其药学上可接受的盐和油酸或其药学上可接受的盐与聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯的混合物的表面活性剂成分。合适地,所述制剂为水性制剂。表面活性剂的合适量和浓度如上所述。这种制剂可一用于治疗或预防病毒感染或与病毒感染相关的疾病。本发明还提供了治疗或预防所述感染/疾病的方法,其包含向有需要的个体施用治疗或预防有效量的所述药物制剂。本发明还提供了如本文所述的这种制剂在制备用于局部施用于肺或鼻的药物中的用途,特别是用于治疗或预防病毒感染或与这种病毒感染相关的疾病。感染/疾病的实例如上所述,并且包括SARS-CoV-2/COVID-19和流感病毒感染/流感。可以将制剂局部施用于肺,例如通过口服吸入或局部施用于鼻。

[0094] 如本文所用,“个体”合适地为人个体。

[0095] 暴露后病毒感染的治疗可以导致疾病的预防,因此病毒感染的“治疗”包括与病毒感染相关的疾病的暴露后预防。

[0096] 在本发明的制剂中,当共同配制时,表面活性剂和抗病毒剂具有有利的药学和生物学特性。然而,制剂的成分可替代地在单独的制剂中共同施用。因此,本发明还提供了适合于局部施用于肺或鼻的液体药物制剂,其包含选自油酸或其药学上可接受的盐和油酸或其药学上可接受的盐与聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯的混合物的表面活性剂成分,该液体药物制剂与适合于局部施用于肺或鼻的包含抗病毒剂的液体药物制剂组合使用,由此将包含表面活性剂成分的制剂和包含抗病毒剂的制剂共同施用。本发明还提供了一种治疗或预防病毒感染或与病毒感染有关的疾病或与这种病毒感染有关的疾病的方法,该方法包含联合施用:(i)适合于局部施用于肺或鼻的液体药物制剂,该制剂包含选自油酸或其药学上可接受的盐和油酸或其药学上可接受的盐与聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯的混合物的表面活性剂成分,和(ii)适合于局部施用于肺或鼻的液体药物制剂,其包含抗病毒剂。可以将制剂局部施用于肺,例如通过口服吸入或局部施用于鼻。在上下文中,所谓“共同施用”是指两种制剂基本上同时施用,例如同时或在彼此的几秒(例如1-3秒)内施用。

实施例

[0097] 将本文使用的缩写定义如下(表1)。未定义的任何缩写旨在传达其普遍接受的含义。

[0098] 表1:缩写

[0099] ALI 气液界面

[0100] Ct 周期阈值

- [0101] hr 小时
 [0102] MOI 感染复数
 [0103] ORF 开放读框
 [0104] PBS 磷酸缓冲盐水
 [0105] PCR 聚合酶链反应
 [0106] SARS-CoV-2 严重急性呼吸器官综合征冠状病毒2
 [0107] TEER 跨上皮电阻
 [0108] 材料
 [0109] 所有原料和溶剂均从商业来源获得。
 [0110] 实施例1A:用于通过鼻喷雾装置施用于鼻的阿吡莫德液体药物制剂实例
 [0111] 可以制备下列水性混悬液制剂:

制剂成分	功能	制剂状态	药物产品中的浓度	每次喷雾的量
阿吡莫德	活性成分	混悬液	2.00% w/w	2000 µg
油酸	活性成分	溶液	2.00% w/w	2000 µg
聚山梨醇酯 80	活性成分	溶液	1.50% w/w	1500 µg
[0112] 微晶纤维素/羧甲基纤维素钠(Avicel RC591)	助悬剂	混悬液	2.00% w/w	2000 µg
透明质酸	助悬/湿润/增稠剂	混悬液	1.00% w/w	1000 µg
甘油	渗透剂	溶液	2.1% w/w	2100 µg
柠檬酸一水合物	缓冲剂	溶液	0.20% w/w	200 µg
柠檬酸钠二水合物	缓冲剂	溶液	0.28% w/w	280 µg
纯水	稀释剂		q.s.	88.92 mg

- [0113] 该制剂可以通过鼻喷雾装置(例如喷雾体积100µL,每个鼻孔1-2次喷雾)施用于鼻,用于预防或治疗病毒感染,例如SARS-CoV-2。
 [0114] 实施例1B:用于通过鼻喷雾装置施用于鼻的扎那米韦的液体药物制剂实例
 [0115] 可以制备下列水性混悬液制剂:

制剂成分	功能	制剂状态	药物产品中的浓度	每次喷雾的量
扎那米韦	活性成分	溶液	5.00% w/w	5000 µg
油酸	活性成分	溶液	2.00% w/w	2000 µg
聚山梨醇酯 80	活性成分	溶液	1.50% w/w	1500 µg
[0116] 微晶纤维素/羧甲基纤维素钠(Avicel RC591)	助悬剂	混悬液	2.00% w/w	2000 µg
透明质酸	助悬/湿润/增稠剂	混悬液	1.00% w/w	1000 µg
甘油	渗透剂	溶液	2.1% w/w	2100 µg
柠檬酸一水合物	缓冲剂	溶液	0.20% w/w	200 µg
柠檬酸钠二水合物	缓冲剂	溶液	0.28% w/w	280 µg
纯水	稀释剂		q.s.	85.92 mg

[0117] 该制剂可以通过鼻喷雾装置(例如喷雾体积100µL,每个鼻孔1-2次喷雾)施用于鼻,用于预防或治疗病毒感染,例如流感。

[0118] 实施例2:用SARS-CoV-2感染的气-液界面(ALI)培养的人上皮细胞中的病毒载量和细胞完整性的评估-使用阿吡莫德的研究

[0119] 实验方法

[0120] 可以使原代人鼻、气管和支气管上皮细胞在气-液界面(ALI)处培养和分化,形成由纤毛细胞、杯状细胞、棒状细胞和基底细胞组成的假复层粘膜纤毛气道上皮,其排列紧密反映体内细胞组织化。这种在ALI培养的人气道上皮(HAE)的体外模型(HAE-ALI)密切地概括了在体内感染的上呼吸道和下呼吸道中观察到的呼吸道病毒-宿主细胞相互作用的许多重要特征,并已用于研究许多人呼吸道病毒,包括SARS-CoV-2。值得注意的是,在ALI处的分化导致病毒受体ACE2在顶膜上的表达和极性呈递的急剧增加以及TMPRSS2的高水平表达。因此,HAE-ALI是研究体外SARS-CoV-2感染的最佳细胞培养模型。

[0121] 根据制造商的说明,将ALI培养的混合供体的人鼻上皮(由EpitelixSarl(瑞士日内瓦)提供)与Costar Transwell插入物(美国纽约州康宁市)中的MucilAir™培养基保在气液界面,并用于SARS-CoV-2感染(里昂大学VirNext),如先前报道的(Pizzorno等人,2020, Cell Rep Med.1(4):1000059)。第0天,接种SARS-CoV-2疫苗(菌株BetaCoV/France/IDF0571/2020(登录号EPI_ISL_411218),100µL;MucilAir培养基中稀释以得到感染复数最

终MOI为0.1)添加到顶端表面持续1hr (37°C/5%CO₂)。除去病毒接种物,并用无菌PBS(含Ca²⁺/Mg²⁺)洗涤插入物。

[0122] 如图1中所示例的,ALI培养物在病毒接种前10min顶部给予溶于水的阿吡莫德(作为甲磺酸盐)(2mg/ml,50μL)、表面活性剂(0.15%w/w聚山梨醇酯80和0.2%w/w油酸)或阿吡莫德(作为甲磺酸盐)和表面活性剂,并且在第0天与病毒接种物一起另外60min(然后与如上所述的病毒接种物一起除去),并且还在第1天(接种后24hr)重新施加至顶部表面持续10min,然后除去。在相应的顶部表面上进行媒介物(水)处理以确保每个孔接受相同数量的操作。此外,在第0天和第1天将瑞德西韦(5μM)加入基底外侧室。在第2天(病毒接种后48hr),通过向每个孔的顶端表面添加200μL OptiMEM™培养基进行取样10min(储存在-80°C)。

[0123] 如Pizzorno等人(Cell Rep Med.1(4):100059,2020)所报道的,通过RT-PCR定量病毒载量。裂解上清液,并用QIAamp Viral RNA Mini Kit(Qiagen)提取病毒RNA。通过RT-qPCR(Express One-Step Superscript™ qRT-PCR试剂盒,Invitrogen)定量病毒RNA。用于病毒基因组定量的SARS-CoV-2特异性引物和探针如下:靶标:ORF1b-nsp14正向引物(HKU-ORF1b-nsp14F)5'-TGGGGYTTTACRGGTAACCT-3'反向引物(HKU-ORF1b-nsp14R)5'-AACRCGCTTAACAAGCACTC-3'探针(HKU-ORF1b-nsp141P)5'-FAM-TAGTTGTGATGCWATCATGACTAG-TAMRA-3'。确定Ct数据,并使用2^{-ΔCt}方法计算基因表达的相对改变,且显示为基因组拷贝数(SARS-CoV-2的ORF1b-nsp14基因)相对于媒介物处理的感染对照的平均值的倍数减少。

[0124] 通过测量跨上皮电阻(TEER)来研究SARS-CoV-2感染前后气-液界面培养的假复层上皮紧密连接动力学的完整性,作为上皮损伤的替代物。将筷子电极放置在顶端室和基底外侧室中,并使用专用的伏特欧姆计(EVOM2,用于TEER的上皮伏特/欧姆计)测量TEER,并表示为Ω·cm²。

[0125] 结果

[0126] 在接种后48hr,在病毒对照(RT-PCR:Ct=12.1)的顶端洗涤液中检测到高水平的SARS-CoV-2复制。当将每种处理的病毒载量与模拟对照(=1)中的病毒载量进行比较时,单独的阿吡莫德仅显示边际效应(0.1log减少),并且表面活性剂表现出1.3log的病毒载量减少。然而,阿吡莫德和表面活性剂的组合显示出对降低病毒载量的协同作用,导致与病毒感染对照相比2.2Log降低(参见图2)。测定对照瑞德西韦(5μM)显示病毒载量的3.4log减少,如所预期的(Pizzorno等人,2020,Cell Rep Med.1(4):100059)。

[0127] 在媒介物处理的病毒感染对照中,SARS-CoV-2感染显著降低了病毒接种后48hr的TEER值。病毒对上皮的快速损伤通过免疫组织化学显示为分散的闭合小带-1(ZO-1)表达而没有清晰的紧密连接和部分纤毛丧失(Hao等人,2020,mBio,11(6):e02852-20)。相反,单独的阿吡莫德显示出对病毒诱导的TEER降低的部分抑制(48%效果)。然而,表面活性剂和阿吡莫德与表面活性剂的组合完全恢复了TEER并且还进一步增加了TEER水平(参见图3)。因此,这些处理保护免受病毒诱导的细胞损伤,并通过修复或细胞增殖进一步加强上皮屏障。测定对照瑞德西韦(5μM)也保护了81%,如预期的(Pizzorno等人,2020,Cell Rep Med.1(4):100059)。

[0128] 用气-液培养的人原代鼻上皮细胞评估抗病毒作用。细胞经历广泛的粘液纤毛分

化,导致培养物具有与在正常人鼻上皮中观察到的相似的形态特征。作为结果,该细胞模型近似模拟人鼻腔中的SARS-CoV-2感染。

[0129] 实施例3:用SARS-CoV-2感染的气-液界面(ALI)培养的人上皮细胞中病毒载量和细胞完整性的评估-使用羧酸奥司他韦的研究

[0130] 实验方法

[0131] 根据制造商的说明书,将ALI培养的合并供体的人鼻上皮(由Epithelix Sarl (Geneva, Switzerland) 提供)用Costar Transwell插入物(Corning, NY, USA)中的MucilAir™培养基维持在气-液界面。在第0天,将H1N1接种物(菌株A/Switzerland/7717739/2013(H1N1), 100 μ L, 在MucilAir培养基中稀释以得到4.85E3基因组拷贝数/ml)添加到顶端表面1.5hr (34 $^{\circ}$ C/5%CO₂)。除去病毒接种物,并用无菌培养基洗涤插入物。

[0132] 在病毒接种前10min,向ALI培养物顶部给予羧酸奥司他韦(1 μ M)、表面活性剂(0.15%聚山梨醇酯80和0.2%油酸)或在表面活性剂中的羧酸奥司他韦,并且在第0天与病毒接种物一起再给予90min(然后与如上所述的病毒接种物一起除去),并且还在第1天(接种后24hr)重新施用于顶部表面10min,然后除去。在相应的顶部表面上进行媒介物(水)处理以确保每个孔接受相同数量的操作。此外,在第0天将羧酸奥司他韦(10 μ M)加入基底外侧室。在第1天和第2天(病毒接种后24hr和48hr),通过向每个孔的顶端表面添加200 μ L培养基进行取样20min(储存在-80 $^{\circ}$ C)。羧酸奥司他韦为奥司他韦的活性代谢物,其为市售产品**Tamiflu®**。(磷酸奥司他韦)的活性成分,并且在施用后在体内产生。

[0133] 裂解上清液,并用QIAamp 96病毒QUAcube HT试剂盒(Qiagen)提取病毒RNA。通过RT-qPCR(QuantiTect Probe RT-PCR, Qiagen)用qTOWER3检测系统定量病毒RNA。将Ct数据报告给标准曲线并表示为基因组拷贝数/ml。如上所示测量跨上皮电阻(TEER)。

[0134] 结果

[0135] 在接种后24hr,在来自病毒对照的顶端洗涤液中检测到高水平的H1N1复制。当将每种处理的病毒载量与模拟对照的病毒载量进行比较时,单独的羧酸奥司他韦仅显示出边际效应(1.0log减少),并且表面活性剂未显示出病毒载量的减少。然而,羧酸奥司他韦和表面活性剂的组合显示出降低病毒载量的协同作用,与病毒感染对照相比,导致2.2Log降低(参见图4)。测定对照羧酸奥司他韦(在基础室中10 μ M)显示病毒载量的1.7log减少。

[0136] 与无感染对照相比,H1N1感染在感染后24hr仅略微降低跨上皮电阻(TEER:作为上皮完整性的标志)的值,并且在感染后48hr强烈降低跨上皮电阻的值。在感染后48hr,单独的羧酸奥司他韦和单独的表面活性剂分别完全和部分恢复了由H1N1降低的TEER水平,但奥司他韦和表面活性剂的组合进一步增加了TEER水平(参见图5)。因此,这些处理保护免受病毒诱导的细胞损伤,并通过修复或细胞增殖进一步加强上皮屏障。测定对照羧酸奥司他韦(10 μ M,基底处理)也防止上皮完整性的丧失。

[0137] 生物学数据概述

[0138] 阿吡莫德、表面活性剂及其组合的体外抗病毒活性已通过减少感染的鼻上皮中的SARS-CoV-2病毒载量证明。在该测定系统中,通过RT-PCR从所产生的病毒基因组的减少中检测和定量病毒复制的抑制。表面活性剂是高活性的,并且存在阿吡莫德和表面活性剂的组合的显著且明显的协同抗病毒作用。也证实了奥司他韦和表面活性剂的组合对流感病毒感染的鼻上皮优异的抗病毒作用。

[0139] 在SARS-CoV-2感染或流感感染后,在媒介物处理的病毒感染对照中,还发现跨上皮电阻(TEER:作为上皮完整性的标志)的值显著降低。使用阿吡莫德导致SARS-CoV-2诱导的TEER降低的部分抑制,并且使用表面活性剂,特别是阿吡莫德和表面活性剂的组合完全抑制SARS-CoV-2诱导的TEER降低,乃至增加的TEER。单独的羧酸奥司他韦和单独的表面活性剂分别完全和部分恢复了由流感病毒感染降低的TEER水平,但羧酸奥司他韦和表面活性剂的组合进一步增加了TEER水平。这些结果启示,这种处理保护免受病毒诱导的细胞损伤,并且还通过修复或细胞增殖增强屏障的完整性。因此,施用的治疗和预防效果都是明显的。

[0140] 结果显示,本发明的含有如本文所述的包含油酸的表面活性剂成分的液体药物制剂,特别是含有如本文所述的包含油酸的表面活性剂成分和抗病毒剂例如阿吡莫德或羧酸奥司他韦的液体药物制剂,当局部施用于肺或鼻时,预期可用于治疗或预防病毒感染例如SARS-CoV-2和与其相关的疾病例如COVID-19或流感。

[0141] 尽管表面活性剂与抗病毒剂阿吡莫德和羧酸奥司他韦的组合在降低病毒载量和恢复TEER方面最有效,但单独的表面活性剂在SARS-CoV-2感染期间在降低病毒载量和恢复TEER方面具有显著的活性。单独的表面活性剂在流感病毒感染期间在恢复TEER方面也具有显著的活性。恢复TEER(屏障完整性的替代物)的效果支持单独使用表面活性剂以及与抗病毒剂一起使用以预防病毒感染以及治疗病毒感染。

[0142] 参考文献

[0143] Cantuti-Castelvetri L,Ojha R,Pedro LD,Djannatian M,Franz J,Kuivanen S,van der Meer F,Kallio K,Kaya T,Anastasina M,Smura T,Levanov L,Szirovicza L,Tobi A,Kallio-Kokko H, **Österlund** P,Joensuu M,Meunier FA,Butcher SJ,Winkler MS,Mollenhauer B,Helenius A,Gokce O,Teesalu T,Hepojoki J,Vapalahti O,Stadelmann C,Balistreri G,Simons M.Neuropilin-1 facilitates SARS-CoV-2 cell entry and infectivity.Science.2020年11月13日;370(6518):856-860.doi:10.1126/science.abd2985.Epub 2020年10月20日.PMID:33082293;PMCID:PMC7857391。

[0144] Cattaneo D,Gervasoni C,Corbellin OM,Galli M,Rjva A,Clementi E.Does lopinavir really inhibit SARS-CoV-2?Pharmacol Res.2020年8月;158:104898.doi:10.1016/j.phrs.2020.104898.Epub 2020年5月11日.PMID:32438034;PMCID:PMC7211645。

[0145] Chai H,Zhao Y,Zhao C,Gong P.Synthesis and in vitro anti-hepatitis B virus activities of some ethyl 6-bromo-5-hydroxy-1H-indole-3-carboxylates.Bioorg Med Chem.2006年2月15日;14(4):911-7.doi:10.1016/j.bmc.2005.08.041.Epub 2005年9月23日.PMID:16183290。

[0146] Choy KT,Wong AY,Kaewpreedee P,Sia SF,Chen D,Hui KPY,Chu DKW,Chan MCW,Cheung PP,Huang X,Peiris M,Yen HL.Remdesivir,lopinavir,emetine,and homoharringtonine inhibit SARS-CoV-2 replication invitro.Antiviral Res.2020Jun;178:104786.doi:10.1016/j.antiviral.2020.104786.Epub 2020年4月3日.PMID:32251767;PMCID:PMC7127386。

[0147] Dragovich PS,Prins TJ,Zhou R等人Structure-based design,synthesis,and biological evaluation of irreversible human rhinovirus 3C protease

inhibitors.4.Incorporation of P1 lactam moieties as L-glutamine replacements.J Med Chem.1999.42(7):1213-1224.

[0148] Ford N,Vitoria M,Rangaraj A,Norris SL,Calmy A,Doherty M.Systematic review of the efficacy and safety of antiretroviral drugs against SARS,MERS or COVID-19:initial assessment.J Int AIDS Soc.2020年4月;23(4):e25489.doi:10.1002/jia2.25489.PMID:32293807;PMCID:PMC7158851.

[0149] Pizzorno A,Padey B,Julien T,Trouillet-Assant S,Traversier A,Errazuriz-Cerda E,Fouret J,Dubois J,Gaymard A,Lescure FX,Dulière V,Brun P,Constant S,Poissy J,Lina B,Yazdanpanah Y,Terrier O,Rosa-Calatrava M.Characterization and Treatment of SARS-CoV-2in Nasal and Bronchial Human Airway Epithelia.Cell Rep Med.2020年7月21日;1(4):100059.doi:10.1016/j.xcrm.2020.100059.PMID:Hao S,Ning K,Kuz CA,Vorhies K,Yan Z,Qiu J.Long-Term Modeling of SARS-CoV-2Infection of In Vitro Cultured Polarized Human Airway Epithelium.mBio.2020年11月6日;11(6):e02852-20.doi:10.1128/mBio.02852-20.PMID:33158999;PMCID:PMC7649230.

[0150] Hoffmann M,Schroeder S,Kleine-Weber H,Müller MA,Drosten C,**Pöhlmann** S.Nafamostat Mesylate Blocks Activationof SARS-CoV-2:New Treatment Option for COVID-19.Antimicrob Agents Chemother.2020May 21;64(6):e00754-20.doi:10.1128/AAC.00754-20.PMID:32312781;PMCID:PMC7269515.

[0151] Hoffmann M,**Mösbauer** K,Hofmann-Winkler H,Kaul A,Kleine-Weber H,Krieger N,Gassen NC,Müller MA,Drosten C,**Pöhlmann** S.Chloroquine does not inhibit infection of human lung cells with SARS-CoV-2.Nature.2020Sep;585(7826):588-590.doi:10.1038/s41586-020-2575-3.Epub 2020年7月22日.PMID:32698190.

[0152] Hoffmann M,Hofmann-Winkler H,Smith JC,Krüger N,Arora P,**Sørensen** LK,**Søgaard** OS,**Hasselstrøm** JB,Winkler M,Hempel T,RaichL,Olsson S,Danov O,Jonigk D,Yamazoe T,Yamatsuta K,Mizuno H,Ludwig S,Noé F,Kjolby M,Braun A,Sheltzer JM,**Pöhlmann** S.Camostat mesylate inhibits SARS-CoV-2activation by TMPRSS2-related proteasesand its metabolite GBPA exerts antiviral activity.EBioMedicine.2021年3月;65:103255.doi:10.1016/j.ebiom.2021.103255.Epub 2021年3月4日.PMID:33676899;PMCID:PMC7930809.

[0153] Huang D,Yu H,Wang T,Yang H,Yao R,Liang Z.Efficacy and safety of umifenovir for coronavirus disease 2019 (COVID-19):A systematic review and meta-analysis.J Med Vir01.2021年1月;93(1):481-490.doi:10.1002/jmv.26256.Epub 2020年7月14日.PMID:32617989;PMCID:PMC7361300.

[0154] Kabinger F,Stiller C,Schmitzová J,Dienemann C,Kokic G,Hillen HS,**Höbartner** C,Cramer P.Mechanism of molnupiravir-induced SARS-CoV-2mutagenesis.Nat Struct Mol Biol.2021年9月;28(9):740-746.doi:10.1038/s41594-

021-00651-0.Epub 2021年8月11日.PMID:34381216;PMCID:PMC8437801。

[0155] Kadam RU,Wilson IA.Structural basis of influenza virus fusion inhibition by the antiviral drug Arbidol.Proc Natl Acad Sci U S A.2017年1月10日;114(2):206-214.doi:10.1073/pnas.1617020114.Epub 2016年12月21日.PMID:28003465;PMCID:PMC5240704。

[0156] Owen,D.R.,Allerton,C.,Anderson,A.S.,Aschenbrenner,L.M.,Ayery,M.,Berritt,S.,Boras,B.W.,Cardin,R.D.,Carlo,A.A.,Coffman,K.J.,Dantoni0,A.,Di,L.S.,Eng,H.,Ferre,R.A.,Gajiwala,K.S.,Gibson,S.A.,Greasley,S.E.,Hurst,B.,Kadar,E.P.,Kalgutkar,A.S.,Lee,J.C.,Lee,J.,Liu,W.,Mason,S.W.,Noell,S.E.,Novak,J.J.,Obach,R.S.,Ogilvie,K.,Patel,N.C.,Pettersson,M.,Rai,D.K.,Reese,M.R.,Sammons,M.F.,Sathish,J.G.,Singh,R.,Steppan,C.,Stewart,A.E.,Tuttle,J.B.,Updyke,L.W.,Verhoest,P.R.,Wei,L.,Yang,Q.,&Zhu,Y. (2021). An oral SARS-CoV-2pro inhibitor clinical candidate for the treatment Of COVID-19.Science,eabl4784。

[0157] Marple VA,Roberts DL,Romay FJ,Miller NC,Truman KG,Van Oort M,Olsson B,Holroyd MJ,Mitchell JP,Hochrainer D.Next generation pharmaceutical impactor (a new im pactor for pharmaceutical inhaler testing).Part I:Design.J Aerosol Med.2003年秋季;16(3):283-99.doi:10.1089/089426803769017659.PMID:14572326。

[0158] Pruijssers AJ,George AS,**Schäfer** A,Leist SR,Gralinski LE,Dinnon KH 3rd,Yount BL,Agostini ML,Stevens LJ,Chappell JD,Lu X,Hughes TM,Gully K,Martinez DR, Brown AJ,Graham RL,Perry JK,Du Pont V,PittsJ,Ma B,Babusis D,Murakami E,Feng JY,Bilello JP,Porter DP,Cihlar T,Baric RS,Denison MR, Sheahan TP.Remdesivir Inhibits SARS-CoV-2in Human Lung Cells and Chimeric SARS-CoV Expressing the SARS-CoV-2RNA Polymerase in Mice.Cell Rep.2020年7月21日;32(3):107940.doi:10.1016/j.celrep.2020.107940.Epub 2020年7月7日.PMID:32668216;PMCID:PMC7340027。

[0159] Robinot R,Hubert M,Dias de Melo G,Lazarini F,Bruel T,Smith N,Levallois S,Larrous F,Fernandes J,Gellenoncourt S,Rigaud S,Gorgette O,Thouvenot C,Trébeau C,Mallet A,Duménil G,Gobaa S,Etournay R,Lledo PM,Lecuit M,Bourhy H,Duffy D,Michel V,Schwartz O,Chakrabarti LA.SARS-CoV-2infection damages airway motile cilia and impairs mucociliary clearance.bioRxiv 2020.10.06.328369;doi:<https://doi.org/10.1101/2020.10.06.328369>。

[0160] Senokuchi K,Nakai H,Nakayama Y,OdagakiY,SakakiK,Kato M,Maruyama T,MiyazakiT,Ito H,Kamiyasu K等人New orally active serine protease inhibitors.J Med Chem.1995年7月7日;38(14):2521-3.doi:10.1021/jm00014a003.PMID:7629790。

[0161] Shirvaliloo M.The blood-gas barrier in COVID-19:an overview of the effects Of SARS-CoV-2infection on the alveolar epithelial and endothelial cells of the lung.Tissue Barriers.2021年10月2日;9(4):1937013.doi:10.1080/21688370.2021.1937013.Epub 2021年7月7日.PMID:34232823.Unoh Y,Uehara S,Nakahara K,Nobori H,Yamatsu Y,Yamamoto S,Maruyama Y,Taoda Y,Kasamatsu K,Suto

T,Kouki K,Nakahashi A,Kawashima S,Sanaki T,Toba S,Uemura K,Mizutare T,Ando S,Sasaki M,Orba Y,Sawa H,Sato A,Sato T,Kato T,Tachibana Y.Discovery of S-217622,a Noncovalent Oral SARS-CoV-23CL Protease Inhibitor Clinical Candidate for Treating COVID-19.J Med Chem.2022年5月12日;65(9):6499-6512。

[0162] Xie L,Zhang Z,Wang Q,Chen Y,Lu D,Wu W.COVID-19and Diabetes:A Comprehensive Review of Angiotensin Converting Enzyme 2,Mutual Effects and Pharmacotherapy.Front Endocrinol(Lausanne).2021;12:772865.2021年11月19日出版 .doi:10.3389/fend.2021.772865.Zhao Y,Fang C,Zhang Q,Zhang R,Zhao X,Duan Y,Wang H,Zhu Y,Feng L,Zhao J,Shao M,Yang X,Zhang L,Peng C,Yang K,Ma D,Rao Z,Yang H.Crystal structure of SARS-CoV-2main protease in complex with protease inhibitor PF-07321332.Protein Cell.2021年10月22日:1—5.doi:10.1007/s13238-021-00883-2.印刷前的电子版.PMID:34687004;PMCID:PMC8533666。

[0163] 一般声明

[0164] 在整个说明书和随后的权利要求书中,除非上下文另有要求,否则词语“包括(comprise)”以及例如“包含(comprises)”和“含有(comprising)”的变化形式将被理解为暗示包括所述整数、步骤、整数组或步骤组,但不排除任何其他整数、步骤、整数组或步骤组。

[0165] 在本发明的整个说明书中提及的所有专利、专利申请和参考文献通过引用整体并入本文。

[0166] 本发明包括优选的和更优选的部分以及合适的和更合适的部分和上述部分的实施方案的所有组合。

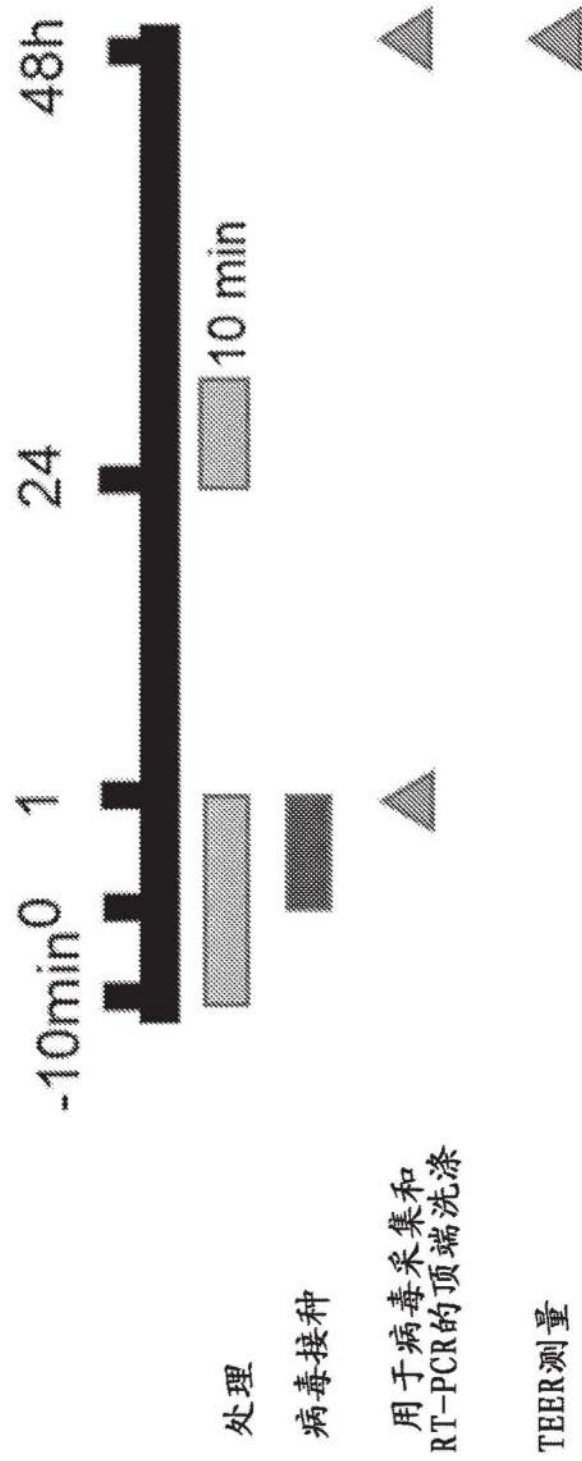


图1

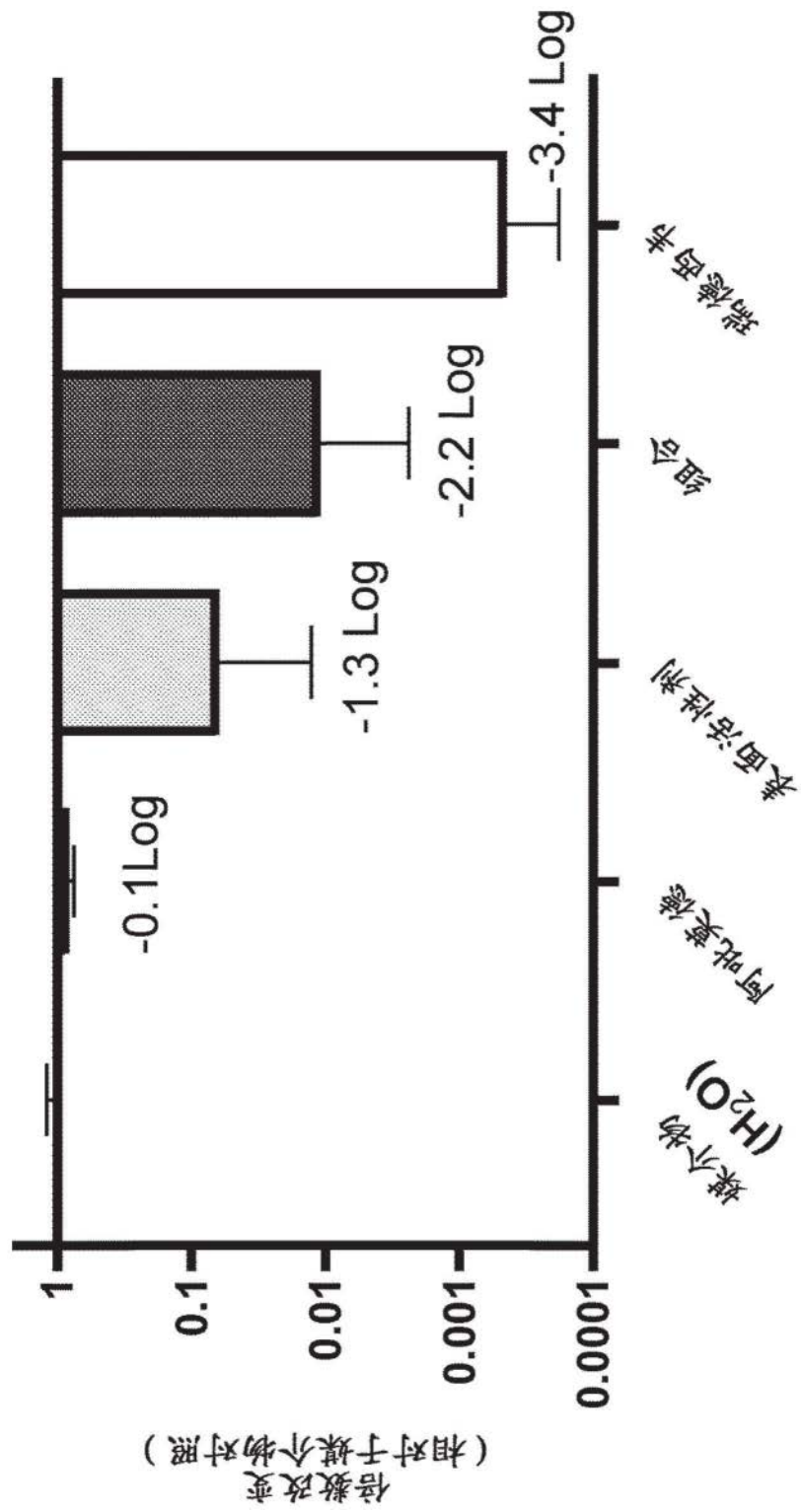


图2

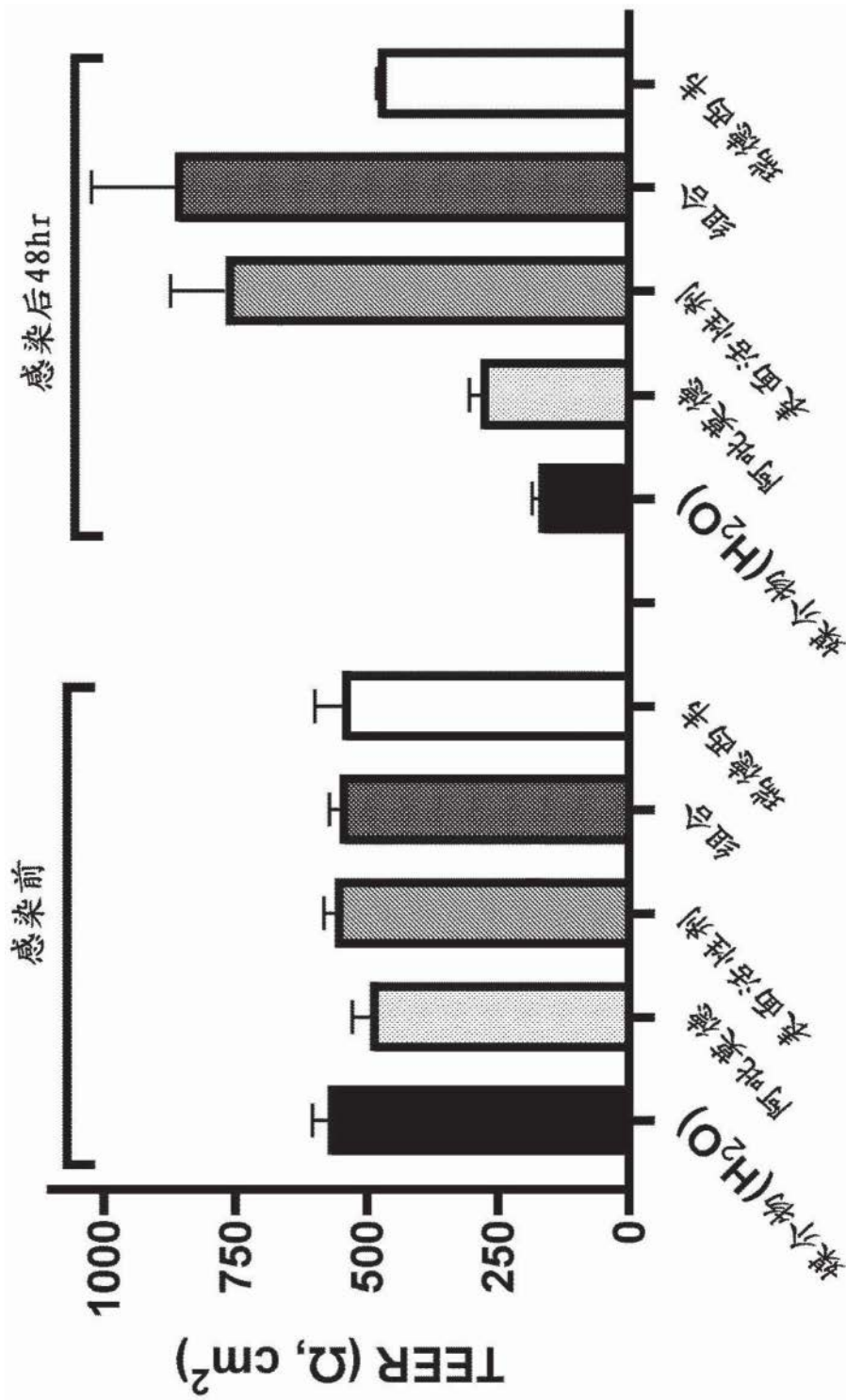


图3

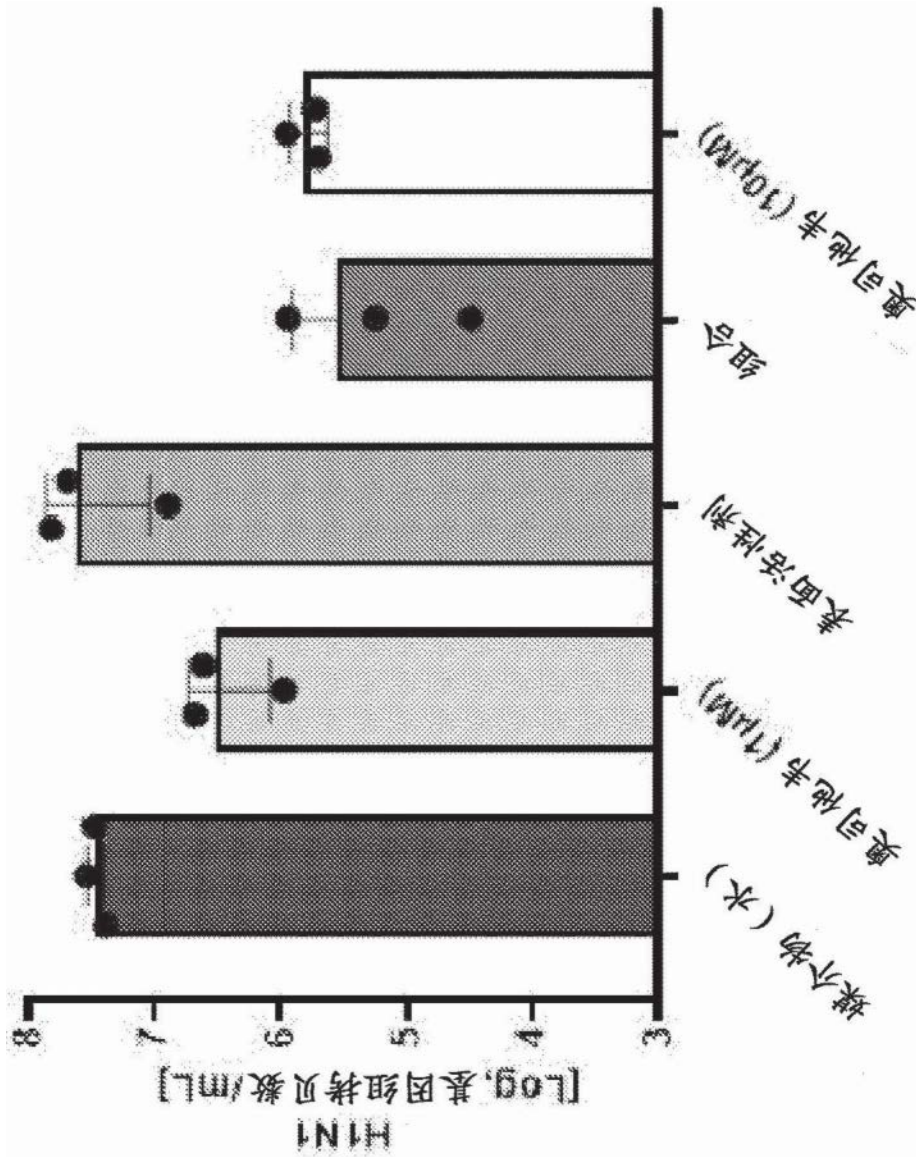


图4

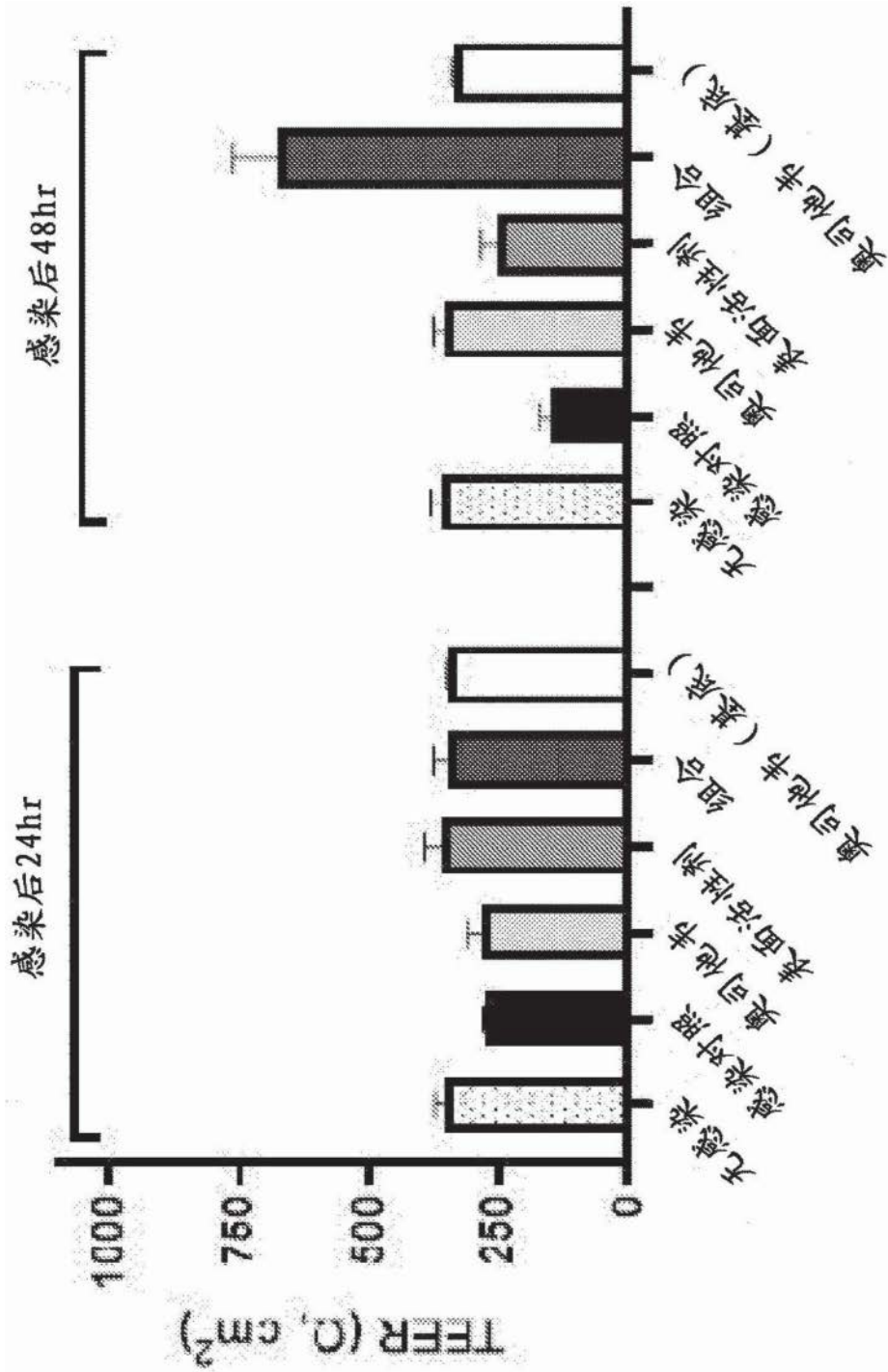


图5