

(19)



URZĄD
PATENTOWY
RZECZYPOSPOLITEJ
POLSKIEJ

(10) **PL 245100 B1**

(12)

Opis patentowy

(21) Numer zgłoszenia: **440293**

(22) Data zgłoszenia: **2022.02.02**

(43) Data publikacji o zgłoszeniu: **2022.07.25 BUP 30/2022**

(45) Data publikacji o udzieleniu patentu: **2024.05.13 WUP 20/2024**

(51) MKP:

A61K 31/341 (2006.01)

A61K 36/28 (2006.01)

A61P 31/14 (2006.01)

(73) Uprawniony z patentu:
**UNIwersytet Medyczny w Lublinie,
Lublin, PL**

(72) Twórca(-y) wynalazku:
**SYLWIA WNOROWSKA, Lublin, PL
MACIEJ STRZEMSKI, Lublin, PL
ARTUR WNOROWSKI, Lublin, PL
JACEK KURZEPA, Biskupie-Kolonia, PL
PAWEŁ KRAWCZYK, Lublin, PL
SŁAWOMIR DRESLER, Lublin, PL**

(74) Pełnomocnik:
rzecz. pat. Anna Bełz, Lublin, PL

(54) Tytuł:

Zastosowanie tlenku carlina do profilaktyki zakażeń wirusem SARS-CoV-2 oraz leczenia choroby COVID-19

PL 245100 B1

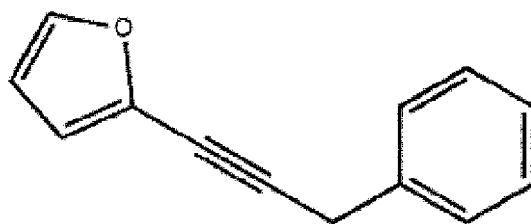
Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest zastosowanie tlenku carlina do profilaktyki zakażeń wirusem SARS-CoV-2 oraz leczenia choroby COVID-19.

W 2019 roku pojawiły się pierwsze przypadki zakażeń ludzi drugim wirusem ciężkiego ostrego zespołu oddechowego SARS-CoV-2 (ang. severe acute respiratory syndrome Coronavirus 2). 11 marca 2020 roku Światowa Organizacja Zdrowia z uwagi na znaczne rozprzestrzenianie się SARS-CoV-2 ogłosiła stan pandemii (WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 – 11 March 2020, www.who.int). Od tego czasu zakażenia te stały się przyczyną śmierci ponad 5 mln ludzi na świecie (Coronavirus COVID-19 Global Cases by Johns Hopkins CSSE). Leczenie COVID-19, czyli choroby wywołanej przez SARS-CoV-2 ogranicza się obecnie do postępowania objawowego i brak jest skutecznych leków które zwalczająby przyczynę choroby. Wyniki klinicznego stosowania remdesiwiru, chlorochiny i hydroksychlorochiny oraz środków immunosupresyjnych są bardzo niepewne (Nazir, S., i in. 2021. The Potentially Recommended Pharmacotherapy for COVID-19. *Altern Ther Health Med.* 27/ 24–28. PM ID 33373324.). Poszukiwanie nowych leków mogących skutecznie leczyć przyczynę COVID-19 jest więc jednym z głównych celów współczesnej nauki.

SARS-CoV-2 wnika do komórek gospodarza dzięki powinowactwu białka kolca S (ang. spike protein), które jest obecne na jego powierzchni, do ludzkiego białka receptorowego – konwertazy angiotensyny 2 (ACE2, ang. angiotensin-converting enzyme 2). Wiązanie się białka S z ACE2 jest więc kluczowe dla fuzji wirusa z boną komórkową gospodarza, wnikania wirusa do wnętrza komórek i późniejszej replikacji wirusa w komórkach gospodarza (Li, X., i in. 2020. Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *J. Pharm. Anal.* 10, 102–108. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2020.03.001>; Xu, X., i in. 2020. Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission. *Sci. China Life Sci.* 63, 457–460. <https://doi.org/10.1007/s11427-020-1637-5>). Poszukiwanie związków które mogą być inhibitorami wiązania białka S z ACE2 jest więc jedną z głównych dróg badań nad lekami ograniczającymi zakażenie SARS-CoV-2 oraz jego replikację i rozprzestrzenianie się w organizmie gospodarza.

Tlenek carlina (Rys. 1) jest naturalnym poliacetylenem występującym w korzeniach roślin kilku gatunków z rodzaju *Carlina* L. (dziewięciśl), m.in. w *C. acaulis* L. (dziewięciśl bezłodygowy) oraz w niektórych roślinach z rodzaju krokosz np. *Carthamus ceruleus* L. Jest to związek mogący być pozytywnie wykorzystany na skalę przemysłową *C. acaulis* (Strzemski, M., i in. 2021. Nitrogen fertilisation decreases the yield of bioactive compounds in *Carlina acaulis* L. grown in the field. *Ind. Crop. Prod.* 170, <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113698>), a także na drodze syntezy chemicznej.



Rys. 1. Struktura chemiczna tlenku carlina

Tlenek carlina wykazuje silne właściwości przeciwpasożytnicze i przeciwbakteryjne (Stojanović-Radić Z., i in., 2012. Commercial *Carlinae* radix herbal drug: botanical identity, chemical composition and antimicrobial properties. *Pharm. Biol.* 50, 933–940; Dorđević S., i in. 2007. Antimicrobial, anti-inflammatory, anti-ulcer and antioxidant activities of *Carlina acanthifolia* root essential oil. *J. Ethnopharmacol.* 109, 458–463; Wójciak-Kosior M., i in. 2020. Zastosowanie olejku eterycznego izolowanego z korzenia dziewięciślu bezłodygowego (*Carlina acaulis* L.) do zwalczania pasożytniczych nicieni. PL 235 095 B1), jednakże nie istnieją żadne dane świadczące o jego aktywności przeciwwirusowej.

Wynalazek rozwiązuje zagadnienie skutecznego zapobiegania wnikania wirusa SARS-CoV-2 do komórek organizmu ludzkiego poprzez stosowanie tlenku carlina.

Istotą wynalazku jest zastosowanie tlenku carlina – naturalnego poliacetyleny do profilaktyki zakażeń wirusem SARS CoV-2 oraz leczenia choroby COVID-19.

Tlenek carlina izolowany z korzeni roślin – gatunków z rodzaju *Carlina* L. (dziewięciśl), *Carthamus* (krokosz).

Tlenek carlina korzystnie izolowany z korzeni *C. acaulis* L. lub izolowany z korzeni *C. acanthifolia* L. (dziewięcisiu akantolistnego). Tlenek carlina korzystnie do zastosowania w postaci ekstraktu.

Tlenek carlina korzystnie uzyskiwany syntetycznie.

Tlenek carlina może być uzyskiwany w sposób naturalny z roślin. Korzenie roślin *Carlina* (mieszanka *C. acaulis* i *C. acanthifolia*), zbierane na Bałkanach, są dostępne w handlu. Wykazano również, że *C. acaulis* może być z powodzeniem uprawiany na skalę przemysłową w Polsce. Z jednego hektara uprawy można uzyskać ok. 10 kg tlenku carlina (Strzemski, M., i in. 2021. Nitrogen fertilisation decreases the yield of bioactive compounds in *Carlina acaulis* L. grown in the field. *Ind. Crop. Prod.* 170, <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.11.36981>).

Związek ten może być także uzyskiwany w sposób syntetyczny.

Zastosowanie naturalnego poliacytenu w postaci tlenku carlina umożliwi ograniczenie wnikania wirusa SARS-CoV-2 do komórek gospodarza organizmu a przez to do profilaktyki zakażeń wirusem i leczenia choroby COVID-19.

Wynalazek umożliwi zastosowanie tlenku carlina w leczeniu ludzi i zwierząt z zakażeń wywołanych wirusem SARS CoV-2.

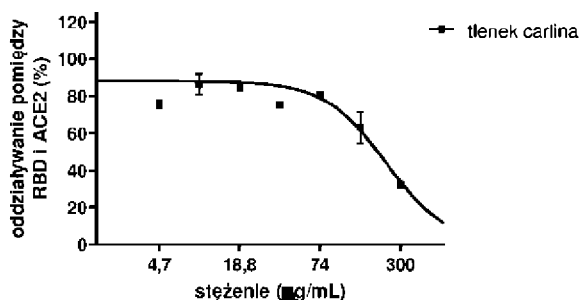
Tlenek carlina jako substancja aktywna może mieć zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym do wytwarzania preparatów farmaceutycznych i produktów leczniczych.

Tlenek carlina zawarty w materiale roślinnym może mieć zastosowanie jako dodatek suplementów diety stosowanych we wspomaganiu leczenia COVID.

Aktywność przeciwwirusowa tlenku carlina

W wyniku przeprowadzonych badań, nieoczekiwanie okazało się, że tlenek carlina uzyskany w procesie hydrodestylacji z korzeni *C. acaulis*, hamował wiązanie się domeny RBD (ang. receptor binding domain) obecnej w białku S wirusa SARS-CoV-2 z ludzkim ACE2. Badanie przeprowadzono za pomocą testu Lumit SARS-CoV 2 Spike RBD:hACE2 Immunoassay, w którym oddziaływanie pomiędzy RBD i ACE2 prowadzi do komplementacji fragmentów lucyferazy przyłączonych do białek RBD i ACE2 za pomocą przeciwciał. Komplementacja prowadzi do aktywacji lucyferazy, enzymu generującego luminescencję w sposób proporcjonalny do poziomu oddziaływania pomiędzy RBD i ACE2. Zaburzenie interakcji RBD i ACE2 zmniejsza strukturalną komplementację lucyferazy, co skutkuje mniejszym sygnałem luminescencyjnym. Tak więc mierzona wartość luminescencji lucyferazy jest miarą wiązania się RBD i ACE2, a spadek sygnału świetlnego w obecności badanej substancji oznacza zahamowanie oddziaływania BRD z ACE2.

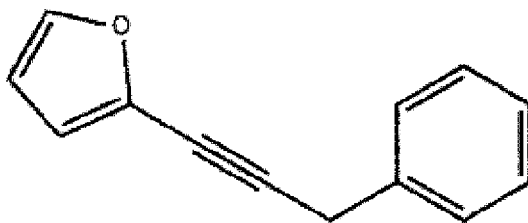
Tlenek carlina rozpuszczono w dimetylosulfotlenku i przygotowano gradient stężeń, tak by najwyższe stężenie w końcowej mieszaninie reakcyjnej było równe 300 µg/ml. W wyniku przeprowadzonych badań okazało się, że tlenek carlina zastosowany w stężeniu 150 µg/ml hamował wiązanie się RBD i ACE2 w 39%, a zastosowany w stężeniu 300 µg/ml w 67%. Wykazano również, że medialne stężenie hamujące (IC₅₀, ang. inhibitory concentration 50%) wynosiło 234,2 µg/ml. Uzyskane wyniki przedstawiono na Rys.2.



Rys. 2. Zależność oddziaływania tlenku carlina na powinowactwo RBD do ACE2.

Zastrzeżenia patentowe

1. Tlenek carlina przedstawiony poniższym wzorem do zastosowania w profilaktyce zakażeń wirusem SARS-CoV-2 oraz w leczeniu choroby COVID-19



Wzór 1

2. Tlenek carlina do zastosowania według zastrz. 1 izolowany z korzeni roślin – gatunków z rodzaju *Carlina* L. (dziewięciśi), *Carthamus* (krokosz).
3. Tlenek carlina do zastosowania według zastrz. 1 izolowany z korzeni *C. acaulis* L. lub izolowany z korzeni *C. acanthifolia* L. (dziewięciśiu akantolistnego).
4. Tlenek carlina do zastosowania według zastrz. 2–3 w postaci ekstraktu.
5. Tlenek carlina do zastosowania według zastrz. 1 uzyskiwany syntetycznie.