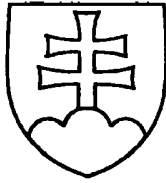


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

**ZVEREJNENÁ PRIHLÁŠKA
VYNÁLEZU**

(21) Číslo dokumentu:

999-94

(13) Druh dokumentu: A3

(51) Int. Cl.⁶:

**A 61 K 39/04
A 61 K 35/74**

(22) Dátum podania: 19.02.93
(31) Číslo prioritnej prihlášky: 9203814.0
(32) Dátum priority: 21.02.92
(33) Krajina priority: GB
(43) Dátum zverejnenia: 10.05.95
(86) Číslo PCT: PCT/GB93/00351, 19.02.93

(71) Prihlasovateľ: UNIVERSITY COLLEGE LONDON, London, GB;

(72) Pôvodca vynálezu: Stanford John Lawson, Marden, Kent., GB;
Rook Graham Arthur William, Haverhill, Suffolk, GB;

(54) Názov prihlášky vynálezu: **Farmaceutická látka na liečenie duševných chorôb spojených s autoimúnnou reakciou**

(57) Anotácia:
Antigénny a/alebo imunoregulačný materiál odvodený od Mycobacterium vaccae je podávaný pri liečení duševných chorôb, ktoré boli iniciované infekciou a na liečenie imunologicky sprostredkovaných následkov chronickej infekcie.

FARMACEUTICKÁ LÁTKA
NA LIEČENIE DUŠEVNÝCH CHORÔB SPOJENÝCH S AUTOIMÚNNOU REAKCIOU
A JEJ POUŽITIE

Oblasť techniky

Vynález sa týka spôsobu liečenia duševných chorôb spojených s autoimúnnou reakciou začatých infekciou a autoimunologicky sprostredkovaných následkov (iných ako uveitída) chronických infekcií.

Doterajší stav techniky

Britský patentový spis číslo 2156673 popisuje imunoterapeutické látky obsahujúce usmrtené bunky *Mycobacterium vaccae*. Tieto látky sú užitočné v imunoterapii mykobakteriálnych chorôb, hlavne tuberkulózy a lepry. Je zistené, že použitie týchto imunoterapeutických látok uľahčuje odstránenie pretrvávajúcich baktérií spôsobujúcich tuberkulózu alebo lepru, ktoré, ako je dobre známe, sa ťažko liečia len chemoterapiou. V zmiernenom patentovom spise je uvedené, že imunoterapeutická látka zrejme pôsobí výhodne prítomnosťou "ochranného" spoločného mykobakteriálneho antigénu, a tým, že obsahuje imunosupresorické determinanty, ktoré sú aktívne v regulácii nevýhodných imunitných mechanizmov. Následkom toho sú "pretrvávajúce" baktérie zistené imunitným systémom podľa obsahu spoločných mykobakteriálnych antigénov a účinné imunitné mechanizmy sú proti nim namierené za neprítomnosti formy imunity nekrotizujúcej tkanivo zvyčajne prítomnej pri mykobakteriálnej chorobe.

Medzinárodný patentový spis PCT/GB85/00183 popisuje zmesi na zmiernenie symptómov a na liečenie alebo diagnózu artritických chorôb obsahujúce ako aktívnu prísadu celý organizmus *Mycobacterium vaccae*. Je uvedené, že prípravky z *M. vaccae* sú užitočné na liečenie rôznych autoimúnných ochorení a hlavne artritických stavov zahrňujúcich reumatoidnú artritídu, ankylóznou spondylózu alebo Reiterov syndróm.

Medzinárodný patentový spis PCT/GB90/01318 uvádza, že zmesi, ktoré obsahujú *M. vaccae* ako aktívnu prísadu, sú užitočné pri liečení iných patologických stavov, v ktorých pacient ukazuje abnormálne vysoký podiel negalaktozylovaného IgG a tiež pri liečení chronických zápalových porúch spôsobených alebo sprevádzaných abnormálne vysokým uvoľňovaním interleukínu-6 makrofágmi a/alebo faktorom nekrózy nádoru. Zmiený spis obzvlášť pojednáva o liečení Crohnovej choroby, reaktívnej artritídy, primárnej biliárnej cirhózy, sarkoidózy, ulceróznej kolitídy, psoriázy, systémového erytematózneho lupusu (hlavne keď je sprevádzaný Sjogrenovým syndrómom), roztrúsenej sklerózy, Guillainovo - Berreovho syndrómu, primárneho diabetes mellitus a niektorých aspektov odhojenia štepu.

Medzinárodný patentový spis PCT/GB90/01169 popisuje antigénny a/alebo imunoregulačný materiál odvodený z *M. vaccae* na použitie pri oneskorení alebo prevencii prepuknutia AIDS.

Nezverejnený medzinárodný patentový spis PCT/GB91/01970 prihlasovateľa predloženej prihlášky vynálezu popisuje použitie *Mycobacterium vaccae* pri liečení uveitídy, imunologicky spôsobeného neskoršieho následku lepry, ktorý spôsobuje slepotu.

Predložený vynález je založený na prekvapujúcom pozorovaní, že *M. vaccae* je tiež účinné proti radu iných stavov, ktoré môžu privodiť infekciu ako bakteriálne a protozoálne infekcie a hlavne mikrobakteriálne infekcie.

Bolo usudzované, že duševné choroby ako schizofrénia a maniakálna depresia sú spojené s autoimúnnou reakciou vyplývajúcou z minulej alebo súčasnej kryptickej infekcie. Táto je evidovaná abnormálnou funkciou B a T lymfocytov, ako je zvýšený počet buniek B a znížený počet buniek T a zmenenej hladiny supresorických buniek, ktoré boli pozorované pri schizofrénii (viď napríklad P. Sirota, Israel J. Med. Sci., 1990, 26, str. 694 - 697; J. G. Knight, Meth and Find Exptl.

Clin., Pharmacol., 1984, 64, str. 395 - 403; H. H. Fudenberg a spol. Biomedicine and Pharmacotherapy, 1984, 38, str. 285 - 290; F. Villemain a spol., Annal. N. Y. Acad. Sci., 1987, 496, str. 669 - 675, a Ganguli a spol., Anal., N. Y. Acad. Sci., 1987, 496, str. 676 - 685). Zistenie tiež vyplýva z pozorovania, že schizofrénia a reumatoidná artritída sa takmer nikdy nevyskytujú u toho istého pacienta (T. D. Spector, J. Silman, Brit. J. Rheumatology, 1987, 26, str. 307 - 310). Usudzujeme, že schizofrénia a reumatoidná artritída môžu byť spôsobené geneticky determinovanými, navzájom vylúčenými reakciami na kryptickú infekciu a pravdepodobne na mykobakteriálnu infekciu. Pri obmedzených pokusoch sme zistili, že traja z troch pacientov trpiacich schizofrénomou javili podstatné zlepšenie, keď boli liečení M. vaccae. Usudzujeme teda, že M. vaccae môže byť užitočné pri liečení duševných chorôb spojených s autoimúnnou reakciou.

Tiež bolo zistené, že M. vaccae je účinné pri liečení imunologicky sprostredkovaných následkov chronických infekcií.

Chagaova choroba (juhoamerická trypanozomiáza) je príkladom chorôb spojených s protozoálnou infekciou, ktorej neskorším následkom je myokarditída, ktorá normálne vedie k smrti pacienta. Liečenie s použitím M. vaccae môže obmedziť vznik myokarditídy.

Iný príklad takejto choroby je Takayasuova artritída, ktorá je združená s tuberkulózou, ktorá je spôsobená mykobakteriálnou infekciou. Uvažuje sa, že táto a iné vaskulárne choroby, ktoré môžu byť sprostredkované imunologicky, môžu byť vopred zamedzené a liečené M. vaccae.

Tiež sa usudzuje, že M. vaccae môže byť účinné pri prevencii a liečení vaskulárnych komplikácií spojených s cukrovkou, ktoré môžu byť sprostredkované imunologicky.

Podstata vynálezu

Vynález vytvára spôsob liečenia duševnej choroby spojenej s autoimúnnou reakciou, ktorá mohla byť začatá infekciou, na liečenie imunologicky sprostredkovaných následkov Chagaovej choroby alebo na prevenciu alebo liečenie vaskulárnych chorôb alebo komplikácií, ktoré môžu byť sprostredkované imunologicky ako tie, ktoré sú združené s tuberkulózou alebo cukrovkou, ktorého podstata spočíva v tom, že sa pacientovi trpiacemu takýmto stavom podáva účinné množstvo terapeutickkej zmesi obsahujúce antigénny a imunoregulačný materiál odvodený z *Mycobacterium vaccae*.

Vynález ďalej vytvára antigénny a imunoregulačný materiál odvodený z *M. vaccae* na použitie vo výrobe terapeutickkej látky na liečenie duševnej choroby spojenej s autoimúnnou reakciou, ktorá mohla byť začatá infekciou, na liečenie imunologicky sprostredkovaných následkov Chagaovej choroby, alebo na prevenciu alebo liečenie vaskulárnych chorôb alebo komplikácií, ktoré môžu byť sprostredkované imunologicky ako choroby spojené s tuberkulózou alebo cukrovkou.

Vynález je najmä zameraný na liečenie bakteriálnych alebo protozoálnych infekcií, napríklad mikrobakteriálnych infekcií.

Prednostne je antigénny alebo imunoregulačný materiál určený na použitie pri liečení duševnej choroby spojenej s autoimúnnou reakciou iniciovanou infekciou, napríklad mykobakteriálnou infekciou. Takáto infekcia môže byť minulé infekcia, ktorá vyvolá autoimúnnu odozvu. Alternatívne môže byť autoimúnná odozva iniciovaná prítomnou infekciou, ako je mikrobakteriálna infekcia, ktorá je skrytá, to znamená, že nie je priamo zistiteľná.

Terapeutická látka podľa vynálezu obsahuje zvyčajne, a teda prednostne, usmrtené bunky *M. vaccae*, najlepšie bunky, ktoré boli usmrtené v autokláve alebo ožiarením. Terapeutická látka normálne

obsahuje viac ako 10^8 mikroorganizmov v 1 ml riedidla, prednostne od 10^8 do 10^{11} usmrtených mikroorganizmov *M. vaccae* v 1 ml riedidla.

Riedidlo môže byť apyrogénny fyziologický roztok pre vstrek alebo tiež boritanový pufor majúci pH = 8,0. Riedidlo má byť sterilné. Vhodný boritanový pufor má toto zloženie:

$\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$	3,63 g
H_3BO_3	5,25 g
NaCl	6,19 g
Tween 80	0,0005 %
destilovaná voda	do 1 litra

Uprednostňovaný kmeň *M. vaccae* je kmeň označený R877R izolovaný zo vzoriek bahna z oblasti Lango strednej Ugandy (J. L. Stanford a R. C. Paul, Ann. Soc. Belge Med., Trop. 1973, 53, str. 141 - 389). Kmeň je stabilný surový variant a patrí k poddruhom *aurum*. Môže byť identifikovaný ako patriaci k *M. vaccae* biochemickými a antigénnymi kritériami (R. Bonicke, S. E. Juhasz, Zentr. abtl. Bakterio, Parasitenkd. Infection skr. Hyg. Abt. 1, Orig., 1964, 192, str. 133). Kmeň označený R877R bol uložený pod budapeštianskou konvenciou v zbierke National Collection of Type Cultures (NCTC) Central Public Health Laboratory, Colindale Avenue, Londýn NW9 5HT, Spojené kráľovstvo, 13. februára 1984 pod číslom NCTC 11659).

Na prípravu terapeutickkej látky môže byť mikroorganizmus *M. vaccae* kultivovaný na vhodnom pevnom prostredí. Prednostne sa použije modifikované Sautonovo kvapalné prostredie spevnené agarom (S. V. Boyden a E. Sorkin, J. Immuno, 1955, 75, str. 15). Pevné prostredie obsahuje prednostne 1,3 % agaru. Prostredie naočkované mikroorganizmami sa inkubuje aeróbne na umožnenie rastu mikroorganizmov všeobecne pri 32 °C počas 28 dní. Organizmy sa zozbierajú, potom sa odvážia a suspendujú v riedidle. Riedidlo môže byť nepufrovaný fyziologický roztok, prednostne je pufrovaný boritanom a obsahuje povrchovo aktívne činidlo ako Tween 80, ako

je uvedené vyššie. Suspenzia sa zriedi, aby obsahovala 100 mg mikroorganizmov v 1 ml. Na ďalšie zriedenie sa prednostne použije fyziologický roztok pufrovaný boritanom, takže suspenzia obsahuje 10 mg mokrých mikroorganizmov v 1 ml vo viac dávkových fiolách. Hoci mikroorganizmy vo fiolách môžu byť usmrtené použitím žiarenia, napríklad kobaltu⁶⁰ v dávke 2,5 megarad, alebo iného prostriedku, napríklad chemického, prednostne sa usmrtenie mikroorganizmov vykoná v autokláve, napríklad pri tlaku 103,5 kPa po dobu 15 minút pri 115 - 125 °C. Bolo zistené, že spracovanie v autokláve dáva oveľa účinnejší prípravok ako ožiarenie.

Terapeutická látka sa všeobecne podáva injekciou v objeme 0,1 až 0,2 ml, prednostne 0,1 ml podanej intradermálne. Jedna dávka bude všeobecne obsahovať od 10^7 do 10^{10} usmrtených mikroorganizmov *Mycobacterium vaccae*. Prednostne sa pacientom podáva jediná dávka obsahujúca od 10^8 do 10^9 usmrtených *M. vaccae*. Môže byť podaná jediná dávka alebo môže byť dávka opakovaná podľa stavu pacienta.

Hoci sa terapeutická látka bude všeobecne podávať intradermálnou injekciou, môžu byť použité i iné cesty, napríklad môže byť použité perorálne podávanie.

Môže byť výhodné, a je to v rámci vynálezu, použiť viac ako jeden kmeň *M. vaccae* a/alebo zaviesť do antigénneho alebo imunoregulačného materiálu iné veľmi príbuzné mykobakteriálne druhy, napríklad *M. nonchromogenicum* alebo *M. chitae*. Tiež môže byť pridaný tuberkulín.

Terapeutická látka môže obsahovať ďalšie prísady, ochranné látky, stabilizátory atď. Môže byť dodávaná vo forme sterilnej vstrekovateľnej kvapaliny alebo v sterilnej lyofilizovanej forme, ktorá sa pred použitím rozpustí.

M. vaccae môže byť použité ako také alebo ako extrakt alebo frakcionovaná časť organizmu na výrobu terapeutických látok podľa vynálezu.

Vynález je vysvetlený na nasledujúcom príklade.

Príklad uskutočnenia vynálezu

M. vacca NCTC 11659 je kultivovaný na pevnom prostredí obsahujúcom modifikované Sautonové prostredie spevnené 1,3 % agaru. Prostredie je naočkované mikroorganizmom a inkubované po 28 dní pri 32 °C kvôli umožneniu rastu a dozrenia mikroorganizmu. Potom sa mikroorganizmy zozbierajú jemným zoškrabaním povrchu agaru a odvážia sa (bez sušenia) a suspendujú vo fyziologickom roztoku pufrovanom M/15 boritanom pri pH = 8, aby sa získalo 10 mg mikroorganizmov v 1 ml fyziologického roztoku. Suspenzia sa rozdelí do fiol s objemom 5 ml a potom sa spracuje v autokláve po dobu 15 minút pri tlaku 103,5 kPa kvôli usmrteniu mikroorganizmov. Po ochladení sa takto získaná terapeutická látka pred použitím skladuje pri 4 °C. Jedna dávka obsahuje 0,1 ml suspenzie, ktorá má byť bezprostredne pred použitím živo miešaná a ktorá obsahuje 1 mg mokrého M. vaccae. Dávka sa podáva intradermálnou injekciou normálne nad ľavým deltoidným svalom.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Použitie antigénneho a/alebo imunoregulačného materiálu odvodeného z *Mycobacterium vaccae* pri príprave terapeutickkej látky na liečenie duševnej choroby spojenej s autoimúnnou reakciou, ktorá mohla začať infekciou, na liečenie imunologicky sprostredkovaných následkov Chagaovej choroby alebo na profylaxiu alebo liečenie vaskulárnej choroby alebo komplikácií, ktoré môžu byť imunologicky sprostredkované ako tie, ktoré sú združené s tuberkulózou alebo cukrovkou.

2. Použitie podľa nároku 1 antigénneho a/alebo imunoregulačného materiálu pri príprave terapeutickkej látky na liečenie duševnej choroby spojenej s autoimúnnou reakciou iniciovanej infekciou.

3. Použitie podľa nároku 1 alebo 2, vyznačujúce sa tým, že antigénny a/alebo imunoregulačný materiál odvodený od *Mycobacterium vaccae* obsahuje usmrtené bunky *M. vaccae*.

4. Použitie podľa nároku 3, vyznačujúce sa tým, že bunky *Mycobacterium vaccae* boli usmrtené spracovaním v autokláve.

5. Použitie podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 4, vyznačujúce sa tým, že materiál odvodený z *M. vaccae* je odvodený z kmeňa uloženého v zbierke National Collection of Type Cultures (NCTC) Central Public Health Laboratory, Colindale Avenue, Londýn NW9 5HT, Spojené kráľovstvo, 13. februára 1984 pod číslom NCTC 11659.

6. Použitie podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 5, vyznačujúce sa tým, že terapeutická látka obsahuje v jednej dávke antigénneho a/alebo imunoregulačného materiálu od 10^7 do 10^{10} mikroorganizmov *M. vaccae*.

7. Spôsob liečenia duševnej choroby spojenej s autoimúnnou reakciou, ktorá mohla byť iniciovaná infekciou, na liečenie imunologicky sprostredkovaných následkov Chagaovej choroby alebo na profylaxiu alebo liečenie vaskulárnych chorôb (iných ako uveitída) alebo chronickej infekcie, vyznačujúci sa tým, že sa pacientovi trpiacemu takýmto stavom podáva účinné množstvo antigénneho a/alebo imunoregulačného materiálu odvodeného od *M. vaccae*.

8. Spôsob podľa nároku 7, vyznačujúci sa tým, že materiál odvodený od *M. vaccae* je materiál definovaný v nárokoch 2 až 6.

9. Výrobky obsahujúce antigénny a/alebo imunoregulačný materiál odvodený od *M. vaccae* na použitie pri liečení duševnej choroby spojenej s autoimúnnou reakciou iniciovanej infekciou, alebo autoimunologicky sprostredkovaných následkov (iných ako uveitída) chronickej infekcie.

10. Výrobky podľa nároku 9, vyznačujúce sa tým, že materiál odvodený od *M. vaccae* je materiál definovaný v nárokoch 2 až 6.

11. Farmaceutická látka na použitie pri liečení duševných chorôb spojených s autoimúnnou reakciou začatou infekciou alebo autoimunologicky sprostredkovaných následkov (iných ako uveitída) chronickej infekcie, vyznačujúca sa tým, že obsahuje antigénny a/alebo imunoregulačný materiál odvodený od *M. vaccae*.

12. Farmaceutická látka podľa nároku 11, vyznačujúca sa tým, že materiál odvodený od *M. vaccae* je materiál definovaný v nárokoch 2 až 6.