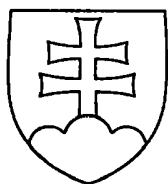


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

ZVEREJNENÁ PRIHLÁŠKA VYNÁLEZU

(21) Číslo dokumentu:

1491-99

(13) Druh dokumentu: A3

(51) Int. Cl.⁷:

A 61K 47/48

- (22) Dátum podania: 28.04.1998
(31) Číslo prioritnej prihlášky: 08/839 101
(32) Dátum priority: 29.04.1997
(33) Krajina priority: US
(40) Dátum zverejnenia: 07.11.2000
(86) Číslo PCT: PCT/US98/07634, 28 04 1998

(71) Prihlasovateľ: SCHERING CORPORATION, Kenilworth, NJ, US;

(72) Pôvodca vynálezu: Glue Paul, Flemington, NJ, US;
Cutler David L, Morristown, NJ, US;
Affrime Melton B., Flemington, NJ, US,

(74) Zástupca: Patentservis Bratislava, a. s., Bratislava, SK;

(54) Názov prihlášky vynálezu: Konjugáty polyetylén glykol-interferón alfa na liečbu infekcie

(57) Anotácia:
Farmaceutický prostriedok na liečenie vírusovej infekcie citlivej na liečbu interferónom alfa obsahuje PEG_{12 000} - IFN alfa a farmaceuticky prijateľný nosič.

Konjugáty polyetylénglykol - interferón alfa určené na liečbu infekcie

Oblasť techniky:

Predložený vynález sa týka spôsobu liečenia vírusových infekcií, zvlášť vírusových infekcií, ktoré sú citlivé na liečbu interferómom alfa, a tento spôsob zahrňuje podávanie určitého množstva konjugátu polyetylénglykol-interferón alfa, pričom toto množstvo je účinné pri liečbe vírusovej infekcie za zníženia alebo odstránenia nepriaznivých vedľajších účinkov, ktoré sú normálne spojené s podávaním interferónu alfa. Vo výhodnom vykonaní tohoto vynálezu sa pri liečbe chronickej hepatitídy C používa podávanie polyetylénglykolu s priemernou relatívnou molekulovou hmotnosťou 12 000 konjugovaného s interferómom alfa.

Doterajší stav techniky

Interferóny sú skupinou v prírode sa vyskytujúcich malých proteínov a glykoproteínov, ktoré sú produkované a vylučované množstvom buniek ako odozva na vírusovú infekciu rovnako ako odozva na ďalšie antigénne podnety. Interferóny poskytujú bunky rezistentné voči vírusovej infekcii a vykazujú veľkú pestrosť pôsobenia na bunky. Používajú tieto bunkové činnosti pri viazaní špecifických membránových receptorov na povrch bunky. Akonáhle sa priviažu na bunkovú membránu, tak interferóny spustia zložitý sled vnútrobunkových javov. *In vitro* štúdie ukázali, že tieto javy zahrňujú indukciu určitých enzýmov, potlačenie množenia buniek, imunomodulačnej činnosti, ako napr. zvýšenie fagocytickej činnosti makrofágov a zvýšenie špecifickej cytotoxicity lymfocytov pre cieľové bunky, a inhibíciu vírusovej replikácie v bunkách infikovaných vírusmi.

Je známe, že neimunitné interferóny, ktoré zahrňujú alfa i beta interferóny, potlačujú vírus ľudskej imunodeficiencie (HIV) ako v bunkách infikovaných akútne, tak v bunkách infikovaných chronicky. Vid' Poli a Fauci: *AIDS Research and Human Retroviruses* 1992, 8(2), 191-197. Interferónmi, zvlášť alfa interferónom, sa dostáva kvôli ich antivírusovému pôsobeniu značná pozornosť ako činidlám v liečbe chorôb majúcich vzťah k vírusu hepatitídy C (HCV-chorôb). Vid' Hoofnagle a kolektív: *Viral Hepatitis 1981 International Symposium* 1982, Philadelphia, Franklin Institute Press, Hoofnagle a kolektív: *New Eng. J. Med.* 1986, 315, 1575-1578, Thomson: *Lancet* 1987, 1, 539-541, Kiyosawa a kolektív v: Zuckerman (editor): *Viral Hepatitis and Liver Disease*, Allen K. Liss, New York, str. 895-897, Hoofnagle a kolektív: *Sem.Liv.Dis.* 1985, 9, 259-263.

Chronická hepatitída C je zákerná a pomaly postupujúca choroba majúca závažný vplyv na kvalitu života. Napriek zlepšenia v kvalite združení darcov krvi a súčasného uskutočnenia testovania darovanej krvi na HCV je odhadovaný výskyt akútnej infekcie medzi osobami prijímajúcimi transfúziu 5 až 10 %. Vid' Alter a kolektív v: Zuckerman (editor): *Viral Hepatitis and Liver Disease*, Allen K.Liss, New York, 1988, str. 537-542. Približne sa teda u 150 000 z 3 miliónov osôb, ktoré prijímú každoročne transfúziu v Spojených štátoch Amerických, objaví akútna hepatitída C. Zatiaľ čo množstvo pacientov, ktorí dostali hepatitídu C, bude mať subklinickú alebo ľahkú chorobu, tak približne u 50 % sa bude vyvíjať do štádia chronickej choroby charakteristickej neustálymi sérum transaminázovými anomáliami a zápalovými zraneniami na pečňových biopsiách. Odhaduje sa, že cirhóza sa bude vyvíjať v maximálne 20 % týchto prípadoch. Vid' Koretz a kolektív: *Gastroenterology* 1985, 88, 1251-1254.

Je známe, že interferóny ovplyvňujú rôzne funkcie ako v normálnych, tak v abnormálnych bunkách, vrátane DNA

replikácie a syntézy RNA a proteínov. Cytotoxický účinok interferónu teda nie je obmedzený na rakovinové bunky alebo bunky infikované vírusom, ale prejavuje sa tiež v normálnych, zdravých bunkách. Následkom toho vznikajú pri terapii interferónom nežiadúce vedľajšie účinky, obzvlášť keď sú potrebné vysoké dávky. Podávanie interferónu môže viesť k potlačeniu vzniku kostnej drene, čo má za následok zníženie počtu červených krviniek, bielych krviniek a celkového počtu krvných doštičiek. Vysoké dávky interferónu obyčajne spôsobujú symptómy podobné chrípke (napr. horúčka, únava, bolesti hlavy a zimnica), zažívacie poruchy (napr. anorexia, nevoľnosť a hnačka), závrate a kašeľ.

Ukázalo sa, že interferón alfa-2b je bezpečný a účinný pri liečbe chronickej hepatitídy C, ak sa podáva podkožne v dávkovaní $3 \cdot 10^6$ medzinárodných jednotiek (IU) trikrát týždenne počas 24 týždňov. Vid' Causse a kolektív: *Gastroenterology* 1991, 497-502, Davis a kolektív: *New Eng. J. Med.* 1989, 321, 1501-1506, Marcellin a kolektív: *Hepatology* 1991, 13(3), 393-393. Toto množstvo a čas zmierňuje symptómy hepatitídy C a biochemický alebo histologický dôkaz zápalu pečene u niektorých pacientov, ale tiež zapríčiňuje nežiadúce vedľajšie účinky, napr. symptómy podobné chrípke. Injekcie aplikované trikrát za týždeň teda pacienta zaťažia a majú veľký vplyv na kvalitu života pacienta.

Nieforth a kolektív (*Clin. Pharmacol. Ther.* 1996, 59, 636-646) popísal porovnanie *in vivo* účinku Roferonu®A a Roferonu®A modifikovaného polyetylén glykolom na zdravých dobrovoľníkoch. Avšak výsledky nasvedčujú tomu, že konjugáty by nemohli byť podávané menej ako dvakrát týždenne, a preto poskytli malú terapeutickú výhodu oproti nemodifikovaným analógom.

U.S. patentová prihláška č. 08/742,305 zverejňuje spôsoby podávania konjugátov polymér-cytokín jedincom citlivým na liečbu cytokínom, ale nezverejňuje spôsob tohoto vynálezu.

Modifikácia iných proteínov polyetylénglykolom bola tiež popísaná. Vid' Fuertges a kolektív: Journal of Controlled Release 1990, 11, 139-48, ktorý popisuje PEG-modifikavnú asparginázu na liečbu akútnej lymfoblastickej leukémie, PEG-adenozindiaminázu (PEG-ADA) na použitie v ADA-postrádajúcom syndróme kritického kombinovaného zlyhania imunity, PEG-hyperoxiddismutázu na reperfúzne poranenie a PEG-urikázu na liečbu hyperurikémie.

Nežiadúce vedľajšie účinky, ktoré sprevádzajú terapiu pomocou interferónu alfa a zaťaženia tromi injekciami za týždeň často obmedzujú terapeutickú užitočnosť režimov liečby pomocou interferónu alfa. Existuje teda potreba podporovať alebo zlepšovať terapeutické výhody takej terapie za zníženia alebo odstránenia týchto nežiadúcich vedľajších účinkov.

Podstata vynálezu

Predložený vynález napĺňa potrebu poskytnutím spôsobu podmienok liečby, ktoré sú citlivé na liečbu interferónom alfa, ktorého účinnosť je zlepšená a nežiadúce vedľajšie účinky normálne spojené s takou liečbou sú významne znížené alebo úplne odstránené.

Predložený vynález poskytuje spôsob liečby cicavcov postihnutých vírusovou infekciou, ktorá je citlivá na liečbu interferónom alfa, zahrňujúca podávanie určitého množstva polyetylénglykolu s relatívnou molekulovou hmotnosťou 12 000 konjugovaného s interferónom alfa (PEG₁₂₀₀₀-interferónu alfa), ktoré je schopné liečiť vírusovú infekciu za značného zníženia alebo odstránenia nežiadúcich vedľajších účinkov spojených s podávaním interferónu alfa.

Predložený vynález tiež poskytuje spôsob liečby chronickej infekcie vírusom hepatitídy C zahrňujúci podávanie určitého množstva PEG₁₂₀₀₀-interferónu alfa cicavčiemu hostiteľovi s vírusom hepatitídy C, ktoré je schopné liečiť uvedenú

vírusovú infekciu za značného zníženia alebo odstránenia nežiadúcich vedľajších účinkov spojených s podávaním interferónu alfa.

Vynález je smerovaný na spôsob podmienok liečby, ktoré sú citlivé na liečbu interferónom alfa. Nečakane bolo objavené, že podávanie polyetylén glykolu s relatívnou molekulovou hmotnosťou 12000 konjugovaného s interferónom alfa (ďalej „PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa“) poskytuje zlepšené terapeutické výhody za značného zníženia (alebo úplného odstránenia) nežiadúcich vedľajších účinkov normálne spojených s obvyčajne praktikovanými režimami liečby interferónom alfa. Predovšetkým bolo prekvapivo zistené, že podávanie PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa-2b konjugátu jedenkrát týždenne pacientom s chronickou hepatitídou C má za následok rovnakú alebo zvýšenú účinnosť za značného zníženia alebo odstránenia nežiadúcich vedľajších účinkov normálne spojených s obvyčajne praktikovanými režimami interferónom alfa.

Bežná terapia interferónom alfa používaná pri liečbe HCV u ľudí je 3 milióny medzinárodných jednotiek trikrát týždenne („3 MIU TIW“). Táto terapia normálne vedie k myelosupresii (zníženia bielych krviniek a celkového počtu neutrofilov). Takéto alebo vyššie dávky interferónu alfa obvyčajne spôsobujú mierne až ťažké symptómy podobné chrípke, zažívacie problémy, závraty a kašeľ, každý z týchto symptómov môže vyžadovať liečbu iných terapií alebo núti pacienta prerušiť alebo obmedziť terapiu interferónom alfa.

Prekvapivo bolo zistené, že použitie výhodných PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa-2b konjugátov podľa predloženého vynálezu dovoľuje vyššie a menej časté dávky za súčasného a prekvapivo značného zníženia alebo dokonca odstránenia nežiadúcich účinkov a symptómov spojených s bežnou terapiou interferónom alfa.

Výrazy „polyetylén glykol s relatívnou molekulovou hmotnosťou 12000 konjugovaný s interferónom alfa“ a „PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa“, ako sú tu použité, označujú konjugáty, akými sú

tieto pripravené podľa spôsobu medzinárodnej prihlášky č. WO 95/13090 a tie obsahujúce uretánové spojenia medzi aminoskupinami interferónu alfa 2a alebo 2b a polyetylénglykolom majúcim priemernú relatívnu molekulovú hmotnosť 12000. Výhodným konjugátom polyetylénglykol-interferónu alfa je PEG₁₂₀₀₀-interferón alfa-2b.

Výhodný PEG₁₂₀₀₀-interferón alfa-2b sa pripravuje pripojením PEG polyméru k epsilon aminoskupine lyzínového zvyšku v molekule IFN alfa-2b. Jediná molekula PEG₁₂₀₀₀ je konjugovaná k trom aminoskupinám v molekule IFN alfa-2b via uretánové spojenie. Konjugát je charakterizovaný molekulovou hmotnosťou pripojeného PEG₁₂₀₀₀. Konjugát PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa je formulovaný ako lyofilizovaný prášok určený na injekcie. Účelom konjugácie IFN alfa s PEG je zlepšiť dodávanie proteínu pomocou významného predĺženia jeho plazmového polčasu života a tým zaistiť predĺženú aktivitu IFN alfa.

Termín „interferón“ alebo „IFN“, ako je tu použitý, označuje skupinu vysoko homologických druhovo špecifických proteínov, ktoré inhibujú vírusovú replikáciu a množenie buniek a regulujú imunitnú odozvu. Ľudské interferóny sú zoskupené do troch tried na základe ich bunkového pôvodu a antigenicity: α -interferón (leukocyty), β -interferón (fibroblasty) a γ -interferón (B bunky). Boli vyvinuté a sú komerčne dostupné rekombinačné formy každej skupiny. Podtypy každej skupiny sú založené na antigénnych/štruktúrnych charakteristikách. Aspoň 24 interferónov alfa (zoskupených do podtypov A až H) majúcich rozdielne sekvencie aminokyselín bolo identifikovaných izoláciou a sekvenčným DNA kódovaním týchto peptidov. Termíny „ α -interferón“, „alfa interferón“, „interferón alfa“ a „ľudský leukocytový interferón“ sú v tejto prihláške použité striedavo na popis interferónov tejto skupiny. Na uskutočnenie tohoto vynálezu môžu byť použité ako v prírode sa vyskytujúce, tak rekombinantné α -interferóny, ktoré zahrňujú zhodné interferóny.

Čistenie interferónu alfa z ľudských leukocytov izolovaných z blán vytvorených zo zrazených leukocytov z frakcií neporušenej krvi je popísané v US patente č. 4,503,035. Ľudský leukocytový interferón pripravený týmto spôsobom obsahuje zmes ľudských leukocytových interferónov majúcich rôzne sekvencie aminokyselín. Čistené prírodné ľudské α -interferóny a ich zmesi, ktoré môžu byť použité v príkladoch tohoto vynálezu bez obmedzenia zahrňujú Sumiferón® interferón alfa-n1 dostupný od firmy Sumitomo, Japonsko, Wellferon® interferón alfa-n1 (Ins) dostupný od firmy Glaxo-Wellcome Ltd., Londýn, Veľká Británia a Alferon® interferón alfa-n3 dostupný od firmy Purdue Frederick Co., Norwalk, CT.

Nástup rekombinačnej DNA technológie aplikovanej na výrobu interferónov umožnil úspešne syntetizovať rôzne ľudské interferóny, čím sa umožnila fermentácia vo veľkom meradle, výroba, izolácia a čistenie rôznych interferónov až do homogénnosti. Rekombinačne vyrobený interferón si udržal svoje *in vitro* a *in vivo* antivírusové a imunomodulačné účinky. Rozumie sa tiež, že rekombinačné techniky by mohli tiež zahrňovať glykozylačné miesto na adíciu glykozidickej skupiny na rekombinačne odvodený polypeptid.

Konštrukcia rekombinačných DNA plazmidov obsahujúcich sekvencie kódujúce aspoň časť ľudského leukocytového interferónu a expresie polypeptidu majúceho imunologický alebo biologický účinok ako ľudský leukocytový interferón v *E. coli* je popísaná v US patente č. 4,530,901 a európskom patente č. EP 0 032 134. Konštrukcia hybridných génov α -interferónu obsahujúcich kombinácie rôznych podtypov sekvencií (napr. A a D, A a B, A a F) je popísaná v US patentoch č. 4,414,150, 4,456,748 a 4,678,751. Typické vhodné rekombinačné α -interferóny, ktoré môžu byť použité v príkladoch tohoto vynálezu zahrňujú interferón alfa-2b, ako napr. Intron® A dostupný od firmy Schering Corporation, Kenilworth, N.J.,

interferón alfa-2a, ako napr. Roferon® A dostupný od firmy Hoffmann-La Roche, Nutley, N.J.

US patenty č. 4,695,623 a 4,897,471 zverejňujú ľudské leukocytové interferónové polypeptidy týkajúce sa konvenčného interferónu, ktoré majú sekvencie aminokyselín, aké obsahujú bežné alebo dominantné aminokyseliny nájdené v každej pozícii medzi prirodzene sa vyskytujúcimi polypeptidmi podtypu interferónu alfa.

Stavy, ktoré môžu byť liečené podľa predloženého vynálezu, sú také, ktoré sú vhodné na liečbu interferónom alfa. Vhodné stavy napríklad zahrňujú také stavy, ktoré by presne alebo uspokojivo zodpovedali tým stavom známym v medicínskej technike, ako terapie interferónom alfa. Na ciele tohoto vynálezu zahrňujú stavy, ktoré môžu byť liečené terapiou interferónom alfa, tie, v ktorých vykazuje liečba interferónom alfa určitú účinnosť, ale nemôžu byť liečené interferónom alfa, pretože nad výhodami liečby prevažujú negatívne vedľajšie účinky. Vedľajšie účinky doprevádzajúce alfa terapiu fakticky vylučujú použitie interferónu alfa pri liečbe Epstein Barr vírusu. Uskutočnenie vynálezu má za následok podstatné zníženie alebo odstránenie vedľajších účinkov v porovnaní s bežnou liečbou interferónom alfa.

Vzorové stavy, ktoré môžu byť liečené interferónom bez obmedzenia zahrňujú poruchy množenia buniek, zvlášť rakovinu (napr. leukémiu vlasových buniek, Kaposiov sarkóm, chronickú myelogénnu leukémiu, mnohopočetný myelom, rakovinu bazálnych buniek a maligný melanóm, rakovinu vaječníkov, kožný lymfóm T buniek) a vírusové infekcie. Liečba interferónom môže byť bez obmedzenia použitia na liečenie stavov, ktoré by mali prospech z inhibície replikácie vírusu citlivých na interferón. Vírusové infekcie, ktoré môžu byť liečené podľa tohoto vynálezu zahrňujú hepatitídu A, hepatitídu B, hepatitídu C, ďalšie hepatitídy non-A/non-B typu, herpes vírus, Epstein Barr vírus (EBV), cytomegalovírus (CMV), herpes simplex, ľudský

herpes vírus typu 6 (HHV-6), papilom, poxvirus, pikornavirus, adenovírus, rinovírus, ľudský T lymfotropný vírus typu 1 a 2 (HTLV-1/-2), ľudský rotavírus, besnotu, retrovírasy zahrňujúce vírus ľudskej imunodeficiencie (HIV), encefalitídu a vírusové infekcie zasahujúce dýchací systém. Spôsob tohoto vynálezu môže byť tiež použitý pri modifikácii rôznych imunitných reakcií.

Pri liečbe leukémie vlasových buniek, venerických bradavíc, Kaposiovho sarkómu a chronickej hepatitídy non-A/non-B typu sa v USA a v ďalších krajinách v súčasnosti osvedčili dva varianty interferónu alfa: interferón alfa-2b predávaný pod obchodným názvom INTRON® A (Schering Corporation, Kenilworth NJ) a interferón alfa-2a predávaný pod obchodným názvom Roferon® A (Hoffmann-La Roche, Nutley, NJ). Pretože interferón alfa-2b má pre liečbu chronickej hepatitídy C najširšie uznanie zo všetkých interferónov na celom svete, je najvýhodnejší na použitie pri liečbe chronickej hepatitídy C podľa tohoto vynálezu.

Osoby prekonávajúce infekciu chronickou hepatitídou C môžu mať jeden alebo viac z nasledujúcich znakov alebo symptómov : a) zvýšená sérová alanínaminotransferáza (ALT), b) pozitívny test na anti-HCV protilátky, c) výskyt HCV prejavujúci sa pozitívnym testom na HCV-RNA, d) klinické znaky chronickej choroby pečene, e) hepatocelulárne poškodenie. Takéto kritériá nemusia byť použité len na diagnózu hepatitídy C, ale tiež na posúdenie reakcie pacienta na liečbu.

Je známe, že zvýšenie sérovej alanínaminotransferázy (ALT) a aspartátaminotransferázy (AST) sa vyskytuje pri nekontrolovanej hepatitíde C a úplná reakcia na liečbu je všeobecne definovaná ako normalizácia týchto sérových enzýmov, zvlášť ALT (Davis a kolektív: *New Eng. J. Med* 1989, 321, 1501-1506). ALT je enzým uvoľnený vtedy, ak sú živé bunky zničené a je príznačný pre HCV infekciu. Interferón spôsobuje syntézu enzýmu 2',5'-oligoadenylatsyntetázy (2'5'OAS), ktorý má za

následok degradáciu vírusovej mRNA. Houghum: *Clinical Pharmacology* 1983, 2, 20-28. Zvýšenie hladín 2'5'OAS v séru sa súčasne zhoduje so znížením hladiny ALT.

Histologické vyšetrenie vzoriek pečeneých biopsií môže byť použité ako druhé kritérium hodnotenia. Viď napr. Knodell a kolektív: *Hepatology* 1981, 1, 431-435, ktorého histologický aktívny index (portálny zápal, postupná alebo prekonaná nekróza, lobulárne zranenia a fibróza) poskytol inštrumentálny spôsob na stanovenie pôsobenia chorôb.

Vo vykonaní tohoto vynálezu môžu byť podávané výhodné konjugáty PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa-2a alebo 2b pacientom infikovaným vírusom hepatitídy C. Výhodné je použitie PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa-2b.

Na liečbu boli vybratí pacienti s pozitívnym testom na anti-HCV protilátky s preukázanou chronickou aktívnou hepatitídou. Každý pacient bol pozitívny na protilátky proti vírusu hepatitídy C (anti-HCV) pomocou doplnkovej skúšky (Ortho alebo Abbot), mal výskyt HCV RNA pomocou PCR a mal skôr pečeneé biopsie so znakmi chronickej hepatitídy. Pacienti boli vo veku od 18 do 68 rokov a nemali žiadnu predchádzajúcu liečbu hepatitídy C pomocou interferónu.

Bolo zistené, že tri dávky PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa-2b (0,5, 1,0, 1,5 µg/kg) podávané jedenkrát týždenne mali rovnaké alebo lepšie pôsobenie ako regulácia interferónom alfa 3 MIU TIW (stanovené pomocou straty HCV-RNA (PCR)) 4., 8. a 12. týždeň terapie. Zároveň boli významne znížené vedľajšie účinky, ktoré sú známe ako sprevádzané javy pri liečbe interferónom alfa.

Množstvo konjugátu PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa podávaného k liečbe akýchkoľvek stavov popísaných vyššie je založené na IFN alfa aktivite polymérneho konjugátu. Je to množstvo, ktoré je dostatočné na významné ovplyvnenie pozitívnej klinickej reakcie za súčasného udržania znížených vedľajších účinkov. Množstvo PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa-2b, ktoré môže byť podávané, je v rozmedzí aspoň 0,25 µg/kg/týždeň v jednej dávke alebo v rozdelených dávkach. Vo výhodnejších vykonaniach je podávané

množstvo v rozsahu 0,25 až 2,5 µg/kg/týždeň alebo v rozsahu 0,5 až 1,5 µg/kg/týždeň v jednej dávke alebo v rozdelených dávkach.

Popísané dávky sa môžu podávať každý ďalší deň, ale výhodne jeden alebo dvakrát týždenne. Dávky sa podávajú injekciami aspoň počas 24 týždennej periódy.

Podávanie dávky môže byť vnútrožilové, podkožné, vnútrosvalové alebo akýmkoľvek iným prijateľným spôsobom. Množstvo podávaného lieku a použitý liečebný režim je založený na odhade ošetrojúceho lekára a bude závislý od veku, pohlavia a lekárskej anamnézy liečeného pacienta, na celkovom počte neutrofilov (napr. závažnosť neutropenie), závažnosti špecifického stavu chorôb a znášanlivosti pacienta voči liečbe zjavnej lokálnou toxicitou a systémovými vedľajšími účinkami. Dávkovacie množstvo a početnosť dávok môže byť stanovené počas počiatočnej previerky celkového počtu neutrofilov.

Pre akýkoľvek spôsob podávania môžu byť použité rozdelené dávky alebo jediná dávka. Napríklad keď sa použije podkožná injekcia, tak môže byť podané napr. 1,5 µg/kg PEG12000-IFN alfa-2b za jeden týždeň, dve injekcie 0,75 µg/kg v 0. a 72. hodine.

Aby sa sledoval priebeh HCV replikácie u osôb ako odozva na liečbu, môže byť vo vzorkách séra stanovené HCV RNA pomocou napr. skúšky reakcie vloženého polymerázového reťazca, ktorý používa dve sady matric odvodených od NS3 a NS4 častí neštruktúrneho génu HCV genómu. Viď Farci a kolektív: *New Eng.J.Med.* 1991, 325, 98-104, Ulrich a kolektív: *J.Clin.Invest.* 1990, 86, 1609-1614.

Antivírusové pôsobenie môže byť merané pomocou zmien v HCV-RNA titru. HCV RNA údaje môžu byť analyzované pomocou porovnania titrov na konci liečby so základným meraním pred liečbou. Zníženie HCV RNA za týždeň 4 poskytuje dôkaz o antivírusovom pôsobení zlúčnin. Viď Kleter a kolektív: *Antimicrob. Agents Chemother.* 1993, 37(3), 595-597, Orito a kolektív: *J.Medical Virology* 1995, 46, 109-115. Zmena veličiny

najmenej o dva rady (≥ 2 log) sa interpretuje ako dôkaz anitivírusového pôsobenia.

Bezpečnosť a znesiteľnosť môžu byť stanovené pomocou klinických hodnotení a množstva bielych krviniek a celkového počtu neutrofilov. Toto môže byť hodnotené prostredníctvom periodického monitorovania hematologických parametrov (celkové množstvo bielych krviniek, neutrofilov, doštičiek a červených krviniek).

Ďalšie interferónové konjugáty môžu byť pripravené spojením interferónu s polymérom rozpustným vo vode. Výpočet takých polymérov, ktorý nie je obmedzený uvedenými príkladmi, zahŕňa ďalšie polyalkylénoxidové homopolyméry, ako napr. polypropylénglykoly, polyoxyetylénované polyoly, ich kopolyméry a ich blokové kopolyméry. Ako ďalšia možnosť, okrem polymérov založených na polyalkylénoxidových polyméroch môžu byť účinne použité neantigénne látky, ako napr. dextrans, polyvinylpyrolidóny, polyakrylamidy, polyvinylalkoholy, polyméry odvodené od sacharidov a podobné. Takéto konjugáty interferón-polymér sú popísané v US patente č. 4,766,106, v US patente č. 4,917,888, v európskej patentovej prihláške č. 0 236 987, v európskej patentovej prihláške č. 0 510 356 a v medzinárodnej prihláške č. WO 95/13090.

Pretože modifikácia polymérom dostatočne znižuje antigénnu reakciu, cudzí interferón nemusí byť úplne autológny. Interferón použitý na prípravu konjugátov s polymérom môže byť pripravený z cicavcieho extraktu, ako napr. ľudský interferón, interferón prežúvavcov alebo hovädzí interferón, alebo môže byť vyrobený rekombináciou.

Rôzne ďalšie predlžujúco alebo trvalo uvoľňujúce zmesi môžu byť pripravené pomocou obyčajných spôsobov známych v stave techniky.

Vo vykonaní tohto vynálezu môžu byť použité obvyklé farmaceutické prípravky obsahujúce terapeuticky účinné množstvo PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa spoločne s farmaceuticky prijateľnými

- nosičmi, adjuvans, riedidlami, konzervačnými činidlami a/alebo solubilizátormi. Farmaceutické interferónové prípravky obsahujú riedidlá rôznych pufrov (napr. Tris-HCl, acetát, fosfát) majúce rozsah pH a iónovú silu, nosiče (napr. ľudský sérový albumín), solubilizátory (napr. tween-etoxylované estery kyseliny sorbovej, polysorbát) a konzervačné činidlá (napr. timerosol, benzylalkohol). Viď napr. US patent 4,496,537.

Ako je popísané vyššie, priebeh chorôb a ich reakcií na liečenie môže byť sledovaný klinickým vyšetrením a laboratórnymi nálezmi. Účinnosť terapie tohoto vynálezu je stanovená stupňom, pri ktorom sú zmiernené skôr popísané príznaky a symptómy chronickej hepatitídy a pri ktorom sú odstránené alebo značne znížené normálne vedľajšie účinky interferónu (tj. symptómy podobné chrípke, ako napr. horúčka, bolesť hlavy, zimnica, myalgia, únava atď. a symptómy týkajúce sa centrálneho nervového systému, ako napr. depresia, parestézia, narušená koncentrácia atď.).

Môže byť vytvorených mnoho modifikácií a variácií tohoto vynálezu, bez toho, aby sa odchýlili od jeho ducha a rámca, čo bude odborníkovi jasné. Tu popísané špecifické vykonania sú predložené len ako príklad a tento vynález je obmedzený len podmienkami doplnených nárokov spoločne s úplným rozsahom ekvivalentov, ku ktorým sú tieto nároky oprávnené.

Priemyselná využiteľnosť

Vynález sa týka spôsobu zahrňujúceho podávanie PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa konjugátu jedincovi postihnutého vírusovou infekciou, ktorý je citlivý na liečbu interferónom alfa, za súčasného zníženia alebo odstránenia nežiadúcich vedľajších účinkov, ktoré sú normálne spojené s podávaním samotného interferónu alfa.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Spôsob prípravy liečiva na liečenie vírusovej infekcie citlivej na liečbu interferónom alfa, **vyznačujúci sa tým**, že zahrňuje primiešanie účinného množstva PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa s farmaceuticky prijateľným nosičom za súčasného zníženia alebo odstránenia nežiadúcich účinkov normálne spojených s podávaním interferónu alfa.
2. Farmaceutický prostriedok na liečenie vírusovej infekcie citlivej na liečbu interferónom alfa, **vyznačujúci sa tým**, že obsahuje PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa a farmaceuticky prijateľný nosič.
3. Spôsob prípravy liečiva na liečenie vírusovej infekcie hepatitídy C u cicavcov, **vyznačujúci sa tým**, že zahrňuje primiešanie účinného množstva PEG₁₂₀₀₀-IFN s farmaceuticky vhodným nosičom za súčasného zníženia alebo odstránenia nežiadúcich účinkov normálne spojených s podávaním interferónu alfa.
4. Spôsob podľa nároku 3, **vyznačujúci sa tým**, že PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa je PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa-2b.
5. Spôsob podľa nároku 3, **vyznačujúci sa tým**, že PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa je PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa-2a.
6. Spôsob podľa nároku 3, **vyznačujúci sa tým**, že množstvo PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa je aspoň 0,25 µg/kg/.
7. Spôsob podľa nároku 6, **vyznačujúci sa tým**, že množstvo PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa je aspoň 0,25 µg/kg až 1,5 µg/kg/.

8. Spôsob prípravy liečiva na liečenie vírusovej infekcie hepatitídy C u cicavcov, **vyznačujúci sa tým**, že zahrňuje primiešanie aspoň 0,25 µg/kg PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa-2b s farmaceuticky vhodným nosičom.
9. Použitie PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa-2b na liečenie vírusovej infekcie hepatitídy C.
10. Použitie podľa nároku 9, kde PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa je PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa-2b.
11. Použitie podľa nároku 9, kde PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa je PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa-2a.