

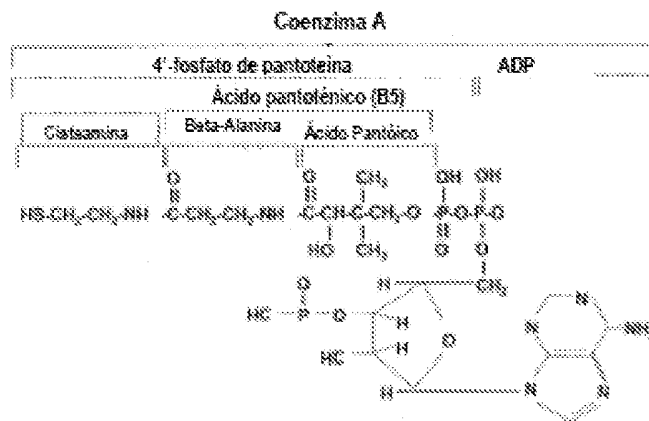
(12) **FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: 2006.11.28	(73) Titular(es): OBIO PHARMACEUTICAL (H.K.) LIMITED SUITE 1211, 12/F., TOWER 2, SILVERCORD30 CANTON ROAD, TSIMSHATSUI KOWLOONHK
(30) Prioridade(s): 2005.11.28 US 740584 P 2006.06.02 US 810773 P 2006.07.06 US 818885 P 2006.09.25 US 847020 P	(72) Inventor(es): HAO YI LIANG CN FRANCIS CHI CN QINGFU XU US BILL PIU CHAN US
(43) Data de publicação do pedido: 2008.08.13	(74) Mandatário: ALBERTO HERMÍNIO MANIQUE CANELAS RUA VÍCTOR CORDON, 14 1249-103 LISBOA PT
(45) Data e BPI da concessão: 2012.09.05 203/2012	

(54) Epígrafe: **MATERIAL E MÉTODOS PARA TRATAR INFECCÕES VIRAIS DE GRIPE COM UM COMPOSTO DE CISTEAMINA**

(57) Resumo:

A INVENÇÃO EM APREÇO PROPORCIONA MATERIAIS E MÉTODOS PARA TRATAR DIVERSOS ESTADOS DE SAÚDE, INCLUINDO A PREVENÇÃO E/OU O TRATAMENTO DE UMA INFECCÃO VIRAL. NUMA CONCRETIZAÇÃO PREFERIDA, ADMINISTRA-SE UM COMPOSTO DE CISTEAMINA A UM SUJEITO PARA TRATAR UMA INFECCÃO COM UM VÍRUS INFLUENZA. MAIS PREFERIVELMENTE ADMINISTRA-SE UM COMPOSTO DE CISTEAMINA A UM SUJEITO PARA TRATAR INFECCÕES POR VÍRUS INFLUENZA A, VÍRUS INFLUENZA B, VÍRUS INFLUENZA C, INCLUINDO OS SUBTIPOS DO VÍRUS INFLUENZA AVIÁRIA (TAIS COMO O H5N1).

RESUMO**"MATERIAL E MÉTODOS PARA TRATAR INFECÇÕES VIRAIS DE GRIPE
COM UM COMPOSTO DE CISTEAMINA"****Cisteamina - Constituinte da Co-enzima A**

A invenção em apreço proporciona materiais e métodos para tratar diversos estados de saúde, incluindo a prevenção e/ou o tratamento de uma infecção viral. Numa concretização preferida, administra-se um composto de cisteamina a um sujeito para tratar uma infecção com um vírus *Influenza*. Mais preferivelmente administra-se um composto de cisteamina a um sujeito para tratar infecções por vírus *Influenza A*, vírus *Influenza B*, vírus *Influenza C*, incluindo os subtipos do vírus *Influenza* aviária (tais como o H5N1).

DESCRIÇÃO

"MATERIAL E MÉTODOS PARA TRATAR INFECÇÕES VIRAIS DE GRIPE COM UM COMPOSTO DE CISTEAMINA"

Um vírus é um pequeno parasita constituído por ácido nucleico (ARN ou ADN) incluído num manto proteico. Os vírus só conseguem replicar-se infectando uma célula hospedeira susceptível e dirigindo a maquinaria da célula hospedeira para produzir mais vírus. A adsorção do vírus às células a ele susceptíveis, bem como a penetração respectiva, é mediada por glicoproteínas (localizadas no manto proteico).

A maior parte dos vírus é classificada em categorias amplas com base nos tipos de ácido nucleico formados durante a sua replicação, e o caminho através do qual é produzido o mRNA. Em geral, os vírus possuem a título de material genético ARN ou ADN, em que o ácido nucleico pode ser de cadeia singela ou de cadeia dupla.

Incluem-se nas famílias importantes de vírus do tipo de ADN (também classificados como vírus das Classes I e II - veja-se Harvey, L. et al, Molecular Cell Biology, Quarta Edição, W.H. Freeman & Company (2000)) *adenoviridae*, *herpesviridae*, *poxviridae*, *papovaviridae*, *densovirinae*, e *parvovirinae*. Incluem-se nas famílias de vírus tipicamente classificadas como do tipo ARN (também classificadas nas

Classes III e VI, veja-se *Molecular Cell Biology*) birnaviridae, reoviridae, astoviridae, arterivirus, caliciviridae, coronaviridae, flaviviridae, picornaviridae, togaviridae, poliovirus, bornaviridae, filoviridae, paramyxovirinae, pneumovirinae, rhabdoviridae, bunyaviridae, e orthomyxoviridae.

A influenza, em geral conhecida como a "gripe", é uma doença contagiosa provocada pelo vírus *influenza*, classificado como membro da família *orthomyxoviridae*. Existem três tipos de vírus influenza, que afetam seres humanos: Influenza A, B e C. Os vírus *Influenza A* têm sido isolados de muitas espécies animais, para além de seres humanos, enquanto os vírus influenza B e C afetam sobretudo seres humanos.

Os vírus *influenza* são vírus envoltos contendo ARN negativos de cadeia singela que são segmentados e encapsidados. O envoltório do vírus *influenza* é caracterizado pela presença de duas glicoproteínas superficiais: hemaglutinina e neuraminidase. Os viriões *influenza A* e B são pleiomórficos e têm habitualmente diâmetros de 80-120 nm. O virião *influenza C* tem muitas propriedades distintivas e é portanto fácil de distinguir dos viriões A e B mais intimamente relacionados.

Os vírus *Influenza* atacam o sistema respiratório dos seres humanos (isto é, o nariz, a garganta, e os pulmões). Por exemplo, uma infecção com gripe A ou B pode

amiúde provocar uma doença respiratória fortemente contagiosa, aguda. A infecção com *Influenza* inclui em geral os seguintes sintomas: febre, cefaleia, cansaço (que pode ser extremo), tosse seca, garganta irritada, congestão nasal, e doenças no corpo.

Estima-se que milhões de pessoas nos Estados Unidos - cerca de 10 % a 20 % dos residentes nos E.U.A. - apanham gripe todos os anos. A maior parte desta população recupera, em geral passada um ou duas semanas. Em alguns casos, no entanto, surgem complicações a partir de uma infecção com *influenza*. Incluem-se nas pessoas com riscos mais elevados de contrair complicações de uma gripe: pessoas de mais de 50 anos de idade, crianças com 6 a 23 meses, mulheres grávidas de 3 meses ou mais, pessoas que vivam numa instituição de cuidados de longo prazo, pessoas sofrendo de estados cardíacos, pulmonares, ou renais crónicos, com diabetes, ou com um sistema imunológico enfraquecido. Alguns exemplos apenas das complicações que podem surgir a partir de uma infecção gripal, a pneumonia, a bronquite, a encefalite, otite média, rinite, e sinusite. Além disto, a gripe pode piorar os problemas crónicos de saúde. Por exemplo, pessoas com asma podem sofrer ataques de asma enquanto têm gripe, e as pessoas com falha cardíaca congestiva crónica podem piorar deste estado que a gripe despolete.

Nos Estados Unidos morrem em média de gripe, anualmente, 36.000 pessoas, e são admitidas num hospital

anualmente em média 114.000 pessoas em resultado desta infecção. Portanto, os vírus da gripe têm um impacto muito importante na morbilidade que leva a aumentos de hospitalização e a visitas a/de indivíduos que proporcionam cuidados de saúde. Por exemplo, observam-se amiúde taxas elevadas de hospitalização para sujeitos com mais do que 65 anos de idade e também para crianças com menos de 5 anos de idade.

Além disto, a disseminação do vírus da gripe através de uma população pode resultar em epidemias, cujo impacto económico pode ser considerável. Observaram-se taxas de mortalidade elevadas devido a infecções com gripe durante as epidemias de gripe de 1957, 1968 e 1977 (Fields, *Virology*, Segunda Edição, Volume 1, págs. 1075-1152 (1990)). Periodicamente o vírus da gripe provoca uma epidemia mundial. Por exemplo, a pandemia de gripe de 1918 provocou segundo relatos publicados cerca de 20 milhões de mortes no mundo todo, e 500.000 mortes nos Estados Unidos (Medical Microbiology, Quarta Edição, University of Texas Medical Branch em Galveston (1996)).

Os vírus da gripe são transmitidos predominantemente de uma pessoa para outra através de gotículas respiratórias (o que também se denomina disseminação por gotículas) que são libertadas aquando da tosse e/ou espirros. O vírus da gripe pode manter-se suspenso no ar e nas gotículas respiratórias durante períodos de até 3 horas; mas eles são sensíveis ao calor e são rapidamente

inactivados a temperaturas acima de 50°C. O vírus consegue sobreviver 24-48 horas sobre superfícies duras, não porosas (por exemplo auscultadores de telefones, teclados de computadores, manípulos de portas, superfícies de mesas e prateleiras de cozinha, brinquedos); ele sobrevive 8 horas sobre pano, papel e tecido; e sobrevive cinco minutos nas mãos (veja-se Muir, P, "Treatment of Influenza. Essential CPE. Continuing Education from the Pharmaceutical Society of Australia", Paragon Printers, Australasia, ACT (2002)). Incluem-se nos métodos típicos de transmissão os contactos entre membranas mucosas e gotículas respiratórias infectadas existentes no ar, contactos interpessoais, contactos com materiais contaminados (isto é, tecidos sujos por descargas infectadas provenientes de um nariz ou uma garganta).

A transmissão do vírus da gripe através de gotículas respiratórias pode ter ocorrido no dia anterior ao dia em que a pessoa sente sintomas relacionados com a gripe. Os adultos podem continuar a transmitir o vírus a outrem durante mais três a sete dias depois do aparecimento dos primeiros sintomas. Ao contrário dos adultos, as crianças têm a capacidade de transmitir o vírus durante mais do que uma semana. Os sintomas estão em geral presentes um a quatro dias depois de o vírus entrar no corpo. Em alguns casos, uma pessoa pode ser infectada com o vírus da gripe mas não demonstrar sintomas. Durante este período, essas pessoas podem no entanto transmitir o vírus a outras.

Estão disponíveis poucos métodos para evitar uma infecção de *influenza* e ainda está por desenvolver uma cura. Incluem-se nos métodos para evitar uma infecção com *influenza* a vacinação e os medicamentos antivirais. Nos Estados Unidos foram aprovados três fármacos (amantadina, rimantadina, e oseltamivir), que se encontram comercialmente disponíveis para utilização para evitar ou para tratar a doença provocada por infecção com o vírus *influenza*. Estes compostos têm no entanto uma eficácia máxima quando são utilizados a título profilático, o que pode permitir que os vírus da gripe venham a desenvolver rapidamente resistências a eles. Vejam-se as Patentes U.S. N^{os}. 3.352.912 e 3.152.180. Foram descritos outros compostos dos quais se descreveu actividade contra o vírus da gripe nas Patentes U.S. N^{os}. 6.271.373; 5.935.957; 5.821.243; 5.684.024; 3.592.934; 3.538.160; 3.534.084; 3.496.228; e 3.483.254.

O DE 19.817.511 descreve a utilização tópica de pantenol para o tratamento de *Herpes simplex* e da gripe.

Existe uma grande necessidade de novas terapias para o tratamento de doenças virais. Se por um lado se tem progredido muito no desenvolvimento de uma série de terapias para o tratamento de infecções bacterianas, existem poucas terapias viáveis para o tratamento de vírus. Tal como se descreveu acima, os fármacos e as vacinas antivirais são sobretudo métodos utilizados na prevenção

e/ou no tratamento de infecções por *influenza*. Utilizam-se correntemente o ganciclovir, o aciclovir e o foscarnet para o tratamento de infecções com o vírus herpes. No entanto, estas terapias podem ter efeitos colaterais substanciais baseados nos seus efeitos nocivos sobre a replicação do ADN das células hospedeiras ou sobre o seu efeito face a um número limitado de infecções virais. Além disto, tal como se afirmou acima, sabe-se que os vírus desenvolvem resistência às terapias, o que provoca um declínio progressivo da sua eficácia.

Tanto quanto se sabe, os compostos de cisteamina não foram anteriormente descritos como sendo úteis para o tratamento de infecções virais.

Breve Sumário da Invenção

A invenção em apreço proporciona materiais para se tratarem sujeitos aos quais se diagnosticaram infecções virais por *influenza*, bem como para evitar que se despoletem infecções virais de *influenza*.

Portanto, num seu primeiro aspecto, a invenção presente proporcionar uma cisteamina, ou um seu sal, para utilização no tratamento de uma infecção viral com *influenza* num sujeito. Lodish, H. *et al.*, Molecular Cell Biology, Quarta Edição, W. H. Freeman & Company (2000), descreve diversos vírus *influenza*.

Num seu segundo aspecto, a invenção presente proporciona uma cisteamina, ou um seu sal, de acordo com as reivindicações 1 a 7, para utilização na diminuição da severidade, da intensidade, ou da duração das complicações associadas a uma infecção viral com *influenza*.

Num seu terceiro aspecto, a invenção presente proporciona cisteamina, ou um seu sal, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, para utilização no tratamento dos sintomas associados a uma infecção viral com *influenza*.

Num seu quarto aspecto, a invenção presente proporciona uma cisteamina, ou um seu sal, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, para utilização na prevenção do desenvolvimento de uma complicação relacionada com uma infecção viral com *influenza*.

Num seu quinto aspecto, a invenção presente proporciona uma composição para utilização na prevenção de uma infecção viral com *influenza*, que inclua uma quantidade eficaz de uma cisteamina, ou de um seu sal, e um fármaco antiviral.

Num seu sexto aspecto, a invenção presente proporciona uma composição incluindo uma quantidade eficaz de uma cisteamina, ou de um seu sal, para utilização na prevenção de uma infecção viral com *influenza*, e um material farmacêutico para utilização no tratamento dos sintomas associados a uma inflamação com *influenza*.

Num seu sétimo aspecto, a invenção presente proporciona uma cisteamina, ou um seu sal, e um fármaco antiviral, sob a forma de uma preparação para administração em conjunto para tratar uma infecção viral com *influenza*.

A invenção em apreço é especialmente aplicável tanto na saúde humana como animal, em particular a animais infectados por vírus de *influenza*.

Exemplifica-se especificament⁵e neste documento a utilização de um composto de cisteamina para tratar e/ou para evitar uma infecção com o vírus da gripe. A administração de um composto de cisteamina a um sujeito antes de ele adquirir o vírus da gripe pode ajudar a proteger o sujeito contra a infecção com *influenza*, ou pelo menos assegurar que os sintomas relacionados com a doença provocada pelo vírus *influenza* se desenvolvem numa menor extensão do que a que seria observada na ausência do composto de cisteamina.

Noutra concretização, pode utilizar-se um composto de cisteamina para evitar e/ou atrasar o desenvolvimento de complicações relacionadas com a gripe em sujeitos que estejam num risco elevado de contrair essas complicações. Por exemplo, complicações relacionadas com a gripe tais como a encefalite, a bronquite, a traqueíte, a miosite, a rinite, a sinusite, a asma, as infecções bacterianas (isto é, infecção bacteriana a *Streptococcus aureus*,

infecção bacteriana da *Haemophilus influenzae*, infecção bacteriana de pneumonia a estafilococos), complicações cardíacas (isto é, fibrilação atrial, miocardite, pericardite), síndrome de Reye, complicações neurológicas (isto é, confusão, convulsões, psicose, neurite, síndrome de Guillain-Barre, coma, mielite transversa, encefalite, encefalomielite), síndrome de choque tóxico, miosite, mioglobínúria, e falha renal, crupe, otite média, infecções virais (isto é, pneumonia viral), fibrose pulmonar, bronquiolite obliterativa, bronquiectasia, exacerbações da asma, exacerbações da doença crónica obstrutiva pulmonar, abscessos pulmonares, empiema, aspergilose pulmonar, miosite e mioglobínemia, falha cardíaca, mortes fetais precoces e tardias em mulheres grávidas, aumento da mortalidade perinatal em mulheres grávidas, anormalidades congénitas à nascença, podem ser diminuídas através do consumo de um composto de cisteamina.

Noutra concretização da invenção, pode utilizar-se um composto de cisteamina para aliviar sintomas relacionados com a gripe num sujeito diagnosticado com uma infecção por *influenza*. Um composto de cisteamina pode destinar-se a uma utilização por si só ou em conjunto com outros agentes conhecidos que sejam utilizados para tratar/evitar a doença provocada pelo vírus *influenza* (isto é, vacinas, fármacos antivirais) ou para tratar sintomas relacionados com a gripe (isto é, antitússicos, mucolíticos, e/ou expectorantes; antipiréticos e analgésicos; descongestionantes nasais).

Numa concretização, um composto de cisteamina destina-se a ser utilizado por si só ou em conjunto com outros agentes conhecidos que se utilizam para tratar/evitar uma infecção viral com *influenza*. Preferivelmente, um composto de cisteamina da invenção destina-se a ser utilizado antes, durante, ou depois de uma exposição de um sujeito a um vírus *influenza* em conjunto com agentes conhecidos que são utilizados para tratar/evitar a doença provocada pelo vírus *influenza* (isto é, em vacinas, fármacos antivirais) ou para tratar sintomas relacionados com a gripe (isto é, antitússicos, mucolíticos, e/ou expectorantes; antipiréticos e analgésicos; descongestionantes nasais).

Numa concretização relacionada, um composto de cisteamina destina-se a ser utilizado por si só ou em conjunto com outros agentes conhecidos que sejam utilizados para tratar e/ou para evitar uma infecção viral aviária (AFV). De acordo com a invenção presente, o composto de cisteamina pode destinar-se a uma utilização por injeção ou a uma administração por via oral para tratar e/ou evitar uma infecção por ATV.

Preferivelmente, um composto de cisteamina destina-se a ser utilizado por si só ou em conjunto com outros agentes conhecidos úteis no tratamento e/ou na prevenção dos diversos subtipos de vírus da *influenza* aviária. Mais preferivelmente, um composto de cisteamina da

invenção destina-se a ser utilizado por si só ou em conjunto com outros agentes conhecidos úteis no tratamento e/ou na prevenção do AIV H5N1. Pode administrar-se uma dosagem de pelo menos 0,1 mg/mL de cloridrato de cisteamina, mais preferivelmente pelo menos 1 mg/mL de cloridrato de cisteamina, e ainda mais preferivelmente pelo menos 2 mg/mL de cloridrato de cisteamina, a um sujeito, para tratar e/ou evitar qualquer um dos subtipos de AIV listados acima, preferivelmente uma infecção pelo AIV H5N1.

Em algumas concretizações preferidas, a dosagem de cloridrato de cisteamina administrada para tratamento e/ou prevenção de uma infecção pelo AIV H5N1 correlaciona-se com a concentração do vírus presente no sujeito. Mais preferivelmente, a dosagem de cloridrato de cisteamina administrada no tratamento e/ou para prevenção da infecção pelo AIV H5N1 correlaciona-se com uma concentração inicial de cerca de LD50.

De acordo com a invenção em apreço, a quantidade da dosagem diária de um composto de cisteamina administrado a um sujeito antes da infecção viral com *influenza* para proteger o sujeito contra a infecção viral, pode ser de entre cerca de 10 mg e 3.000 mg. Preferivelmente, administra-se um composto de cisteamina a entre cerca de 50 mg e 1.500 mg ao dia. Numa concretização mais preferida, administra-se entre 200 mg e 900 mg de cloridrato de cisteamina ao dia a um sujeito para se evitar/tratar o início de uma gripe (tal como com o vírus de uma gripe

aviária, por *influenza* A, por *influenza* B, e por *influenza* C, ou por quaisquer seus mutantes).

De acordo com a invenção em apreço, a quantidade da dosagem diária de um composto de cisteamina administrada a um sujeito uma vez que os sintomas associados a uma infecção viral por *influenza* se apresentaram, é de entre cerca de 10 mg e cerca de 3.000 mg. Preferivelmente, administra-se um composto de cisteamina a entre cerca de 200 mg e 1.500 mg ao dia. Numa concretização mais preferida, administram-se entre cerca de 450 mg e 900 mg de cloridrato de cisteamina ao dia a um sujeito, para tratar e/ou melhorar a severidade dos sintomas associados a uma *influenza* (tal como com o vírus de uma gripe aviária, por *influenza* A, por *influenza* B, e por *influenza* C, ou por quaisquer seus mutantes).

De acordo com a invenção em apreço, a quantidade da dosagem diária de um composto de cisteamina administrado a um sujeito em risco de contrair complicações associadas a uma infecção viral com *influenza* é de entre cerca de 10 mg e 3.000 mg. Preferivelmente, administra-se um composto de cisteamina a entre cerca de 200 mg e 1.500 mg ao dia. Numa concretização mais preferida, administram-se diariamente entre 450 mg e 900 mg de cloridrato de cisteamina a um sujeito para se evitar e/ou para se atrasar o início de complicações associadas com uma infecção por um vírus *influenza* (tal como com o vírus de uma gripe aviária, por *influenza* A, por *influenza* B, e por *influenza* C, ou por quaisquer seus mutantes).

Descrição Resumida dos Desenhos

- A **Figura 1** mostra a cisteamina como constituinte do coenzima A.
- A **Figura 2** mostra um caminho metabólico da cisteamina.

Descrição Pormenorizada da Invenção

A invenção em apreço proporciona materiais para tratar infecções virais com *influenza* tratando/melhorando os sintomas associados às infecções virais com *influenza*; e/ou evitando/atrasando a manifestação das complicações associadas às infecções virais com *influenza*.

O termo "sintoma(s)", tal como se utiliza neste documento, refere-se a sinais ou indicações habituais de que um sujeito está a sofrer de uma determinada doença ou de um estado, específicos. Por exemplo, os sintomas associados a uma infecção viral com *influenza*, tal como se utilizam neste documento, referem-se a sinais ou indicações habituais de que um sujeito está infectado com um vírus de *influenza*. Incluem-se nos sintomas relacionados com a gripe que se consideram neste documento, sem que eles se limitem a estes, febre, cefaleia, exaustão/fadiga, dores musculares, articulações doridas, irritação lacrimajante nos olhos, enjoos, náuseas e/ou vômitos, arrepios de frio, dores no peito, espirros e sintomas respiratórios (isto é,

membranas mucosas respiratórias inflamadas, ardor sub-esterno, descargas nasais, garganta arranhada/inflamada, tosse seca, perda do olfacto).

De acordo com a invenção em apreço, os sintomas associados a uma infecção com o vírus da gripe podem começar entre 24 e 48 horas depois da infecção, e podem começar de repente. Amiúde a primeira indicação de uma gripe são arrepios ou uma sensação de frio. É habitual a febre em alguns dos primeiros dias, e a temperatura pode elevar-se a entre 39°C e 39,5°C. Em muitos casos, os sujeitos sentem-se suficientemente doentes para ficarem na cama durante dias; os sujeitos sentem amiúde dores por todo o corpo, mais pronunciadas nas costas e nas pernas.

Tal como se utiliza neste documento, o termo "complicação/ões" refere-se a processos ou acontecimentos patológicos que ocorrem durante uma doença ou num estado e não formam parte essencial da doença ou do estado; podendo dever-se à doença/estado ou a causas independentes. Portanto, o termo complicação(ões) refere-se a problemas medicinais/clínicos que são observados em sujeitos aos quais foi diagnosticada uma infecção com o vírus da gripe.

Uma complicação de uma infecções pelo vírus da gripe é que a infecção com o vírus da gripe pode piorar os problemas de saúde crónicos. Por exemplo, incluem-se nas complicações associadas a uma infecção viral, sem limitação, encefalite, bronquite, traqueíte, miosite, rinite,

sinusite, asma, infecções bacterianas (isto é, infecções bacterianas com *Streptococcus aureus*, infecções bacterianas por *Haemophilus influenzae*, infecções bacterianas por estafilococos provocando pneumonia), complicações cardíacas (Isto é, fibrilação atrial, miocardite, pericardite), síndrome de Reye, complicações neurológicas (isto é, confusão, convulsões, psicose, neurite, síndrome de Guillain-Barre, coma, mielite transversa, encefalite, encefalomielite), síndrome de choque tóxico, miosite, mioglobínúria, e falha renal, crupe, otite média, infecções virais (isto é, pneumonia viral), fibrose pulmonar, bronquiolite obliterativa, bronquiectasia, exacerbações de asma, exacerbações de doença pulmonar obstrutiva crónica, abscessos pulmonares, empiema, aspergilose pulmonar, miosite e mioglobinémia, falha cardíaca, mortes fetais tanto precoces como tardias nas mulheres grávidas, aumentos da mortalidade perinatal em mulheres grávidas, e anormalidades congénitas à nascença.

Os termos "*influenza*", "*vírus influenza*", "*vírus da gripe*" ou "*gripe*", tal como se utilizam neste documento, referem-se a um vírus a ARN, da família *Orthomyxoviridae*, incluindo *influenza A*, *influenza B*, e *influenza C*, bem como os seus mutantes. Os vírus da gripe considerados neste documento incluem aqueles vírus que possuem dois enzimas glicosilados antigénicos à sua superfície: neuraminidase e hemaglutinina. Incluem-se nos diversos tipos de vírus da gripe que se podem tratar recorrendo aos materiais e aos métodos da invenção, sem que eles se limitem a estes, os

vírus dos subtipos H1N1, H1N2, H2N2, H3N2, H3N8, H5N1, H5N3, H5N8, H5N9, H7N1, H7N2, H7N3, H7N4, H7N7, H9N2, e H10N7, incluindo os seguintes subtipos geralmente conhecidos como "Gripe Espanhola", "Gripe Asiática", "Gripe de Hong Kong", "Gripe Aviária", "Gripe de Suínos", "Gripe de Cavalos", e "Gripe de Cães".

O termo "sujeito", tal como se utiliza neste documento, descreve um organismo, incluindo seres humanos e mamíferos, aos quais é proporcionado um tratamento com as composições consoante a invenção presente. As espécies de mamíferos que beneficiam da invenção presente incluem mas não se limitam a, primatas, chimpanzés, orangotangos, humanos, macacos; e animais domésticos (isto é, animais de companhia), tais como cães, gatos, murganhos, ratos, cobaias, e *hamsters*.

"Administração em conjunto" e "administrar-se em conjunto", tal como se utilizam neste documento, incluem administrar-se um composto ou utilizar-se um método terapêutico com a composição da invenção (um composto de cisteamina) no tratamento de uma infecção viral com *influenza* ou para o tratamento de sintomas e/ou complicações relacionadas com uma infecção viral com *influenza*.

Para um sujeito a quem foi diagnosticada uma infecção com gripe, pode administrar-se um composto de cisteamina em conjunto com vacinas, fármacos antivirais,

antitússicos, mucolíticos, e/ou expectorantes; antipiréticos e analgésicos; descongestionantes nasais. A título de exemplo, pode proporcionar-se um composto misturado com um composto de cisteamina, tal como numa composição farmacêutica; ou podem proporcionar-se o composto e a cisteamina como compostos separados, tais como, por exemplo, composições farmacêuticas em separado administradas consecutivamente, em simultâneo, ou em alturas diferentes. Preferivelmente, quando se administrarem em separado o composto de cisteamina e o agente conhecido para tratar/evitar uma infecção por *influenza* e/ou para tratar/evitar os sintomas e complicações relacionados com a *influenza*, eles não serão administrados em alturas tão separadas ao longo do tempo que não possam haver interações entre a cisteamina e o agente conhecido.

Em determinadas concretizações da invenção, pode administrar-se um composto de cisteamina em conjunto com, mas sem que se limite a, uma vacinação, medicamentos antivirais tais como amantadina, rimantadina, ribavirina, idoxuridina, trifluridina, vidarabina, aciclovir, ganciclovir, foscarnet, zidovudina, didanosina, zalcitabina, estavudina, famciclovir, oseltamivir, e valaciclovir (os materiais e/ou métodos utilizados para tratar uma infecção viral); ou com antitússicos, mucolíticos, e/ou expectorantes; antipiréticos e analgésicos; descongestionantes nasais (materiais utilizados para tratar sintomas associados a uma infecção com *influenza*).

A título de exemplo, um composto para utilização com um composto de cisteamina da invenção pode ser proporcionado com o composto de cisteamina, tal como na mesma composição farmacêutica. Em alternativa, podem proporcionar-se o composto e a cisteamina como compostos em separado, tais como, por exemplo, em composições farmacêuticas em separado administradas consecutivamente, em simultâneo, ou em alturas diferentes. Preferivelmente, se o composto de cisteamina e o agente conhecido para tratar/evitar infecções por *influenza* e/ou para tratar sintomas e complicações relacionadas com a gripe forem administrados em separado, eles não serão administrados de uma forma tão alternada no tempo que o composto de cisteamina e o agente conhecido não possam vir a interactuar.

Tal como se utiliza neste documento, uma referência a um "composto de cisteamina" inclui a cisteamina, os diversos sais de cisteamina, nos quais se incluem os sais aceitáveis de um ponto de vista farmacêutico de um composto de cisteamina.

O termo "sal aceitável de um ponto de vista farmacêutico", tal como se utiliza neste documento, refere-se a qualquer sal de um composto de cisteamina que seja aceitável de um ponto de vista farmacêutico e não diminua nem iniba fortemente a actividade do composto de cisteamina. Incluem-se nos exemplos destes sais ou sais de dição a ácidos, com ácidos inorgânicos ou orgânicos, tais como o acetato, o tartarato, o trifluoroacetato, o lactato,

o maleato, o fumarato, o citrato, o metanossulfonato, o sulfato, o fosfato, o nitrato, ou o cloreto.

Portanto, numa concretização da invenção em apreço, as vantagens da cisteamina, tal como descritas neste documento, podem ser conseguida promovendo a produção endógena da cisteamina por processos metabólico naturais tais como através da acção do coenzima A ou como um precursor e/ou metabolito da cisteína (vejam-se as Figuras 1 e 2). Isto pode conseguir-se, por exemplo, pela administração de ácido pantoténico.

O termo "quantidade eficaz", tal como se utiliza neste documento, refere-se à quantidade necessária para originar a resposta biológica pretendida, de acordo com a invenção em apreço, a quantidade necessária de um composto de cisteamina é a quantidade necessária para tratar/evitar uma infecção viral por *influenza*; tratar/melhorar sintomas associados com infecções virais por *influenza*; e/ou evitar/atrasar/melhorar o aparecimento de complicações associadas com infecções virais por *influenza*, numa concretização preferida, a quantidade eficaz de um composto de cisteamina é a quantidade necessária para tratar/evitar uma infecção por *influenza*; para tratar/melhorar sintomas associados com uma infecção por *influenza*; e/ou evitar/atrasar/melhorar o aparecimento de complicações em pacientes em maior risco de contrair complicações associadas com uma infecção por *influenza*. A melhoria dos sintomas e/ou da severidade das complicações pode ser uma diminuição da sua

severidade em 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 % ou 99 %.

A invenção presente é aplicável em especial na saúde se sujeitos não humanos, em particular a sujeitos não humanos infectados por um vírus *influenza*.

No que toca a sujeitos humanos, a invenção presente é em especial aplicável no tratamento e/ou na prevenção de infecções pelo *influenza*, em particular de infecções pelo vírus *influenza* aviário. De acordo com a invenção em apreço, um composto de cisteamina é útil no tratamento e/ou na prevenção de infecções por diversas estirpes de *influenza* aviária, incluindo vírus dos subtipos H1N1, H1N2, H2N2, H3N2, H3N8, H5N1, H5N2, H5N3, H5N8, H5N9, H7N1, H7N2, H7N3, H7N4, H7N7, H9N2, e H10N7. Numa concretização da invenção, utiliza-se o cloridrato da cisteamina para se tratar e/ou evitar uma infecção pelo vírus H5N1 de *influenza* aviária em seres humanos ou em animais. Pode administrar-se o cloridrato de cisteamina por si só ou em conjunto com outros agentes conhecidos como sendo eficazes no tratamento e/ou na prevenção de infecções gripais.

Numa concretização relacionada, administra-se um composto de cisteamina (tal como o cloridrato de cisteamina) por si só ou em conjunto com outros agentes conhecidos que se utilizam para tratar e/ou evitar uma

infecção de gripe aviária (AIV). Pode administrar-se o composto de cisteamina a um sujeito por injeção ou por via oral.

Preferivelmente, pode administrar-se uma dosagem de pelo menos 0,1 mg/mL de cloridrato de cisteamina, mais preferivelmente pelo menos 1 mg/mL de cloridrato de cisteamina, e ainda mais preferivelmente pelo menos 2 mg/mL de cloridrato de cisteamina, a um sujeito, para tratar e/ou para evitar uma infecção pelo AIV H5N1.

Em algumas concretizações preferidas, a dosagem de cloridrato de cisteamina administrada no tratamento e/ou para prevenção de uma infecção por AIV (incluindo os vírus dos subtipos H1N1, H1N2, H2N2, H3N2, H3N8, H5N1, H5N2, H5N3, H5N8, H5N9, H7N1, H7N2, H7N3, H7N4, H7N7, H9N2, e H10N7) correlaciona-se com a concentração em vírus presente no sujeito. Mais preferivelmente, a dosagem de cloridrato de cisteamina administrada no tratamento e/ou para prevenção de uma infecção pelo AIV H5N1 correlaciona-se com uma concentração de cerca de LD50 do vírus presente no sujeito.

As composições da invenção podem ser utilizadas numa série de vias de administração, incluindo, por exemplo, formas administráveis por via oral, tais como comprimidos, cápsulas ou outras semelhantes, ou por via parentérica, endovenosa, intramuscular, transdérmica, bucal, subcutânea, em supositórios, ou por outra via. Estas

composições são referidas neste documento de modo genérico como "composições farmacêuticas". Tipicamente, elas podem assumir uma forma de unidades de dosagem, nomeadamente, em unidades fisicamente discretas adequadas como unidades ou para consumo humano, contendo cada unidade uma quantidade previamente determinada de ingrediente activo calculada para produzir o efeito terapêutico pretendido em associação com um ou mais outros ingredientes aceitáveis do ponto de vista farmacêutico, isto é, diluente ou veículo.

Os compostos de cisteamina da invenção em apreço podem ser formulados de acordo com métodos conhecidos para se prepararem composições úteis do ponto de vista farmacêutico. São descritas formulações em diversos locais, que são bem conhecidos e estão facilmente à disposição dos especialistas na técnica. Por exemplo, o Pharmaceutical Science do Remington (Martin EW [1995] Easton Pennsylvania, Mack Publishing Company, 19ª edição) descreve formulações que se podem utilizar em relação com a invenção em apreço. Incluem-se nas formulações adequadas para administração parentérica, por exemplo, soluções aquosas estéreis para injeção, que podem conter antioxidantes, tampões, bacteriostáticos, e solutos, que tornam as formulações isotónicas com o sangue da entidade a quem se destinam; e suspensões aquosas e não aquosas, que podem incluir agentes de suspensão e agentes espessantes. Podem apresentar-se as suspensões em unidades de dose ou em contentores com diversas doses, por exemplo em ampolas seladas e em frascos, e podem armazenar-se num estado liofilizado

necessitando apenas serem condicionados com o veículo líquido estéril, por exemplo, água para injeções, antes da sua utilização. Podem preparar-se soluções e suspensões para administração a termo, a partir de pós, grânulos, comprimidos, etc., estéreis. Deve entender-se que além dos ingredientes individualmente mencionados acima, as formulações da invenção em apreço podem incluir outros agentes convencionais da técnica, atendendo ao tipo de formulação em questão.

As formulações contendo um composto de cisteamina incluem as que são adequadas para administração pelas vias oral, rectal, nasal, tópica (incluindo bucal e sublingual), vaginal, parentérica (incluindo subcutânea, intramuscular, endovenosa, intradérmica, intratecal e epidural), bem como para administração nos olhos. As formulações podem convenientemente ser apresentadas em formas de dosagem unitária, e podem ser preparadas por qualquer um dos métodos bem conhecidos na técnica da farmácia. Estes métodos incluem o passo de se associar o composto de cisteamina com o veículo que constitui um ou mais dos ingredientes acessórios. Em geral as formulações são preparadas associando uniforme e intimamente o composto de cisteamina com veículos líquidos ou com veículos sólidos em partículas muito pequenas, ou ambos, e depois, caso seja necessário, enformar-se o produto. Em algumas concretizações, o composto de cisteamina pode ser proporcionado numa formulação para utilização num pacho para a pele.

A administração de um composto de cisteamina, de acordo com a invenção em apreço, pode ser conseguida por um qualquer método que seja adequado e por técnicas conhecidas presentemente ou prospectivamente dos especialistas. Numa concretização preferida, formula-se um composto de cisteamina numa formulação oral patenteável e fácil de consumir tal como uma pílula, uma pastilha, um comprimido, uma goma, uma bebida, etc. O artigo de consumo é depois tomado na altura, antes de, ou depois, se sofrer um acontecimento stressante e/ou quando for necessário para aumentar a actividade imunológica (isto é, depois do diagnóstico de uma infecção gripal).

De acordo com a invenção, as composições contendo, a título de ingrediente activo, uma quantidade eficaz da cisteamina para utilização no tratamento de uma infecção viral de *influenza* podem também incluir um ou mais veículos ou diluentes não tóxicos, aceitáveis do ponto de vista farmacêutico. Incluem-se nos exemplos destes veículos para utilização na invenção o etanol, o sulfóxido de dimetilo, o glicerol, a sílica, a alumina, o amido, o sorbitol, o inositol, o xilitol, a D-xilose, o manitol, a celulose em pó, a celulose microcristalina, o talco, a sílica coloidal, o carbonato de cálcio, o carbonato de magnésio, o fosfato de cálcio, o silicato de cálcio e alumínio, o hidróxido de alumínio, o amido-fosfato de sódio, a lecitina, e veículos e diluentes equivalentes.

Para se proporcionar a administração destas

dosagens para o tratamento terapêutico pretendido, as composições da invenção conterão tipicamente entre cerca de 0,1 % e 95 %, do total da composição incluindo veículo ou diluente. A dosagem utilizada pode variar com base na idade, peso, estado de saúde, ou no género do indivíduo que se pretenda tratar.

Numa concretização, a dosagem da cisteamina administrada a um paciente para que ele apresente a reacção pretendida é de entre cerca de 10 mg e cerca de 3.000 mg ao dia. A reacção pretendida pode incluir (1) a prevenção de infecções virais por *influenza*; (2) uma diminuição da severidade, da duração, ou da intensidade dos sintomas associados a infecções virais por *influenza*; e (3) a prevenção, um atraso, ou uma diminuição da severidade, da duração, ou da intensidade das complicações relacionadas com infecções virais por *influenza*. Preferivelmente, administra-se diariamente o cloridrato de cisteamina a entre cerca de 50 mg e 1.000 mg para se conseguir a reacção pretendida. Numa concretização mais preferida, a dosagem de cloridrato de cisteamina administrada a um paciente para originar uma reacção pretendida é de entre cerca de 200 mg e 900 mg ao dia.

Seguem-se exemplos que ilustram procedimentos para se praticar a invenção. Estes exemplos não devem ser interpretados como constituindo limitações. Todas as percentagens são ponderais e todas as proporções nas misturas de solventes são volumétricas, a não ser aonde se afirmar algo em contrário.

Exemplo 1 - Tratamento de Sintomas Relacionados com a Gripe

Tratou-se inicialmente um sujeito do sexo masculino infectado com um vírus *influenza*, demonstrando sintomas (descargas nasais, febre, exaustão) associados a uma infecção por *influenza*, com um descongestionante nasal e medicações mucolíticas que não necessitavam de receitas médicas. Estes medicamentos não foram eficazes no tratamento dos sintomas relacionados com a gripe nas primeiras 24 horas.

Depois de os medicamentos que não necessitavam de receita médica terem provado ser ineficazes, administrou-se a o sujeito por via oral uma dose de cerca de 700 mg de cloridrato de cisteamina. Passadas 24 horas, os sintomas associados à infecção gripal haviam desaparecido. O sujeito sentia-se em geral saudável.

Exemplo 2 - Estudo da Actividade Antiviral da Cisteamina contra o Vírus H5N1 de Influenza Aviária: Estudos In vitro e In vivo Utilizando Fosfato de Oseltamivir a Título de Controlo

De acordo com uma concretização da invenção, a cisteamina demonstra uma actividade antiviral contra o vírus H5N1 da gripe aviária. O objecto da invenção presente é especialmente vantajoso devido aos seus resultados

inesperados face ao vírus da gripe aviária. Por exemplo, tal como se descreve adiante, a cisteamina é especialmente eficaz no tratamento de infecções pelo vírus H5N1 da gripe aviária, mesmo mais do que o fosfato de oseltamivir (cuja designação genérica é TAMIFLU®), que é um fármaco licenciado contra o vírus da *influenza* aviária.

Materiais e Método

Obteve-se cisteamina (doravante referida, neste documento, como TG21; incluindo 99 % de cisteamina) junto da Omega Bio-Pharma (H.K.), Limitada. Utilizaram-se nesta experiência ovos embrionados de galinhas isentas de patogénicos específicos (SPF) (Pequim, China). Isolou-se a estirpe CV do vírus H5N1 de *influenza* aviária a partir de frangos infectados. Adquiriram-se frangos Roman junto da Hebei, não imunizados por vacina contra o vírus da *influenza* aviária. Utilizou-se o TAMIFLU® (Roche (China) Ltd., Xangai, China) tal como se descreve neste documento.

Avaliação da Toxicidade de TG21 em Ovos de Galinha Embrionados

Dissolveu-se um grama de TG21 em 10 mL (a 1:10) 0,01 mol/L, em PBS (a 1:10, 10 mg/mL) a pH 7,2, e depois diluiu-se numa série de diluições a ½ de 1:10 até 1:5.120. Injectou-se o fármaco diluído (grupos em teste) ou tampão PBS (grupo de controlo) nas cavidades corio-alantóicas de ovos de galinha embrionados com 10 dias de idade, 5 ovos

para cada diluição. Chocaram-se os ovos a 37°C e monitorizaram-se duas vezes ao dia durante 5 dias para se observar a sobrevivência dos embriões e para calcular o valor de LD50 (Dose viral 50 % mortal).

**Avaliação da EID50 do Vírus H5N1 de Influenza
Aviária em Ovos de Galinha Embrionados**

Diluiu-se em série a 1/10 a reserva original de estirpe CV do vírus da *influenza* aviária, com PBS 0,01 M a pH 7,2, entre 10^{-1} e 10^{-10} . Inoculou-se 0,2 mL de vírus diluído (grupo em teste) ou tampão PBS (grupo de controlo) nas cavidades corio-alantóicas de ovos de galinha embrionados com 10 dias de idade, 5 ovos para cada diluição. Chocaram-se os ovos a 37°C e monitorizaram-se duas vezes ao dia durante 5 dias para se observar a sobrevivência dos embriões. Calcularam-se os valores de EID50 (dose infectando 50 % dos ovos) com base no método de Reed-Muench.

**Avaliação do Efeito Antiviral de TG21 contra
Influenza Aviária em Ovos de Galinha Embrionados.**

Dissolveu-se um grama de TG21 em 10 mL, 0,01 mol/L, a pH7,2 de PBS (a 1:10, 100 mg/mL), e depois diluiu-se em série a $\frac{1}{2}$ desde 1:10 até 1:5.120. Incubou-se a solução diluída de TG 21 com igual volume de estirpe CV de vírus de gripe aviária H5N1 a 10 ou 100 vezes o seu valor de EID50, à temperatura ambiente durante 30, 60 e 120

minutos, respectivamente, e depois inocularam-se os 0,2 mL de solução misturada de fármaco com vírus nas cavidades< corio-alantóicas de ovos embrionados de galinhas SPF, com 10 dias de idade. Chocaram-se todos os ovos embrionados a 37°C e monitorizaram-se duas vezes ao dia durante 5 dias para se observar a sobrevivência dos embriões. Calculou-se o valor de IC50.

A título de controlo positivo, avaliou-se o efeito antiviral do TAMIFLU® sobre o vírus da gripe aviária a 100 vezes o EID50.

Avaliação das LD50 dos Vírus de Influenza Aviária em Frangos.

Diluiu-se em série a 1/10 a reserva original de estirpe CV do vírus da *influenza* aviária, com PBS 0,01 M a pH 7,2, entre 10^{-1} e 10^{-9} , e depois utilizaram-se para infectar os frangos com gotas nasais, 10 frangos para cada diluição. Monitorizaram-se os frangos duas vezes ao dia durante 7 dias para se observar a sobrevivência. Calculou-se a LD50 dos vírus de *influenza* aviária para os frangos, consoante a sobrevivência dos animais.

Avaliação da Eficácia de TG21 contra Influenza Aviária em Frangos.

Administrou-se a frangos Roman com 4 a 6 semanas de idade, TG21 através da água de beber, com dosagens de

40, 20, 10 mg TG21/frango.dia⁻¹, elevadas durante três dias, em seguida contaminaram-se os frangos com 2,5, 25, 250 vezes a EID50 em gotas nasais, diariamente durante três dias. Continuaram a tratar-se os animais com as mesmas doses de TG21 durante cinco dias depois da contaminação. Monitorizaram-se os frangos duas vezes ao dia durante 7 dias. Levou-se a cabo em paralelo um controlo negativo sem tratamento. Registou-se a sobrevivência dos animais e a eficácia do fármaco TG21 consoante a fórmula seguinte: Eficácia = (data da morte no grupo de controlo - taxa da morte no grupo em tratamento)/(taxa da morte no grupo de controlo) x 100%.

Resultados

1. Toxicidade

120 horas depois de se inocular TG21 nos ovos embrionados, detectou-se alguma toxicidade a doses elevadas de entre cerca de 100 mg/mL (diluição a 1:10) a 25 mg/mL (a 1:40). A LD50 do TG21 para ovos de galinha embrionados era de 32,1 mg/mL. Não se observaram quaisquer efeitos colaterais para doseamentos inferiores a 12,5 mg/mL (a 1:80).

2. EID50 da *Influenza Aviária* por H5N1 em Ovos de Galinha Embrionados, e LD50 em Frangos.

Quando se diluía mais do que 10⁹ vezes a reserva

inicial de vírus (concentração de 10^{-9}), os ovos embrionados sobreviviam. De acordo com o Método de Reed Muench, calculou-se a EID50 da *influenza* aviária por H5N1 nos ovos de galinha embrionados como sendo $10^{-8,17}$. Quando se diluía a reserva de vírus a 10^{-8} ou menos, o vírus testado não era mortal. A LD50 do vírus H5N1 de gripe aviária para frangos era de $10^{-5,41}/0,2$ mL.

3. Efeito Antiviral de TG21 sobre os Vírus H5N1 de Influenza Vial em Ovos de Galinha Embrionados.

Antes da inoculação dos ovos de galinha embrionados, trataram-se os vírus H5N1 de gripe aviária com diferentes diluições de TG21 durante 30, 60, e 120 minutos. Os valores de IC50 da TG21 contra os vírus H5N1 de gripe aviária eram respectivamente de 15,6, 14,9, e 6,8 mg/mL, para os períodos de tratamento de 30, 60, e 120 minutos a uma dose de 10 vezes a do valor da EID50 viral de provocação. Os valores de IC50 eram respectivamente de 17,5 e de 16,1 mg/mL, quando o vírus foi tratado com TG21 durante 30 e 120 minutos antes da inoculação a doses virais de 10 vezes EID50 (veja-se a Tabela 1 adiante).

Num grupo de controlo positivo tratado com TAMIFLU[®], os valores de IC50 do TAMIFLU[®] contra o vírus H5N1 da gripe aviária eram respectivamente de 25,1 e de 19,4 mg/mL, para períodos de tratamento de 30 e de 120 minutos, antes da inoculação, a uma dose viral de 100 vezes

a EID50. Num grupo de controlo negativo (não se administrando nenhum fármaco), todos os ovos de galinha embrionados morreram.

TABELA 1 - Efeito antiviral da TG21 sobre ovos de galinha embrionados com AIV H5N1

		10 EID50 ^a			100 EID50	
		30 Minutos ^b	60 Minutos	120 Minutos	30 Minutos	120 Minutos
Sobrevivência dos embriões (%)						
D i l u i ç õ e s	1:10 ^c	100% (16/16 ^d)	100% (17/17)	100% (21/21)	100% (16/16)	100% (16/16)
	1:20	100% (11/11)	100% (12/12)	100% (16/16)	100% (11/11)	100% (11/11)
	1:44	75% (6/8)	77,8% (7/9)	100% (11/11)	100% (6/6)	100% (6/6)
	1:80	37,5% (3/8)	40% (4/10)	66,7% (6/9)	0% (0/5)	20% (1/5)
	1:160	10% (1/10)	27% (3/11)	36,4% (4/11)	0% (0/10)	0% (0/9)
	1:320	0% (0/14)	0% (0/13)	21% (3/14)	0% (0/15)	0% (0/14)
T G 2 1	1:640	0% (0/19)	0% (0/18)	13% (2/16)	0% (0/20)	0% (0/19)
	1:1.280	0% (0/24)	0% (0/23)	0% (0/19)	0% (0/25)	0% (0/24)
	1:2.560	0% (0/29)	0% (0/28)	0% (0/24)	0% (0/30)	0% (0/29)
IC50 ^e						
IC50 (mg/mL)	15,6	14,9	6,8	17,5	16,1	

Nota: Mins=Minutos; ^aEID50: dose de fármaco para infecção de 50 % dos ovos; ^bperíodo de reacção de fármaco-vírus antes da infecção; ^ca concentração de inicialização do fármaco é de 100 mg/mL; ^dsobrevivos/total; ^eIC50: concentração do fármaco necessária para 50 % dos embriões sobreviverem.

Eficiência da TG21 contra os Vírus H5N1 de Influenza Aviária em Frangos.

Administrou-se a frangos com quatro a seis semanas de idade, 10-40 mg/frango.dia⁻¹ de TG21 na água de beber, durante três dias antes e durante cinco dias depois da infecção com uma dose elevada de vírus (250 X LD50), uma

dosagem média de vírus (25 X LD50), e uma dosagem pequena de vírus (2,5 X LD50), usando o vírus infeccioso H5N1 de *influenza* aviária. Os resultados do efeito antiviral da TG21 sobre o vírus H5N1 de *influenza* aviária nos frangos está ilustrado na Tabela 2 adiante. Todos os frangos testados morreram nos três primeiros dias após dosagens de 250 vezes a LD50 infecciosa viral, incluindo os animais do grupo de controlo a TAMIFLU®. Isto pode ser devido a uma dosagem de infecção viral elevada demais, de tal forma que nenhum tratamento medicinal, incluindo TAMIFLU®, consegue proporcionar uma protecção eficaz contra a infecção viral.

A protecção da TG21 contra o vírus da gripe aviária H5N1 em frangos, às dosagens de 40, 20, 10 mg/frango.dia⁻¹ era respectivamente de 100 %, 62,5%, e 87,5 %, com doses de infecção de 2,5 vezes a dose infecciosa LD50, e respectivamente de 70 %, 80 %, e 50 %, com doses de infecção de 25 vezes a dose infecciosa LD50. A diferença estatística da eficiência da TG21 face ao controlo negativo (nenhum fármaco) era extremamente significativa (todos os p volumétricos <0,01 pelo teste do χ quadrado). A eficiência do TAMIFLU® (a 5 mg/frango.dia⁻¹) era de 50 % para uma infecção com 25 vezes a dose viral LD50. Não se encontrou nenhuma diferença significativa entre os IC50 da TG21 (a 10 mg/frango.dia⁻¹) e o TAMIFLU® (a 5 mg/frango.dia⁻¹) (P>0,005) para uma infecção com 25 vezes a dose viral LD50 (Tabela 2).

TABELA 2 - Efeito antiviral da TG21 contra o vírus H5N1 da gripe aviária em Frangos

		Dose de infecção viral		
Fármaco e dose		250 LD50	25 LD50	2,5 LD50
T G 2 1	40 mg/mL	0% (0/10) ^a	70% (7/10)**	100% (10/10)**
	20 mg/mL	0% (0/10)	80% (8/10)**	62,5% (7/10)**
	10 mg/mL	0% (0/10)	50% (5/10)**	87,5% (9/10)**
Tamiflu (5,4 mg/mL)		0% (0/10)	50% (5/10)**	N/A
Controlo negativo		0% (0/10)	0% (0/10)	20% (2/10)

Nota: ** P<0,01 em comparação com o grupo de controlo pelo teste do χ quadrado; ^a: sobrevividos/total

Sumário

Utilizaram-se neste estudo ovos embrionados com dez dias de idade, de galinhas SPF (isentas de patogénicos específicos) e frangos com quatro a seis semanas de idade para se testar o efeito antiviral da TG21 sobre a estirpe CV do vírus da gripe aviária H5N1. O valor da LD50 (Dose Letal a 50 %) do vírus para os frangos, a EID50 (dose infecciosa de 50 % dos ovos) do vírus para ovos embrionados, e a LD50 dos ovos embrionados tratados com TG21 foram inicialmente determinadas. Para os estudos *in vitro*, incubaram-se previamente os vírus com diferentes concentrações de TG 21 durante 30-120 minutos, respectivamente, e depois inoculou-se a mistura em ovos embrionados para se observar a sobrevivência do embrião. Calculou-se o valor de IC50 (concentração de fármaco necessária para sobreviverem 50 % dos embriões) da TG21. Nos estudos *in vivo*, administraram-se aos frangos doses elevadas, médias e pequenas de TG21 na água de beber, durante três dias antes e cinco dias depois

de uma infecção com vírus. Registou-se a sobrevivência dos animais e avaliou-se a eficiência do fármaco. Conduziram-se ensaios de controlo positivo (com TAMIFLU®) e de controlo negativo (nenhum fármaco) em estudos paralelos. Os resultados mostravam que, (1) os valores de IC50 da TG21 contra os vírus H5N1 *influenza* aviária em ovos de galinha embrionados eram respectivamente de 15,6, 14,9 e 6,8 mg/mL, quando se tratava 10 vezes a quantidade EID50 de vírus com TG21 durante 30, 60, 120 minutos antes da inoculação, eram de 17,5 e 16,1 mg/mL, respectivamente, quando se tratava 100 vezes a quantidade EID50 de vírus com TG21 durante 30 e 120 minutos antes da inoculação. Os valores de IC50 do TAMIFLU® contra o vírus H5N1 da *influenza* aviária em ovos de galinha embrionados eram respectivamente de 25,1 e de 19,4 mg/mL, quando se incubava 100 vezes a EID50 de vírus com o TAMIFLU® durante 30 e durante 60 minutos antes da inoculação; e (2) a eficiência da TG21 a doses de 40, 20, 10 mg/frango.dia⁻¹ contra a mortalidade induzida em frangos pelo vírus H5N1 da *influenza* aviária era respectivamente de 100 %, 62,5 %, e de 87,5%, no caso de uma dose de infecção viral de 2,5 vezes a dose de infecção LD50, e de 70 %, 80 % e 50 % após infecção com 25 vezes a dose viral LD50, enquanto a eficiência do TAMIFLU® (a 5 mg/frango.dia⁻¹), era de 50 %. Estes resultados sugerem que a cisteamina possui uma actividade antiviral forte contra o vírus H5N1 da gripe aviária, podendo proporcionar uma protecção semelhante ou ainda superior contra o vírus H5N1 da *influenza* aviária do que os fármacos correntemente licenciados contra a *influenza* aviária, tais como o TAMIFLU®.

**Exemplo 3 - Actividade antiviral da Cisteamina
contra o vírus H5N1 da gripe aviária em murganhos**

Materiais e Método

Obteve-se a cisteamina (doravante referida neste documento como "TG21"; incluindo 99 % de cisteamina) junto da Omega Bio-Pharma (H.K.), Limitada. Obteve-se a estirpe WV do vírus H5N1 da gripe aviária, isolando-o de frangos infectados. Utilizou-se o TAMIFLU® (Roche (China) Ltd., Xangai, China) tal como se descreve neste documento.

**Avaliação da dose Letal a 50 % do vírus H5N1 da
influenza aviária em murganhos (mLD50)**

Diluiu-se inicialmente uma solução de reserva da estirpe WV do vírus H5N1 da gripe aviária a 1:5, e depois diluiu-se com PBS numa série de 5 diluições a ¼ (de 1:5 a 1:1.280). Anestesiaram-se murganhos do sexo feminino com seis a oito semanas de idade por injeção intramuscular de 100 µL de uma solução a 1 % de barbiturato de sódio, e em seguida inocularam-se pingando 50 µL de solução diluída da estirpe WV do vírus H5N1 de gripe aviária na cavidade nasal de cada um (n = 10 murganhos para cada uma das diluições). Monitorizaram-se diariamente os animais durante 14 dias e calculou-se o mLD50 com base na morte dos murganhos, recorrendo ao Método de Reed-Muench. Os resultados indicam que a sobrevivência dos murganhos era de 0 % no grupo da diluição do vírus a 1:5, 10 % no grupo da diluição do vírus

a 1:20, 25 % no grupo da diluição do vírus a 1:80, 80 % no grupo da diluição do vírus a 1:320, e 90 % no grupo da diluição do vírus a 1:1.280. O valor de mLD50 para a estirpe WV do vírus H5N1 da gripe aviária era de $10^{-2,1509}/0,05$ mL ou uma diluição de 1:141,5/0,05 mL.

Papel terapêutico da Cisteamina em murganhos infectados com o vírus da gripe aviária

Distribuíram-se cinquenta murganhos do sexo feminino (6-8 semanas de idade) por três grupos de tratamento (T1, T2, e T3), um grupo de controlo negativo (não tratado), e um grupo de controlo positivo (TAMIFLU®), com 10 murganhos em cada grupo. Depois de se anestesiaram por injeção intramuscular de 100 µL de barbiturato de sódio a 1 %, inocularam-se todos os murganhos por via intranasal com 10 vezes a mLD50 do vírus H5N1 da gripe aviária em 50 µL de PBS. Durante a primeira hora após a infecção, trataram-se os animais continuando-se ao longo de 12 dias por administração forçada por via oral com a TG21 a uma dose diária de respectivamente 4,8, 2,4, 1,2 mg por murganho, nos grupos de tratamento T1-T3, administração diária de 0,3 mg de TAMIFLU® por murganho no grupo de controlo positivo e igual volume de PBS no grupo de controlo negativo.

Observaram-se os murganhos duas vezes ao dia durante 14 dias para se encontrarem sinais clínicos de infecção e para ver se sobreviviam. Calculou-se a taxa de

protecção da TG21 contra o vírus H5N1 da gripe aviária e compararam-se as diferenças significativas entre os grupos aplicando o teste do χ quadrado. Por exemplo, a equação para se identificar a taxa de protecção era (%) = (data de morte no grupo de controlo-taxa de morte no grupo em tratamento)/(taxa de morte no grupo de controlo) X 100 %. Os resultados mostraram que a protecção era respectivamente de 50 %, 70 % e 10 % no tratamento do grupo T1 com TG21 (a 4,8 mg/murganho.dia⁻¹), no tratamento do grupo T2 (a 2,4 mg/murganho.dia⁻¹), e no tratamento do grupo T3 (a 1,2 mg/murganho.dia⁻¹); com uma taxa de protecção de 0 % no grupo de controlo negativo e uma taxa de protecção de 60 % no grupo de controlo positivo (a TAMIFLU®). A taxa de protecção da TG21 no grupo T1 (P<0,05), no grupo T2 (P<0,01), e no grupo T3 (P<0,05) diferiam significativamente das taxas observadas no grupo de controlo negativo. Estes resultados indicam que a TG21 tem uma forte actividade antiviral contra o vírus H5N1 da gripe aviária, sendo o fármaco ideal para o tratamento de infecções virais pela *influenza* aviária.

Lisboa, 11 de outubro de 2012

REIVINDICAÇÕES

1. Uma cisteamina, ou um seu sal, para utilização no tratamento de uma infecção viral por *influenza* num sujeito.

2. Uma cisteamina, ou um seu sal, consoante a reivindicação 1, em que a infecção viral seja seleccionada de entre o conjunto constituído pelos vírus da gripe aviária e pelas viroses *influenza* A, B, e C.

3. Uma cisteamina, ou um seu sal, consoante a reivindicação 2, em que o sujeito esteja infectado com pelo menos um subtipo de *influenza* aviária seleccionado de entre o conjunto constituído por H1N1, H1N2, H2N2, H3N2, H3N8, H5N1, H5N2, H5N3, H5N8, H5N9, H7N1, H7N2, H7N3, H7N4, H7N7, H9N2, e H10N7.

4. Uma cisteamina, ou um seu sal, consoante a reivindicação 1, que inclua administrar-se diariamente pelo menos 0,1 mg da cisteamina, ou de um seu sal, ao sujeito.

5. Uma cisteamina, ou um seu sal, consoante a reivindicação 4, que inclua administrar-se diariamente ao sujeito entre 2 mg e 3.000 mg da cisteamina, ou de um seu sal.

6. Uma cisteamina, ou um seu sal, consoante a

reivindicação 1, em que o referido sal de cisteamina seja o cloridrato de cisteamina ou o fosfato de cisteamina.

7. Uma cisteamina, ou um seu sal, consoante a reivindicação 1, em que a referida cisteamina ou o seu sal seja tomada por via oral, parentérica, endovenosa, intramuscular, transdérmica, pela via bucal, por via subcutânea, ou através de supositórios.

8. Uma cisteamina, ou um seu sal, consoante qualquer uma das reivindicações 1 a 7, para utilização na diminuição da severidade, da intensidade, ou da duração das complicações associadas com uma infecção viral por *influenza*.

9. Uma cisteamina, ou um seu sal, consoante qualquer uma das reivindicações 1 a 7, para utilização no tratamento de sintomas associados a uma infecção viral por *influenza*.

10. Uma cisteamina, ou um seu sal, consoante qualquer uma das reivindicações 1 a 7, para utilização na prevenção do desenvolvimento de uma complicação relacionada com uma infecção viral por *influenza*.

11. Uma composição para utilização para evitar uma infecção viral por *influenza*, incluindo uma quantidade eficaz de uma cisteamina, ou de um seu sal, e um fármaco antiviral.

12. A composição consoante a reivindicação 11, em que a infecção viral por *influenza* provenha de um vírus de gripe aviária e em que o fármaco antiviral seja seleccionado de entre o conjunto constituído por ganciclovir, aciclovir, foscarnet, amantadina, rimantadina e oseltamivir.

13. Uma composição contendo uma quantidade eficaz de uma cisteamina, ou de um seu sal, para utilização para evitar uma infecção viral por *influenza* e um material farmacêutico para utilização no tratamento de sintomas associados com uma infecção por *influenza*.

14. A composição consoante a reivindicação 13, em que a infecção viral por *influenza* provenha de um vírus de *influenza* aviária e em que o material farmacêutico seja seleccionado de entre o conjunto constituído por antitússicos, mucolíticos, expectorantes, antipiréticos, analgésicos e descongestionantes nasais.

15. Uma cisteamina, ou um seu sal, e um fármaco antiviral sob a forma de uma preparação para utilização conjunta no tratamento de uma infecção viral por *influenza*.

16. A cisteamina, ou um seu sal, e o fármaco antiviral consoante a reivindicação 15, em que a infecção viral por *influenza* seja seleccionada de entre as provenientes dos vírus definidos em qualquer uma das reivindicações 2 ou 3.

17. A cisteamina, ou um seu sal, e o fármaco antiviral consoante a reivindicação 15 ou a reivindicação 16, incluindo também qualquer uma das características das reivindicações 4 a 7.

Lisboa, 11 de outubro de 2012

Cisteamina - Constituinte do Coenzima A

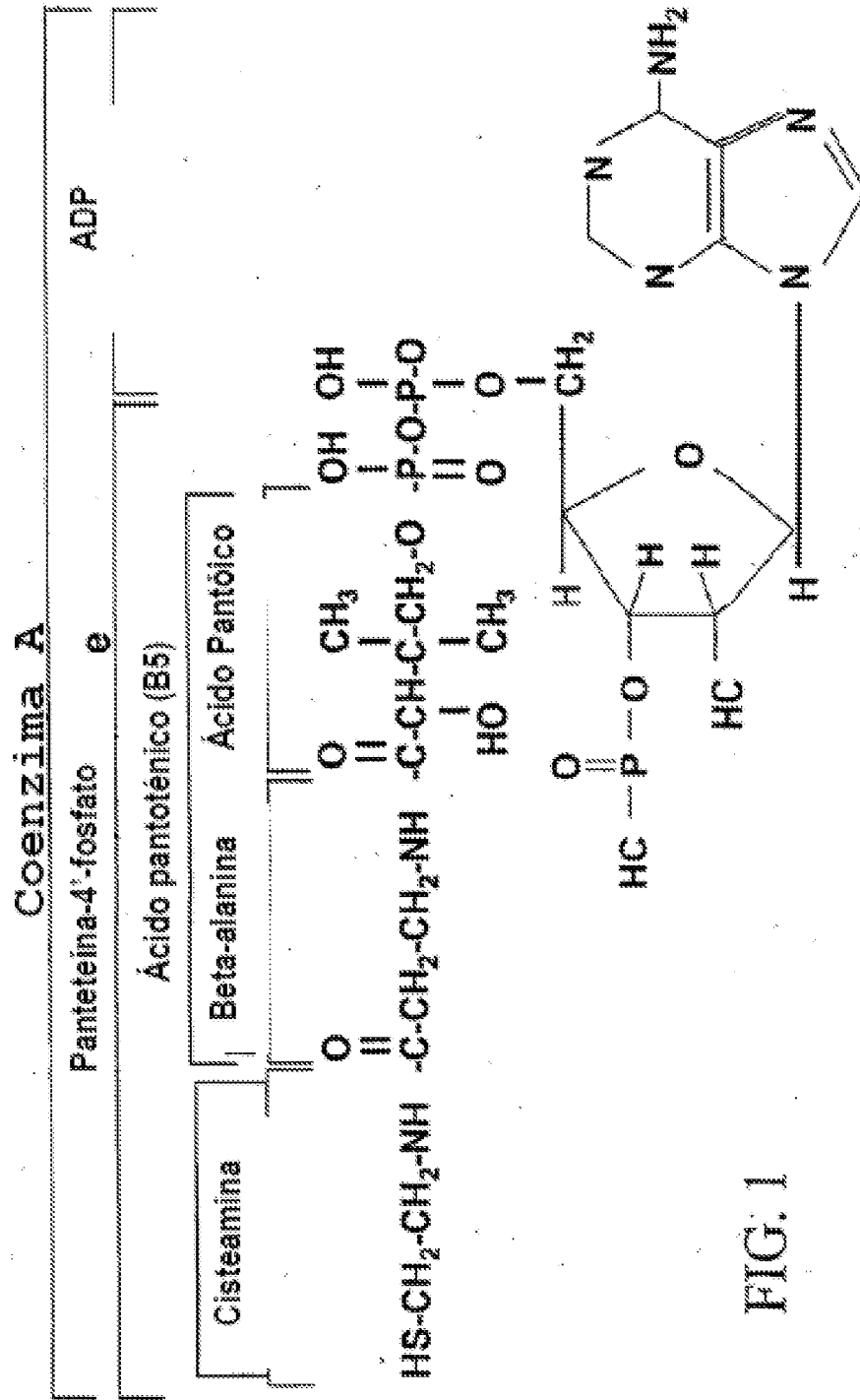


FIG. 1

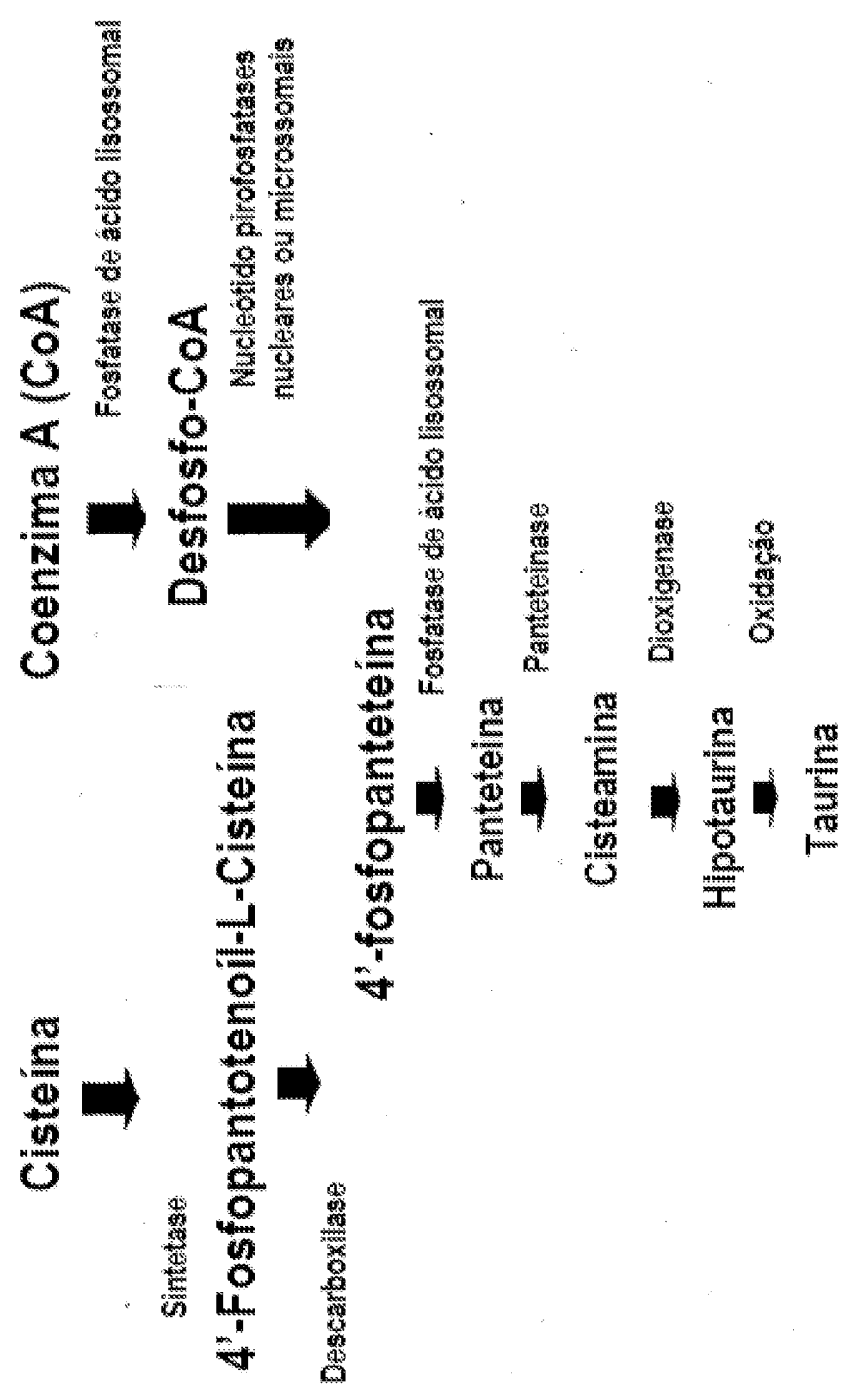


FIG. 2

REFERÊNCIAS CITADAS NA DESCRIÇÃO

Esta lista de referências citadas pelo requerente é apenas para conveniência do leitor. A mesma não faz parte do documento da patente Europeia. Ainda que tenha sido tomado o devido cuidado ao compilar as referências, podem não estar excluídos erros ou omissões e o IEP declina quaisquer responsabilidades a esse respeito.

Documentos de patentes citadas na Descrição

- US 3352912 A
- US 3152180 A
- US 6271373 B
- US 5935957 B
- US 5821243 B
- US 5684024 B
- US 3592934 B
- US 3538160 B
- US 3534084 B
- US 3496228 B
- US 3483254 B
- DE 19817511

Literatura que não é de patentes citada na Descrição

- HARVEY, L. et al. Molecular Cell Biology. W.H. Freeman and Company, 2000
- Fields Virology, 1990, vol. 1, 1075-1152
- Medical Microbiology. University of Texas Medical Branch at Galveston, 1996
- MUIR, P. Treatment of Influenza. Essential CPE. Continuing Education from the Pharmaceutical Society of Australia. Paragon Printers, Australasia, ACT, 2002
- LODISH, H. et al. Molecular Cell Biology. W. H. Freeman and Company, 2000
- Remington's Pharmaceutical Science. MARTINEW. Easton Pennsylvania. Mack Publishing Company, 1995