

(19)



URZĄD  
PATENTOWY  
RZECZYPOSPOLITEJ  
POLSKIEJ

(10) **PL 247149 B1**

(12)

## Opis patentowy

(21) Numer zgłoszenia: **439135**

(22) Data zgłoszenia: **2021.10.05**

(43) Data publikacji o zgłoszeniu: **2023.04.11 BUP 15/2023**

(45) Data publikacji o udzieleniu patentu: **2025.05.19 WUP 20/2025**

(51) MKP:

**A61K 31/10 (2006.01)**

**A61P 31/14 (2006.01)**

- (73) Uprawniony z patentu:  
**UNIwersytet Medyczny w Lublinie,  
Lublin, PL  
Instytut Hematologii i Transfuzjologii,  
Warszawa, PL**
- (72) Twórca(-y) wynalazku:  
**WALDEMAR TURSKI, Lublin, PL  
KONRAD REJDAK, Lublin, PL  
JAN SOBCZYŃSKI, Lublin, PL  
KATARZYNA SMOLIŃSKA, Lublin, PL  
ARTUR WNOROWSKI, Lublin, PL  
EWA POLESZAK, Lublin, PL  
PIOTR PALUSZKIEWICZ, Lublin, PL**
- (74) Pełnomocnik:  
**rzecz. pat. Anna Bełz, Lublin, PL**

(54) Tytuł:

**Zastosowanie dimetylosulfotlenku w praktyce i leczeniu infekcji wywołanych wirusem SARS-CoV-2 i jego wariantami oraz kompozycja farmaceutyczna do stosowania w profilaktyce i leczeniu zakażenia górnych dróg oddechowych wywołanego wirusem SARS-CoV 2 i jego wariantami**

**PL 247149 B1**

## Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest zastosowanie dimetylosulfotlenku w profilaktyce i leczeniu infekcji wywołanych wirusem SARS-CoV-2 i jego wariantami, który stanowić może substancję aktywną do wytwarzania preparatów stosowanych w profilaktyce i leczeniu infekcji wirusem SARS-CoV-2. Ponadto przedmiotem wynalazku jest kompozycja farmaceutyczna do stosowania w profilaktyce i leczeniu zakażenia górnych oddechowych wywołanego wirusem SARS-CoV-2 i jego wariantami. U ssaków nosogardziel pełni kluczową rolę w ekspozycji na patogeny transmitowane w postaci mikrocząstek zawieszonych w powietrzu lub sztucznie wytwarzanej mieszaninie oddechowej. Neutralne pH i relatywnie duża powierzchnia absorpcyjna oraz brak enzymów trawiennych i gruczołów odpowiedzialnych za rozcieńczanie zawartości jamy nosowej wytwarza szczególne warunki do bezpośredniego kontaktu patogenów z komórkami nabłonka błony śluzowej nosogardzieli. Naturalne bariery fizyczne obejmują warstwę śluzu pokrywającego błonę śluzową obejmującą mikrokosmki (cilli), których ruchy umożliwiają ciągłe usuwanie śluzu z nosogardzieli i eliminację zaadsorbowanych mikrocząstek. Dodatkowo śluz stanowi środowisko dla licznych zakończeń nerwowych opuszki węchowej oraz zakończeń nerwów odpowiedzialnych za percepcję smaku. Przenikanie patogenów przez barierę śluzową umożliwia bezpośredni dostęp do zakończeń nerwowych oraz do komórek nabłonka błony śluzowej. Depozyty komórek układu chłonnego znajdujące się pod nabłonkiem błony śluzowej tworzą złożony system odpowiedzi komórkowej na czynniki patogenne, które przekroczyły warstwę powierzchniowego śluzu i nazywane są NALT (ang. nasal associated lymphoid tissue). Zmiany składu chemicznego śluzu lub zaburzenia jego wytwarzania stanowią ważny czynnik ułatwiający transmisję patogenów do komórek nabłonka oraz zakończeń nerwowych. Infekcje wirusowe przenoszone drogą kropelkową polegają na transmisji nieaktywnych wirusów przez śluz pokrywający nabłonek umożliwiając infekcję komórek nabłonka błony śluzowej i w wybranych przypadkach przenoszenie patogenów wzdłuż włókien nerwowych do komórek centralnego układu nerwowego. Zaburzenie węchu i/lub smaku łącznie z jego całkowitą utratą i dysfunkcja centralnego układu nerwowego o różnym spektrum klinicznym są powszechnie występującym następstwem infekcji wirusowych z wrotami zakażenia zlokalizowanymi w nosogardzieli, w tym spowodowane wirusem SARS-CoV2 i jego wariantami. W infekcji SARS-CoV-2 jednym z pierwszych charakterystycznych objawów jest utrata odczuwania zapachów i smaku. Infekcji SARS-CoV-2 często towarzyszą objawy ośrodkowe, które niejednokrotnie utrzymują się znacznie dłużej niż trwa infekcja wirusowa. Te zjawiska potwierdzają kluczową rolę jamy nosowo-gardłowej, jamy ustnej, nosogardzieli i gardła w infekcji wirusem SARS-CoV-2 i jego wariantami. Dlatego zapobieganie infekcji w jamie nosowej, nosogardzieli i gardle, czyli we wrotach wnikania drobnoustrojów chorobotwórczych do organizmu ma kluczowe znaczenie w procesie przeciwdziałania rozwojowi procesów patologicznych. Dane z piśmiennictwa wskazują, że podczas infekcji SARS-CoV-2 (ang. Severe acute respiratory syndrome Coronavirus 2) jednym z kluczowych elementów patofizjologicznych towarzyszących rozwojowi Covid-19 jest aktywacja receptora dla węglowodorów arylowych (AhR, ang. aryl hydrocarbon receptor) (Liu i wsp., 2020; Giovannoni i wsp., 2021). Dane z piśmiennictwa wskazują, że aktywacja AhR może nastąpić albo wskutek zwiększenia ekspresji i aktywności enzymu IDO1 (ang. indoleamine 2,3-dioxygenase 1) albo ekspresji i aktywności enzymu TIPARP (ang. TCDD-inducible poly [ADP-ribose] polymerase) (Grunewald i wsp., 2020; Turski i wsp., 2020). Aktywacja AhR przez TIPARP może przebiegać niezależnie od ścieżki aktywacji zależnej od IDO (Grunewald i wsp., 2020). W oparciu o powyższe można wskazać, że AhR, IDO1 oraz TIPARP stanowią potencjalne cele terapeutyczne istotne z punktu widzenia zwalczania szerzenia się epidemii Covid-19 wywołanej przez SARS-CoV-2. Aktywacja IDO1 następuje m.in. pod wpływem interleukiny IL-6. Aktywacja IDO1 prowadzi do zwiększenia przemiany tryptofanu do kynureniny. Ten proces zachodzi wewnątrzkomórkowo, dlatego o intensywności jego przebiegu decyduje nie tylko aktywność enzymu IDO1, ale także ilość dostępnego wewnątrzkomórkowo tryptofanu. Transport tryptofanu przez bariery biologiczne następuje dzięki transporterowi dużych aminokwasów LAT1 (ang. L-type / large neutral amino acid transporter 1; SLC7A5). Ze względu na fakt, iż do aktywacji AhR i rozwoju procesów patofizjologicznych zależnych od AhR może dochodzić niezależnie za pośrednictwem różnych ścieżek postanowiono znaleźć substancje, które działają równocześnie na AhR, IDO i TIPARP, a także na LAT1 i IL6, i powodują zmniejszenie ich ekspresji i/lub aktywności. Celem poszukiwań było znalezienie środków do skutecznego przeciwdziałania szerzeniu się epidemii Covid-19 działających równocześnie na kilka kluczowych mechanizmów aktywowanych przez SARS-CoV-2. Poszukiwanie substancji o zadanym profilu aktywności przeprowadzono na drodze eksploracji zbiorów profili ekspresji genów dostępnych z poziomu narzędzia Pharmaco Atlas programu BaseSpace Correlation

Engine (Kupershmidt i wsp., 2010). Po zakończeniu eksploracji danych nieoczekiwanie stwierdzono, że jedynie dimetylosulfotlenek powoduje zmniejszenie ekspresji wszystkich 5 obranych celów molekularnych tj. AhR, IDO, TIPARP, LAT1 i IL-6. Znane jest działanie przeciwwirusowe dimetylosulfotlenku. W badaniach *in vitro* przeprowadzonych na liniach komórkowych HFF (ang. human foreskin fibroblasts) i linii komórkowej Vero wykazano, że dimetylosulfotlenek w stężeniach 0,7–2% zmniejsza zdolność infekcji wirusa opryszczki HSV (ang. Herpes Simplex Virus). Jako mechanizm działania wskazano (a) zmniejszenie zdolności infekcji przez virion, (b) hamowanie replikacji DNA wirusa, (c) zmniejszenie poziomu transkrypcji genów wirusa HSV (Aguilar i wsp., 2002). W badaniach *in vitro* przeprowadzonych na liniach komórek MDCK (ang. Madin-Darby canine kidney) i L wykazano, że dimetylosulfotlenek w zależności od stężenia stymuluje albo hamuje wirulentność wirusów. Dimetylosulfotlenek w stężeniu do 4% nasila wirulentność wirusa FVP (ang. Influenza virus strain A/fowl plague/Rostock/34; H7N1), NDV (ang. Newcastle disease virus, strain Italien) i SFV (ang. Semliki Forest virus, strain Osterrieth), a w wyższych do 10% hamuje wirulentność tych wirusów (Scholtissek i Muller, 1988). Nie ma danych o wpływie dimetylosulfotlenku na wirus SARS-CoV-2. Z publikacji Ali Hosseinzadeh et al.: "Application of nasal spray containing dimethyl sulfoxide (DMSO) and ethanol during the COVID-19 pandemic may protect healthcare workers: A randomized controlled trials"; medRxiv 2021.07.06.21259749 znane jest stosowanie dimetylosulfotlenku (DMSO) i etanolu w aerozolu, które może chronić pracowników służby zdrowia podczas pandemii COVID-19.

Nieoczekiwanie okazało się, że dimetylosulfotlenek może mieć zastosowanie w profilaktyce i leczeniu następstw infekcji wirusem SARS-CoV-2.

Wynalazek rozwiązuje zagadnienie nowego zastosowania dimetylosulfotlenku oraz kompozycji z dimetylosulfotlenkiem w profilaktyce i leczeniu następstw infekcji wirusem SARS-CoV-2. Ponadto wynalazek rozwiązuje zagadnienie zastosowania dimetylosulfotlenku do wytwarzania preparatów do profilaktyki i leczenia następstw infekcji wirusem SARS-CoV-2 zwłaszcza stosowanych do jamy ustnej w tym gardła i nosa. Dodatkowo wykazano, że dimetylosulfotlenek zmniejsza ekspresję transportera aminokwasów LAT1 i ekspresję cytokiny prozapalnej IL-6.

Istotą wynalazku jest zastosowanie dimetylosulfotlenku w profilaktyce i leczeniu infekcji wywołanych SARS-CoV-2 i jego wariantami w szczególności w profilaktyce wystąpienia neurotropowych następstw infekcji wirusem SARS-CoV-2 i jego wariantami.

Istotą wynalazku jest również kompozycja farmaceutyczna zawierająca jako substancję czynną dimetylosulfotlenek (DMSO) do zastosowania w profilaktyce i leczeniu zakażenia górnych dróg oddechowych wywołanego wirusem SARS-CoV-2 i jego wariantami, gdzie DMSO występuje w ilości od 20% do 50% objętościowych. Kompozycja korzystnie w postaci roztworu wodnego do gardła. Kompozycja korzystnie w postaci roztworu wodnego do nebulizacji. Kompozycja korzystnie w postaci roztworu wodnego do nosa. Kompozycja korzystnie w postaci spreju do nosa. Kompozycja korzystnie w postaci półstałej, korzystnie w postaci żelu do nosa.

Zaletą wynalazku jest nowe zastosowanie dimetylosulfotlenku w profilaktyce i leczeniu infekcji wywołanych SARS-CoV-2 i jego wariantami oraz kompozycji z dimetylosulfotlenkiem w profilaktyce i leczeniu następstw infekcji wirusem SARS-CoV-2. Dimetylosulfotlenek może być stosowany do wytwarzania preparatów do profilaktyki i leczenia następstw infekcji wirusem SARS-CoV-2 zwłaszcza stosowanych do jamy ustnej w tym gardła i nosa. W związku z falami zakażeń wywołanych wirusem SARS-CoV-2 i niewielką gamą środków leczniczych stwierdzono, że dimetylosulfotlenek może stanowić skuteczny środek w profilaktyce i leczeniu SARS-CoV-2 i jego wariantów oraz następstw infekcji wywołanych wirusem SARS-CoV-2 i jego wariantami.

Wyniki badań potwierdzających zastosowanie dimetylosulfotlenku w profilaktyce i leczeniu następstw infekcji wirusem SARS-CoV-2 przedstawiono w poniższych przykładach.

#### **Przykład 1**

Na podstawie przeprowadzonych badań omówiono zagadnienie równoczesnej aktywacji AhR, IDO, TPARP w SARS-CoV-2

Do eksploracji danych (ang. data mining) dotyczących wpływu infekcji wirusem SARS-CoV-2 na poziom ekspresji genów kodujących białka AhR, IDO oraz TIPARP wykorzystano bazę danych eksperymentów mikromacierzowych i RNAseq pakietu Genevestigator (Hruz et al., 2008). Za pomocą narzędzia Perturbations wydobyto wyniki doświadczeń dotyczących zmian w poziomie ekspresji genów dla AhR, IDO oraz TIPARP w odpowiedzi na infekcję wirusem SARS-CoV-2 (próba eksperymentalna) w porównaniu do komórek niezainfekowanych (ang. uninfected) lub poddanych pozorowanej (ang. mock) infekcji (próba kontrola). Poziom ekspresji genów dla próby eksperymentalnej oraz kontrolnej

wyrażono jako logarytm o podstawie 2 ( $\log_2$ ) z liczby transkryptów na milion powiększonej o jeden (TPM + 1; ang. transcripts per million + 1). Różnica tak wyrażonych poziomów ekspresji dla próby eksperymentalnej w stosunku do próby kontrolnej ( $\log_2\text{ratio}$ ) została przyjęta jako wartość opisująca zmianę poziomu ekspresji badanych genów.

W bazie programu Genevestigator zidentyfikowano 38 eksperymentów RNAseq, w których badano wpływ infekcji SARS-CoV-2 na poziom ekspresji genów w porównaniu do kontroli. Kontrolę stanowił materiał niezainfekowany (ang. uninfected) lub poddany pozorowanej infekcji (ang. mock infected). Badania prowadzono w następujących modelach badawczych:

- Komórki Calu-3
- Komórki A549
- Kardiomiocyty
- Organoidy komórek pęcherzykowych typu 2
- Komórki CaCo-2
- Organoidy okrężnicy
- Organoidy płuc
- Organoidy żołądka płodowego
- Organoidy żołądka
- Komórki NCI-H1299
- Komórki NHBE
- Organoidy spłotu naczyńkowego
- Rogówka
- Komórki podobne do endokrynych komórek trzustki
- Pierwotne komórki nabłonka dróg oddechowych
- Twardówka
- Rąbek rogówki (limbus)
- Fibroblasty serca
- Organoidy wątroby
- Pluripotencjalne komórki macierzyste WTC-11
- Komórki śródbłonka

Spośród tych eksperymentów istotny statystycznie ( $p\text{-value} < 0,01$ ) wzrost poziomu ekspresji (ang. upregulation) genu dla TIPARP zaobserwowano w 13 przypadkach, a istotny statystycznie spadek poziomu ekspresji (ang. downregulation) w 1 przypadku. Dla AhR zaobserwowano 8 eksperymentów ze statystycznie istotnym wzrostem poziomu ekspresji, przy jednoczesnym braku eksperymentów z spadkiem poziomu ekspresji. Dla IDO odnotowano 7 eksperymentów ze wzrostem poziomu ekspresji przy braku eksperymentów ze spadkiem poziomu ekspresji. Na podstawie dostępnych danych określono wpływ infekcji komórek nabłonkowych płuc linii Calu-3 wirusem SARS-CoV-2 na zmianę ekspresji genów AHR, IDO1 oraz TIPARP w czasie. Wyekstrahowane dane wskazują, że SARS-CoV-2 prowadzi do zależnego od czasu wzrostu poziomu ekspresji genów AHR, IDO1 oraz TIPARP, które kodują odpowiednio AhR, IDO oraz TIPARP. Wyniki zawiera tabela 1.

Tabela 1. Wpływ infekcji wirusem SARS-CoV-2 na ekspresję genów dla AhR, IDO oraz TIPARP.

Ekspresja	Czas po infekcji	
	12 godz.	24 godz.
AhR	1,24	0,46
IDO	3,65	5,29
TIPARP	3,24	2,39

Wyniki wyrażono jako średnie  $\log_2\text{ratio}$ .

Infekcja SARS-CoV-2 powoduje po 12 godzinach wzrost ekspresji wszystkich 3 badanych genów, najwyższy dla IDO ( $\log_2\text{ratio} = 3,65$ ). Wzrost poziomu ekspresji dla TIPARP wyrażony jako  $\log_2\text{ratio}$  wyniósł 3,24, zaś dla AhR 1,24. Po 24 godzinach od infekcji nadal utrzymuje się podwyższony poziom ekspresji tych genów; najwyższy dla IDO ( $\log_2\text{ratio} = 5,29$ ), mniejszy dla TIPARP ( $\log_2\text{ratio} = 2,39$ ) oraz

niewielki dla AhR ( $\log_2\text{ratio} = 0,46$ ). Na podstawie powyższego stwierdzono, że w infekcji SARS-CoV-2 następuje wzrost ekspresji genów kodujących AhR, IDO i TIPARP. Zwraca uwagę dynamika zmian, szczególnie po 12 godzinach, co wskazuje, że profilaktyczne, odpowiednio wczesne zastosowanie leków działających na 3 geny kodujące AhR, IDO i TIPARP może być skuteczniejsze niż leczenie rozwiniętej choroby.

### Przykład 2

Substancje zmniejszające ekspresję 3 genów kodujących AhR, IDO1, TIPARP

Eksplozację danych (ang. data mining) z zakresu farmakologii i ekspresji genów przeprowadzono w oparciu o bazę danych programu BaseSpace Correlation Engine (Kupersmidt i wsp., 2010) oraz dostępne w tym programie narzędzie Pharmaco Atlas. Przyjęte w programie wartości progowe mające na celu identyfikację związków chemicznych wpływających na ekspresję AhR (gen: AHR), IDO (gen: IDO1) oraz TIPARP (gen: TIPARP) w sposób istotny statystycznie przedstawiały się następująco: (a) maksymalna wartość p: 0,05; (b) minimalna wartość bezwzględnej krotności zmiany ekspresji genów: 1,2. W oparciu o przyjęte wartości progowe dla każdego z badanych genów otrzymano listę substancji chemicznych wpływających w istotny sposób na jego ekspresję. Z list odrzucono związki, które w istotny sposób zwiększały poziom ekspresji badanych genów. Pozostawiono jedynie związki obniżające w sposób istotny statystycznie ekspresję każdego z genów. Zidentyfikowano: (a) 190 substancji obniżających ekspresję AhR, (b) 108 substancji obniżających ekspresję IDO, (c) 191 substancji obniżających ekspresję TIPARP. Wśród zidentyfikowanych substancji znaleziono jedynie dwie substancje, które hamują ekspresję wszystkich trzech badanych genów, które wskazano na rysunku, gdzie na Fig. 1 Diagram Venna przedstawia zidentyfikowane substancje obniżające w sposób istotny statystycznie poziom ekspresji genów AHR, IDO1 oraz TIPARP. Zidentyfikowanymi substancjami mającymi jednocześnie ujemny wpływ na poziom AHR, IDO1 oraz TIPARP są dimetylosulfotlenek i SB-203580 ( $C_{21}H_{16}FN_3OS$ ; CAS 152121-47-6).

### Przykład 3

Substancje zmniejszające ekspresję 5 genów AhR, IDO, TIPARP, LAT1, IL-6

Eksplozację danych przeprowadzono tak jak opisano w Przykładzie 2. W wyniku badań zidentyfikowano tylko jedną substancję, która zmniejsza ekspresję wszystkich pięciu badanych genów. Jest nią dimetylosulfotlenek. Okazało się, że substancja SB-203580 powoduje zwiększenie ekspresji LAT1 (siła oddziaływania 29; liczba badań 3) i zwiększenie ekspresji IL-6 (siła oddziaływania 3; liczba badań 3). Szczegółowe parametry oddziaływania dimetylosulfotlenku zostały umieszczone w tabeli 2.

Tabela 2. Substancje powodujące zmniejszenie ekspresji pięciu genów AHR, IDO, TIPARP, LAT1 i IL-6

Substancja	Względna miara siły oddziaływania (0 – 100)	Kierunek oddziaływania	Liczba badań	Gen
Dimetylosulfotlenek	28	obniżenie poziomu ekspresji	3	AHR
	18	obniżenie poziomu ekspresji	1	IDO1
	16	obniżenie poziomu ekspresji	2	TIPARP
	26	obniżenie poziomu ekspresji	5	LAT1
	31	obniżenie poziomu ekspresji	3	IL-6

Stwierdzono, że dimetylosulfotlenek cechuje się wyjątkową właściwością zmniejszania ekspresji równocześnie 5 genów AHR, IDO, TIPARP, LAT1 i IL-6.

### Przykład 4

Mechanizm działania dimetylosulfotlenku

Dimetylosulfotlenek ( $C_2H_6OS$ ; CAS 67-68-5) jest związkiem organicznym z grupy sulfotlenków. Ze względu na polarność miesza się z wodą i jest używany jako rozpuszczalnik. W medycynie jest

stosowany miejscowo do pęcherza moczowego w zapaleniu pęcherza moczowego. W medycynie weterynaryjnej jest stosowany zewnętrznie do smarowania okolic po urazach mechanicznych w celu złagodzenia bólu. Dimetylosulfotlenek jest używany jako rozpuszczalnik leków stosowanych zewnętrznie i ogólnoustrojowo. Ułatwia dotkankowy transport substancji i jest stosowany jako składnik kosmetyków. Ponadto dimetylosulfotlenek jest używany do przechowywania komórek i tkanek w głębokim zamrożeniu ze względu na działanie krioprotekcyjne (<https://www.drugs.com/vet/domoso-solution.html>).

Tabela 3. Produkty handlowe zawierające dimetylosulfotlenek dopuszczone do stosowania jako lek

Nazwa/ producent	Postać	Zastosowanie	Referencje
Dimethyl Sulfoxide Irrigation USP / Sandoz Canada Incorporated	95% roztwór	do płukania pęcherza moczowego	<a href="http://ftp.uspbpep.com/v29240/usp29nf24s0_m26680.html">http://ftp.uspbpep.com/v29240/usp29nf24s0_m26680.html</a>
Domoso / Zoetis, USA	90% roztwór	do stosowania zewnętrznego na skórę zwierząt w sprayu w ostrym bólu pourazowym	<a href="https://www.drugs.com/vet/domoso-solution.html">https://www.drugs.com/vet/domoso-solution.html</a>
Kemsol / Axxess Pharma Inc.	70% roztwór	do stosowania zewnętrznego	<a href="https://go.drugbank.com/drugs/DB01093">https://go.drugbank.com/drugs/DB01093</a>
Rimso-50 / Mylan Institutional LLC, Rockford, IL 61103, Irlandia	50% roztwór	do płukania pęcherza moczowego w śródmiąższowym zapaleniu pęcherza moczowego	<a href="https://www.rxlist.com/rimso-50-drug.htm#indications">https://www.rxlist.com/rimso-50-drug.htm#indications</a>

Dimetylosulfotlenek jest oficjalnie zatwierdzony przez amerykańską Agencję Żywności i Leków (FDA) do leczenia bólu w przebiegu śródmiąższowego zapalenia pęcherza moczowego (Tabela; Rawls i wsp. *Neurourol Urodyn.* 2017). Uważa się, że wywiera korzystne działanie w bólach kończyn spowodowanych urazem i w związku z tym są produkowane leki do stosowania w weterynarii (Tabela 3). Dimetylosulfotlenek jest stosowany zewnętrznie na skórę do łagodzenia toksycznych następstw wyznaczenia leków przeciwnowotworowych podczas ich dożylnego podawania. Jest wiele opracowań naukowych wskazujących na korzystne działanie dimetylosulfotlenku w różnych stanach chorobowych jednak wiele z nich nie znajduje potwierdzenia w innych badaniach lub wyniki badań są niewystarczające do sformułowania jednoznacznych wniosków. Molekularny mechanizm działania dimetylosulfotlenku nie jest poznany. Najczęściej wskazywane jest działanie antyoksydacyjne i przeciwzapalne oraz immunomodulujące (Huang i wsp. *Immunobiology.* 2020). Działania niepożądane dimetylosulfotlenku są różnie oceniane, co wydaje się zależeć od zastosowanej dawki lub stężenia oraz czasu stosowania. Uznaje się, że przy stosowaniu dimetylosulfotlenku w umiarkowanych dawkach działania niepożądane są umiarkowane i przejściowe (Kollerup Madsen i wsp. 2018).

#### Przykład 5

Zastosowanie dimetylosulfotlenku w leczeniu i profilaktyce zakażeń wywołanych Covid-19

Zastosowanie wodnego roztworu dimetylosulfotlenku u pacjentów z objawami SARS-CoV-2.

Przypadek 1

Wodny roztwór dimetylosulfotlenku zastosowano u Pacjenta 1 (kobieta w wieku 29 lat) dotychczas zdrowego, nie przyjmującego dotąd żadnych leków. Wywiad rodzinny negatywny. Po stwierdzeniu u pacjenta całkowitej utraty węchu oraz częściowej utraty smaku, wykonano test PCR (następnego dnia), który potwierdził zakażenie wirusem SARS-CoV-2. W przebiegu kolejnych dni wystąpiły inne objawy: znaczne osłabienie organizmu utrudniające codzienne funkcjonowanie, nasilone dolegliwości bólowe mięśni całego ciała oraz kręgosłupa, szczególnie w odcinku lędźwiowo-krzyżowym. W trakcie trwania choroby nie zanotowano wzrostu temperatury ciała ani spadku SpO<sub>2</sub>. Po 3 dniach od pierwszych objawów – w pierwszym dniu po wykonaniu testu PCR Pacjent 1 rozpoczęła stosowanie wodnego roztworu dimetylosulfotlenku o stężeniu 50% (na bazie wody destylowanej), aplikując go donosowo 3–4 x dziennie poprzez smarowanie ścian jamy nosowej. Poza tym Pacjent 1 nie stosował innych leków. Po

5 pierwszych aplikacjach Pacjent 1 poczuł częściowy powrót węchu i smaku aż do całkowitego ustąpienia objawów po 7 dniach. Pozostałe zgłaszane objawy, tj. znaczne osłabienie, utrzymywały się przez około 20 dni. Pacjent 1 nie stosował innych leków w przebiegu choroby.

#### Przypadek 2

Wodny roztwór dimetylosulfotlenku o stężeniu 50% (na bazie wody destylowanej) zastosowano u Pacjenta 2 (kobieta, wiek 20 lat) bez innych zdiagnozowanych chorób, nie przyjmującej dotąd żadnych leków. Objawy ogólnoustrojowe: ciepota ciała 37,7°C, normalne samopoczucie, lekkie bóle głowy, uciążliwy kaszel. Ponadto stwierdzono utratę węchu i smaku. Po 24 godzinach wykonano test PCR, który potwierdził zakażenie wirusem SARS-CoV-2. Trzy dni po przeprowadzeniu testu rozpoczęto podawanie dimetylosulfotlenku. Roztwór dimetylosulfotlenku wprowadzano obustronnie do jamy nosowej w kroplach po 1–2 krople. Zabieg wykonywano 3–4 razy dziennie przez 5 kolejnych dni. W 2 dniu stosowania dimetylosulfotlenku Pacjent 2 stwierdził poprawę polegającą na stopniowym powrocie odczucia węchu i smaku. Ponadto chora nie zgłaszała działań niepożądanych poza podrażnieniem skóry wokół otworów nosowych. Kaszel utrzymywał się przez 5–7 dni. Brak innych objawów chorobowych.

#### Przypadek 3

Wodny roztwór dimetylosulfotlenku zastosowano u Pacjenta 3 profilaktycznie (kobieta, wiek lat 62), dotychczas bez innych aktywnych chorób, ciepota ciała 36,7°C, bez objawów chorobowych. Pacjent 3 pozostawał w kontakcie z chorymi na Covid-19 z uwagami na miejsce pracy (szpital). Dimetylosulfotlenek rozpuszczono w wodzie destylowanej w stosunku objętościowym 2:8 (roztwór 20%). Roztwór dimetylosulfotlenku wprowadzano obustronnie do jamy nosowej, dokładnie zwilżając ściany jamy nosowej. Zabieg wykonywano 2 razy dziennie w dniu kiedy Pacjent 3 pozostawał w bezpośrednim kontakcie z chorymi na Covid-19. Pacjent 3 stosował ogólne zasady profilaktyki przeciwwirusowej i środki ochrony, takie jak maseczka i przyłbica. Pacjent 3 stosował dimetylosulfotlenek przez okres 6 miesięcy w dniach pozostawania w kontakcie z chorymi na Covid-19 z częstotliwością ok. 1 x w tygodniu. W okresie stosowania dimetylosulfotlenku u Pacjenta 3 nie doszło do wystąpienia objawów infekcji SARS-CoV-2, a w szczególności do utraty węchu lub smaku. Pacjent 3 nie zgłaszał działań niepożądanych. Nie przyjmował innych leków.

#### Przykład 6

Kompozycja zawierająca dimetylosulfotlenek do stosowania do jamy nosowej w postaci żelu

Składniki żelu

Faza	Składnik	Nr CAS	Zawartość
A	Dimetylosulfotlenek	67-68-5	50%
	Glicerol bezwodny	56-81-5	3%
	Glikol propylenowy	57-55-6	2%
	Carbopol Ultrez 10	195739-91-4	0,5%
	Woda	7732-18-5	35,65%
B	Poliwinylopirolidon k90	9003-39-8	5%
	Pantenol	81-13-0	1%
C	Trójetanoloamina	102-71-6	0,75%
D	Twecn 20	9005-64-5	1%
	Olejek miętowy	8006-90-4	0,1%
	Mieszanka konserwantów Fenoksytanol + Etyloheksylogliceryna	122-99-6 i 70445-33-9	1%

Kompozycję w postaci żelu otrzymano w następujący sposób:

W naczyniu wymieszano składniki fazy A z tabeli za pomocą mieszadła odgórnego wyposażonego w mieszadło typu dissolver. Dodano składniki fazy B i wymieszano. Potem dodano trójetanolaminę (C) i wymieszano do uzyskania jednolicie zagęszczonego żelu. Następnie dodano składniki fazy D i całość wymieszano. Następnie dokonano oceny otrzymanej kompozycji:

Preparat ma postać żelu jest bezbarwny, przezroczysty, i jednorodny.

Badanie przeprowadzono za pomocą wiskozymetru wibracyjnego, pH-metru elektronicznego, densytometru oscylacyjnego, pH = 7,4, gęstość = 1,094 g/ml, lepkość kinematyczna = 4 510 mPas. Uzyskano podstawowe właściwości preparatu charakterystyczne dla podania donosowego.

Dla oceny reologicznej badanie przeprowadzono w reometrze rotacyjnym typu Searle'a.

Przeprowadzono test składający się z trzech etapów:

mieszanie początkowe

mieszanie ze wzrastającą szybkością ścinania od wartości 0,1/s do wartości 300/s

mieszanie z malejącą szybkością ścinania od wartości 300/s do wartości 0,1/s.

Na rysunku na Fig. 2 przedstawiono wykres naprężenia ścinającego w funkcji szybkości ścinania.

Na fig. 3 przedstawiono wykres lepkości w funkcji szybkości ścinania.

Parametry płynięcia wg. Modelu Herschel-Bulkley:

$\tau_0 = 24\,262$  Pa;  $b = 78,557$ ;  $p = 0,45884$

Wykazano, że żel wykazuje płynięcie pseudoplastyczne, granica płynięcia niewielka a lepkość niska.

Następnie dokonano oceny rozprzestrzenialności:

Badanie przeprowadzono za pomocą ekstensometru manualnego z wykorzystaniem odważników 200 g i tarczy z podziałką 1 mm.

Na Fig. 4 na rysunku przedstawiono powierzchnię rozprzestrzenienia żelu w funkcji przyłożonego nacisku (N).

Wykazano, że rozprzestrzenialność preparatu jest wysoka.

Następnie dokonano oceny siły wyciskania z pojemnika.

Badanie przeprowadzono za pomocą teksturometru (test zginania) mierząc siłę na dystansie 50 mm (wyciskanie z tubki przez rolki) lub 10 mm (wyciskanie z tubki w teście trójpunktowego zginania) lub 20 mm (wyciskanie z pojemnika) z szybkością trawersy 1 cm/min.

Parametry testów wyciskania preparatu z opakowań farmaceutycznych

Rodzaj testu	Siła (N)		Energia (J)
	Maksymalna	Średnia	
Wyciskanie z tubki 20 ml – test 3-punktowego zginania	18,5072	13,5757	0,13572
Wyciskanie z tubki 20 ml – przez rolki	12,2059	9,31304	0,46553
Wyciskanie z pojemnika 50 ml	22,4117	20,2672	0,40528

Oceniono iż siła wyciskania z opakowań jest niewielka, najniższa dla tubki, zaś rozkład siły jest równomierny.

Dokonana została także ocena poślizgu.

Badanie przeprowadzono za pomocą teksturometru (test rozciągania) używając płytek pleksiglasowych o wymiarach 2,5x2,5 cm mierząc siłę na dystansie 40 mm z szybkością trawersy 1 cm/min.

Parametry testu poślizgu preparatu

Wartość	Średnia	Odchylenie standardowe	N
Średni współczynnik statyczny	0,03694	0,00051	3
Średni współczynnik dynamiczny	0,02861	0,00188	3
Średnia siła średnia poślizgu	0,05613 N	0,00369	3
Średnia siła maksymalna poślizgu	0,07245 N	0,001	3

Oceniono, iż siła poślizgu 1 g preparatu jest niska, a komponent statyczny niski.

#### **Przykład 7**

Kompozycja zawierająca dimetylosulfotlenek w postaci spreju do nosa

Składniki spreju:

Składnik	Nr CAS	Zawartość
Dimetylosulfotlenek	67-68-5	20,00 %
Hydroksypropylo metyloceluloza	9004-65-3	0,1 %
Chlorek benzalkoniowy	8001-54-5	0,01 %
Sodu wersenian dwuwodny	6381-92-6	0,05 %
Sodu wodorofosforan siedmiowodny	7782-85-6	0,20 %
Sodu diwodorofosforan jednowodny	10049-21-5	0,64 %
Woda	7732-18-5	79,00 %

Kompozycję otrzymano w następujący sposób.

W naczyniu rozpuszczono fosforany oraz wersenian sodowy w wodzie za pomocą mieszadła odgórnego wyposażonego w mieszadło łopatkowe. Płyn mieszano do rozpuszczenia substancji stałych. Następnie dodano hydroksypropylo metylocelulozę, chlorek benzalkoniowy oraz dimetylosulfotlenek i wymieszano. Płyn przeniesiono do butelek z atomizerem o objętości 30 ml. Następnie dokonano oceny produktu, gdzie ocena wizualna wykazała, iż kompozycja jest bezbarwnym, przezroczystym i jednorodnym płynem.

Otrzymany płyn ma podstawowe parametry:

Badanie przeprowadzono za pomocą wiskozymetru wibracyjnego, pH-metru elektronicznego, densytometru oscylacyjnego pH = 6,0, gęstość = 1,03 g/ml, zaś lepkość kinematyczna = 2,57 mPas.

Oceniono, iż uzyskano podstawowe właściwości preparatu charakterystyczne dla spreju do nosa.

#### **Przykład 8**

Kompozycja zawierająca dimetylosulfotlenek w postaci płynu do płukania nosa

Składniki płynu:

Składnik	Nr CAS	Zawartość
Dimetylosulfotlenek	67-68-5	20,00 %
Chlorek benzalkoniowy	8001-54-5	0,01 %
Woda	7732-18-5	79,99 %

Kompozycję otrzymano w następujący sposób: wymieszano składniki w odpowiednim zbiorniku ze stali nierdzewnej i mieszano intensywnie, aż do uzyskania klarownego roztworu. Po czym sączono mieszaninę używając wyłącznie rurek polietylenowych, filtra klarującego wielkości porów 0,45 µm. Płyn przeniesiono do wyjąłowionego zbiornika, stanowiącego zbiornik pomocniczy. Napełniono plastikowe butelki z aplikatorem donosowym o pojemności 25 ml, stosując technologię blow-fill-seal, przy czym nie stosowano autoklawowania. Następnie dokonano oceny wizualnej kompozycji, na podstawie której stwierdzono, iż jest bezbarwnym, przezroczystym i jednorodnym płynem. Kompozycja posiada podstawowe parametry: Badanie przeprowadzono za pomocą wiskozymetru wibracyjnego, pH-metru elektronicznego, densytometru oscylacyjnego pH = 7, gęstość = 1,02 g/ml, lepkość kinematyczna = 1,2 mPas.

Oceniono, iż uzyskano podstawowe właściwości preparatu charakterystyczne dla płynu do płukania nosa.

#### **Przykład 9**

Kompozycja zawierająca dimetylosulfotlenek w postaci płynu do płukania jamy ustnej

Składniki płynu:

Składnik	Nr CAS	Zawartość
Dimetylosulfotlenek	67-68-5	20,00 %
Sarkozynian lauroilu sodu + woda (Medialan® LD)	137-16-6 i 7732-18-5	0,50 %
Tween 20	9005-64-5	0,50 %
Olejek miętowy	8006-90-4	0,10 %
Sodu benzoesan	532-32-1	0,05 %
Glicerol bezwodny	56-81-5	10,00 %
Indygotyna	860-22-0	0,01%
Woda	7732-18-5	68,85 %

Kompozycję otrzymano w następujący sposób:

W naczyniu rozpuszczono benzoesan sodu w mieszaninie wody i glicerolu i mieszano za pomocą mieszadła odgórniego wyposażonego w mieszadło łopatkowe. Płyn mieszano do rozpuszczenia benzo-esanu sodu. Następnie dodano Medialan LD, Tween 20 oraz indygotynę i wymieszano. Na końcu wkróplono do mieszaniny olejek miętowy i całość wymieszano. Płyn przeniesiono do plastikowej butelki z nakrętką o objętości 500 ml. Następnie dokonano oceny wizualnej kompozycji, na podstawie której stwierdzono, iż jest niebieskawym, przezroczystym i jednorodnym płynem.

Kompozycja posiada podstawowe parametry:

Badanie przeprowadzono za pomocą wiskozymetru wibracyjnego, pH-metru elektronicznego, densytometru oscylacyjnego, pH = 7,4; gęstość = 1,05 g/ml lepkość kinematyczna = 3,80 mPas.

Oceniono, iż uzyskano podstawowe właściwości preparatu charakterystyczne dla płynu do terapii jamy ustnej i gardła.

#### **Przykład 10**

Kompozycja zawierająca dimetylosulfotlenek w postaci płynu do nebulizacji

Składniki płynu:

Składnik	Nr CAS	Zawartość
Dimetylosulfotlenek	67-68-5	20,00 %
Woda	7732-18-5	80,00 %

Kompozycję otrzymano w następujący sposób: Wymieszano składniki w odpowiednim zbiorniku ze stali nierdzewnej i mieszano intensywnie, aż do uzyskania klarownego roztworu. Po czym sączono mieszaninę używając wyłącznie rurek polietylenowych, filtra wstępnego z membraną sterylizującą 0,22 µm. Płyn przeniesiono do wyjałowionego zbiornika, stanowiącego zbiornik pomocniczy. W warunkach aseptycznych napełniano ampułki plastikowe o pojemności 5 lub 10 ml stosując technologię blow-fill-seal. Nie autoklawowano. Następnie dokonano oceny wizualnej kompozycji, na podstawie której stwierdzono, iż jest bezbarwnym, przezroczystym i jednorodnym płynem.

Kompozycja posiada podstawowe parametry:

Badanie przeprowadzono za pomocą wiskozymetru wibracyjnego, pH-metru elektronicznego, densytometru oscylacyjnego, pH = 7; gęstość = 1,02 g/ml lepkość kinematyczna = 1,2 mPas,

Oceniono, iż uzyskano podstawowe właściwości preparatu charakterystyczne dla płynu do nebulizacji

Jak wykazano w powyższych przykładach, w infekcji SARS-CoV-2 dochodzi do wzrostu poziomu ekspresji (ang. upregulation) 3 wskaźników molekularnych, tj. genów kodujących AhR,IDO i TiPARP. Ponadto nieoczekiwanie wykazano, że regulacja w dół (ang. downregulation) 3 markerów molekularnych, tj. ekspresja genów kodujących AhR,IDO i TiPARP następuje pod wpływem dimetylosulfotlenku.

Dodatkowo wykazano, że dimetylosulfotlenek zmniejsza ekspresję transportera aminokwasów LAT1 i cytokiny IL-6.

Mechanizm działania dimetylosulfotlenku powodujący regulację w dół ekspresji 5 genów kodujących AhR,IDO, TIPARP, LAT1 i IL-6 jest nieznany.

W przeprowadzonych badaniach wykazano, że u osób zarażonych wirusem SARS-CoV-2, którym donosowo podawano dimetylosulfotlenek w roztworze wodnym nastąpił szybki powrót percepcji węchu i smaku i nie wystąpiły ogólnoustrojowe objawy Covid-19 ani działania niepożądane związane z donosowym podaniem dimetylosulfotlenku.

W świetle przedstawionych badań wykazano możliwość wytworzenia żelu do stosowania donosowego, spreju do nosa, płynów do płukania jamy nosowej, jamy ustnej i gardła oraz płynu do nebulizacji zawierających dimetylosulfotlenek.

Ze względu na uprzywilejowane znaczenie jamy nosowej, jamy ustnej, nosogardzieli i gardła jako pierwszych wrót infekcji drobnoustrojami przenoszonymi drogą kropelkową, w tym wirusem SARS-CoV-2 zastosowanie dimetylosulfotlenku na błonę śluzową tych struktur anatomicznych sprawia, że komórki błony śluzowej tych okolic zmieniają genotyp i fenotyp, dzięki czemu stają się mniej podatne na wirulentne działanie drobnoustrojów.

Uzyskane wyniki w przedstawionych przykładach potwierdzają skuteczność zastosowania dimetylosulfotlenku do zapobiegania i leczenia infekcji SARS-CoV-2.

#### Bibliografia

Aguilar JS, Roy D, Ghazal P, Wagner EK. Dimethyl sulfoxide blocks herpes simplex virus-1 productive infection in vitro acting at different stages with positive cooperativity. Application of micro-array analysis. *BMC Infect Dis.* 2002;2:9. doi: 10.1186/1471-2334-2-9

Giovannoni F, Quintana FJ (2021). SARS-CoV-2-induced lung pathology: AHR as a candidate therapeutic target. *Cell Research* 31(1): 1–2

Grunewald ME, Shaban MG, Mackin SR, Fehr AR, Perlman S (2020). Murine Coronavirus Infection Activates the Aryl Hydrocarbon Receptor in an Indoleamine 2,3-Dioxygenase-Independent Manner, Contributing to Cytokine Modulation and Proviral TCDD-Inducible-PARP Expression. *J Virol.* 2020;94(3):e01743-19

Hruz T, Laule O, Szabo G, Wessendorp F, Bleuler S, Oertle L, et al. (2008). Genevestigator v3: a reference expression database for the meta-analysis of transcriptomes. *Adv Bioinformatics.* 2008;2008:420747. doi: 10.1155/2008/420747

Huang SH, Wu CH, Chen SJ, Sytwu HK, Lin GJ. Immunomodulatory effects and potential clinical applications of dimethyl sulfoxide. *Immunobiology.* 2020;225(3):151906. doi: 10.1016/j.imbio.2020.151906

Kollerup Madsen B, Hilscher M, Zetner D, Rosenberg J. Adverse reactions of dimethyl sulfoxide in humans: a systematic review. *F1000Res.* 2018;7:1746. doi: 10.12688/f1000research.16642.2

Kupersmidt I, Su QJ, Grewal A, Sundaresh S, Halperin I, Flynn J, et al. (2010). Ontology-based meta-analysis of global collections of high-throughput public data. *PLoS One.* 2010;5(9):e13066. doi: 10.1371/journal.pone.0013066

Liu Y, Lv J, Liu J, Li M, Xie J, Lv Q, et al. (2020). Mucus production stimulated by IFN-AhR signaling triggers hypoxia of COVID-19. *Cell research* 30(12): 1078–1087

Rawls WF, Cox L, Rovner ES. Dimethyl sulfoxide (DMSO) as intravesical therapy for interstitial cystitis/bladder pain syndrome: A review. *Neurourol Urodyn.* 2017;36(7):1677–1684

Scholtissek C, Müller K. Effect of dimethylsulfoxide (DMSO) on virus replication and maturation. *Arch Virol.* 1988;100(1–2):27–35

Turski WA, Wnorowski A, Turski GN, Turski CA, Turski L (2020). AhR and IDO1 in pathogenesis of Covid-19 and the "Systemic AhR Activation Syndrome:" a translational review and therapeutic perspectives. *Restor Neurol Neurosci.* 2020;38(4):343–354.

### Zastrzeżenia patentowe

1. Dimetylosulfotlenek do zastosowania w profilaktyce i leczeniu infekcji wywołanych wirusem SARS-CoV-2 i jego wariantami, w szczególności w profilaktyce wystąpienia neurotropowych następstw infekcji wirusem SARS-CoV-2 i jego wariantami.

2. Dimetylosulfotlenek do zastosowania według zastrz. 1 w postaci płynnej, roztworu wodnego do jamy ustnej i gardła, do nosa i do nebulizacji.
3. Dimetylosulfotlenek do zastosowania według zastrz. 1 w postaci w postaci półstałej do nosa, korzystnie w postaci żelu.
4. Kompozycja farmaceutyczna do zastosowania w profilaktyce i leczeniu zakażenia górnych dróg oddechowych wywołanego wirusem SARS-CoV-2 i jego wariantami, zawierająca jako substancję czynną dimetylosulfotlenek w ilości od 20% do 50% objętościowych.
5. Kompozycja do zastosowania według zastrz. 4 w postaci roztworu wodnego do gardła.
6. Kompozycja do zastosowania według zastrz. 4 w postaci roztworu wodnego do nebulizacji.
7. Kompozycja do zastosowania według zastrz. 4 w postaci roztworu wodnego do nosa.
8. Kompozycja do zastosowania według zastrz. 4 w postaci spreju do nosa.
9. Kompozycja do zastosowania według zastrz. 4 w postaci półstałej korzystnie żelu do nosa.

### Rysunki

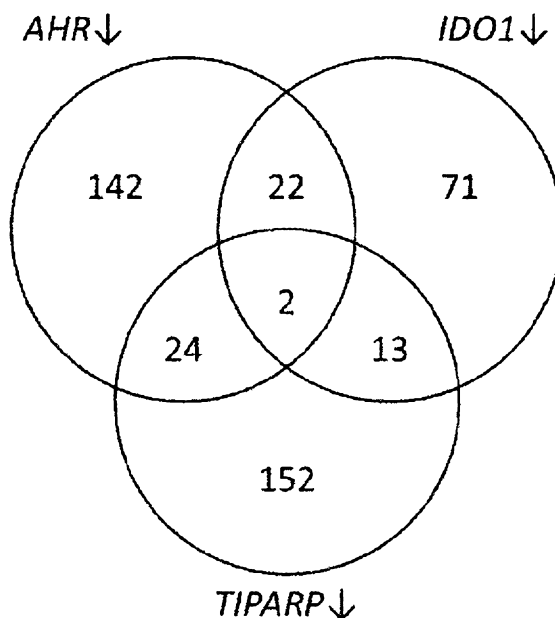


Fig.1

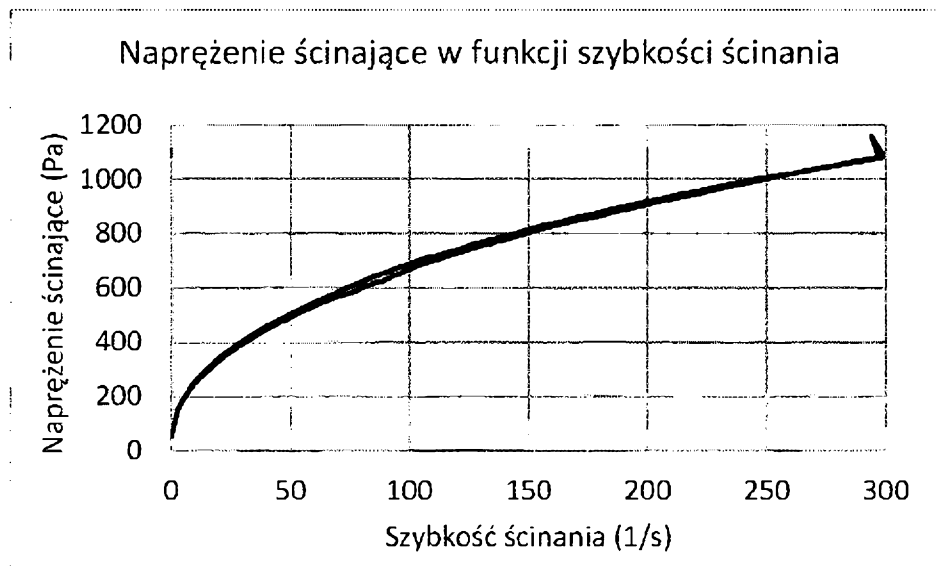


Fig.2

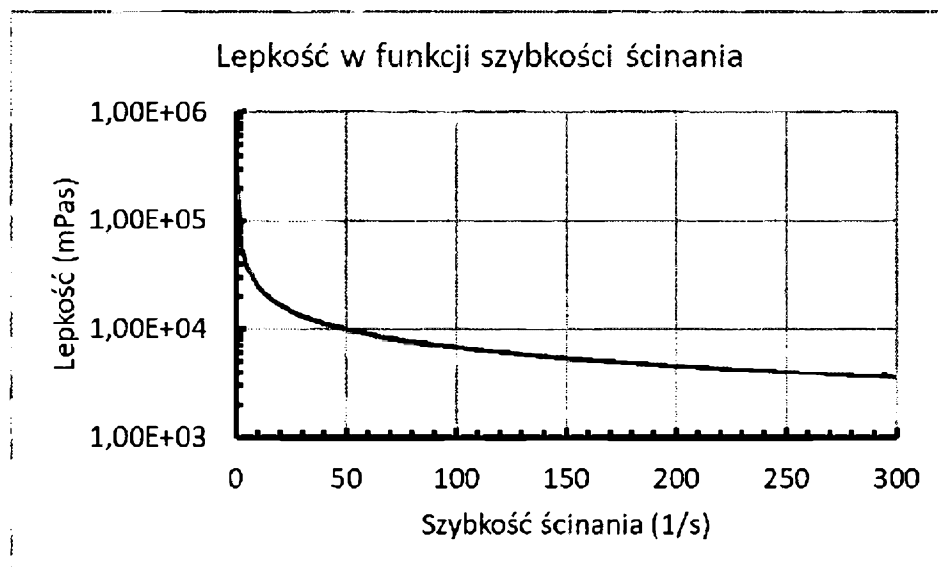


Fig.3

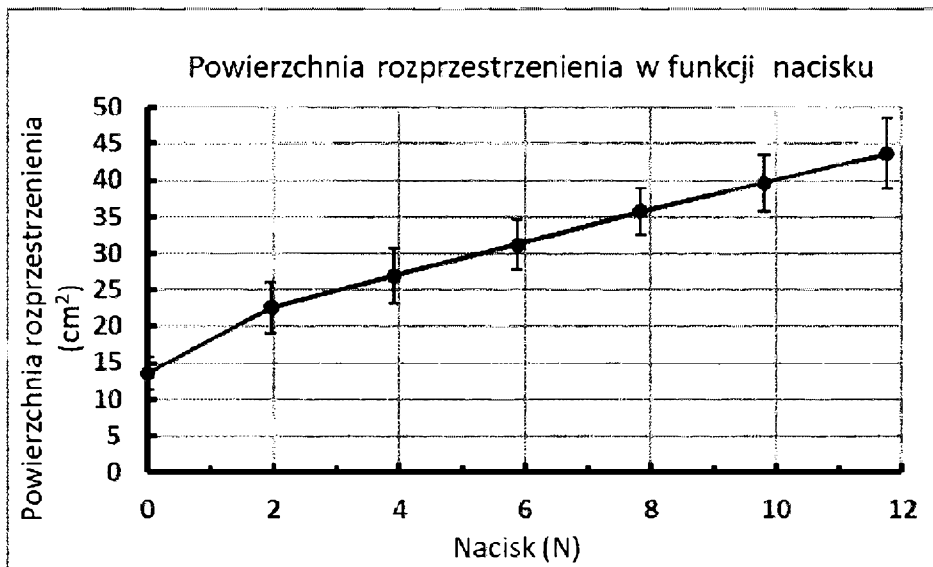


Fig.4