

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

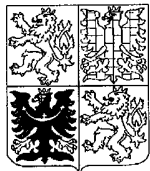
zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

1999 - 3783

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD

PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **28.04.1998**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **29.04.1997**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **1997/839101**

(33) Země priority: **US**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **12.04.2000**
(Věstník č. 4/2000)

(86) PCT číslo: **PCT/US98/07634**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO98/48840**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

A 61 K 47/48

A 61 P 31/12

(71) Přihlašovatel:

SCHERING CORPORATION,
Kenilworth, NJ, US;

(72) Původce:

Glue Paul, Flemington, NJ, US;
Cutler David L., Morristown, NJ, US;
Affrime Melton B., Flemington, NJ, US;

(74) Zástupce:

PATENTSERVIS PRAHA a.s., Jivenská 1, Praha 4,
140 00;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Použití kombinace polyethylenglykol -
interferon alfa pro přípravu farmaceutického
prostředku a farmaceutický prostředek tuto
kombinaci obsahující**

(57) Anotace:

Použití kombinace PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa pro přípravu farmaceutického prostředku pro léčení virové infekce citlivé na léčbu interferonem alfa, způsobujícího snížení nebo odstranění nežádoucích vedlejších účinků, které jsou normálně spojeny s podáváním interferonu alfa a farmaceutický prostředek tuto kombinaci obsahující.

Použití kombinace polyethylenglykol – interferon alfa pro přípravu farmaceutického prostředku a farmaceutický prostředek tuto kombinaci obsahující.

Oblast techniky:

Předložený vynález se týká použití konjugátu polyethylenglykol-interferon alfa pro přípravu léčiva pro léčení virových infekcí, zvláště virových infekcí, které jsou citlivé na léčbu interferonem alfa, přičemž dochází ke snížení nebo odstranění nepříznivých vedlejších účinků, které jsou normálně spojené s podáváním interferonu alfa. Ve výhodném provedení tohoto vynálezu se při léčbě chronické hepatitidy C používá podávání polyethylenglykolu majícího průměrnou relativní molekulovou hmotnost 12000 konjugovaného s interferonem alfa.

Dosavadní stav techniky:

Interferony jsou skupinou v přírodě se vyskytujícími malých proteinů a glykoproteinů, které jsou produkovány a vylučovány mnoha buňkami jako odezva na virovou infekci stejně jako odezva na další antigenní podněty. Interferony poskytují buňky resistantní vůči virové infekci a vykazují velkou pestrost působení na buňky. Používají tyto buněčné činnosti při vázání specifických membránových receptorů na povrch buňky. Jakmile se přiváže na buněčnou membránu, tak interferony spustí složitý sled vnitrobuněčných jevů. *In vitro* studie ukázaly, že tyto jevy zahrnují indukci určitých enzymů, potlačení množení buněk, imunomodulační činnosti, jako např. zvýšení fagocytické činnosti makrofágů a zvýšení specifické cytotoxicity lymfocytů pro cílové buňky, a inhibici virové replikace v buňkách infikovaných viry.

Je známo, že neimunitní interferony, které zahrnují jak alfa tak beta interferony, potlačují virus lidské imunodeficiency (HIV) jak v buňkách infikovaných akutně, tak v buňkách infikovaných chronicky. Viz. Poli a Fauci: *AIDS Research and Human Retroviruses* 1992, 8(2), 191-197. Interferonům, zvláště alfa interferonům, se dostává kvůli jejich antivirovému působení značné pozornosti jako činidlům v léčbě nemocí mající vztah k viru hepatitidy C (HCV-nemoci). Viz. Hoofnagle a kolektiv: *Viral Hepatitis 1981 International Symposium* 1982, Philadelphia, Franklin Institute Press; Hoofnagle a kolektiv: *New Eng. J. Med.* 1986, 315, 1575-1578;

Thomson: *Lancet* 1987, 1, 539-541; Kiyosawa a kolektiv v: Zuckerman (editor): *Viral Hepatitis and Liver Disease*, Allen K. Liss, New York, str. 895-897; Hoofnagle a kolektiv: *Sem. Liv. Dis.* 1985, 9, 259-263.

Chronická hepatitida C je zákeřná a pomalu postupující nemoc mající závažný vliv na kvalitu života. Navzdory zlepšení v kvalitě sdružení dárců krve a současného provedení testování darované krve na HCV je odhadovaný výskyt akutní infekce mezi osobami přijímajícími transfuze 5 až 10 %. Viz. Alter a kolektiv v: Zuckerman (editor): *Viral Hepatitis and Liver Disease*, Allen K. Liss, New York, 1988, str. 537-542. Přibližně se tedy u 150000 z 3 milionů osob, které přijmou každoročně transfuzi ve Spojených Státech Amerických, objeví akutní hepatitida C. Zatímco řada pacientů, kteří dostali hepatitidu C, bude mít subklinickou nebo lehkou nemoc, tak přibližně u 50 % se bude vyvíjet do stadia chronické nemoci charakteristické neustálými sérum transaminasovými anomáliemi a zánětlivými zraněními na jaterních biopsiích. Odhaduje se, že cirhóza se bude vyvíjet u maximálně 20 % těchto případů. Viz. Koretz a kolektiv: *Gastroenterology* 1985, 88, 1251-1254.

Je známo, že interferony ovlivňují různé buněčné funkce jak v normálních, tak v abnormálních buňkách včetně DNA replikace a syntézy RNA a proteinů. Cytotoxický účinek interferonu tedy není omezen na rakovinové buňky nebo buňky infikované virem, ale projevuje se také u normálních, zdravých buněk. Následkem toho vznikají při terapii interferonem nežádoucí vedlejší účinky, obzvláště když jsou potřeba vysoké dávky. Podávání interferonu může vést k potlačení vzniku kostní dřeně, což má za následek snížení počtu červených krvinek, bílých krvinek a celkového počtu krevních destiček. Vysoké dávky interferonu obvykle způsobují symptomy podobné chřipce (např. horečka, únava, bolesti hlavy a třesavky), zažívací poruchy (např. anorexie, nevolnost a průjem), závratě a kašel.

Ukázalo se, že interferon alfa-2b je bezpečný a účinný při léčbě chronické hepatitidy C, jestliže se podává podkožně v dávkování $3 \cdot 10^6$ mezinárodních jednotek (IU) třikrát týdně během 24 týdnů. Viz. Causse a kolektiv: *Gastroenterology* 1991, 101, 497-502; Davis a kolektiv: *New Eng. J. Med.* 1989, 321, 1501-1506; Marcellin a kolektiv: *Hepatology* 1991, 13(3), 393-393. Toto množství a doba zmírňuje symptomy hepatitidy C a biochemický nebo histologický důkaz zánětu jater u některých pacientů, ale také zapříčiňuje nežádoucí vedlejší účinky, např. symptomy podobné chřipce. Injekce aplikované třikrát za týden tedy pacienta zatíží a mají závažný vliv na kvalitu pacientova života.

Nieforth a kolektiv (*Clin. Pharmacol. Ther.* 1996 59, 636-646) popsal srovnání *in vivo* účinku Roferonu®A a Roferonu®A modifikovaného polyethylenglykolem na zdravých

dobrovolnících. Nicméně výsledky nasvědčují tomu, že konjugáty by nemohly být podávány méně než dvakrát týdně, a proto poskytly malou terapeutickou výhodu oproti nemodifikovaným analogům.

U.S. patentová přihláška č. 08/742,305 zveřejňuje způsoby podávání konjugátů polymer-cytokin jedincům citlivým na léčbu cytokinem, ale nezveřejňuje způsob tohoto vynálezu.

Modifikace jiných proteinů polyethylenglykolem byla také popsána. Viz. Fuertges a kolektiv: *Journal of Controlled Release* 1990, 11, 139-48, který popisuje PEG-modifikovanou asparginasu pro léčbu akutní lymfoblastické leukémie, PEG-adenosindiaminasu (PEG-ADA) pro použití v ADA-postrádajícím syndromu kritického kombinovaného selhání imunity, PEG-hyperoxiddismutasu pro reperfusní poranění a PEG-urikasu pro léčbu hyperurikémie.

Nežádoucí vedlejší účinky, které doprovázejí terapii pomocí interferonu alfa a zatížení třemi injekcemi za týden často omezují terapeutickou užitečnost režimů léčby pomocí interferonu alfa. Existuje tedy potřeba podporovat nebo zlepšovat terapeutické výhody takové terapie za snížení nebo odstranění těchto nežádoucích vedlejších účinků.

Podstata vynálezu:

Předložený vynález naplňuje tuto potřebu poskytnutím způsobu podmínek léčby, které jsou citlivé na léčbu interferonem alfa, jehož účinnost je zlepšena a nežádoucí vedlejší účinky normálně spojené s takovou léčbou jsou významně sníženy nebo zcela odstraněny.

Předložený vynález poskytuje způsob léčby savců postižených virovou infekcí, která je citlivá na léčbu interferonem alfa, zahrnující podávání určitého množství polyethylenglykolu s relativní molekulovou hmotností 12000 konjugovaného s interferonem alfa (PEG₁₂₀₀₀-interferonu alfa), které je schopné léčit virovou infekci za značného snížení nebo odstranění nežádoucích vedlejších účinků spojených s podáváním interferonu alfa.

Předložený vynález také poskytuje způsob léčby chronické infekce virem hepatitidy C zahrnující podávání určitého množství PEG₁₂₀₀₀-interferonu alfa savčímu hostiteli s virem hepatitidy C, které je schopné léčit uvedenou virovou infekci za značného snížení nebo odstranění nežádoucích vedlejších účinků spojených s podáváním interferonu alfa.

Detailní popis tohoto vynálezu:

Vynález je směřován ke způsobu podmínek léčby, které jsou citlivé na léčbu interferonem alfa. Nečekaně bylo objeveno, že podávání polyethylenglykolu s relativní

molekulovou hmotností 12000 konjugovaného s interferonem alfa (dále „PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa“) poskytuje zlepšené terapeutické výhody za značného snížení (nebo úplného odstranění) nežádoucích vedlejších účinků normálně spojených s obvykle praktikovanými režimy léčby interferonem alfa. Zejména bylo překvapivě zjištěno, že podávání PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa-2b konjugátu jednou týdně pacientům s chronickou hepatitidou C má za následek stejnou nebo zvýšenou účinnost za značného snížení nebo odstranění nežádoucích vedlejších účinků normálně spojených s obvykle praktikovanými režimy léčby interferonem alfa.

Běžná terapie interferonem alfa používaná při léčbě HCV u lidí je 3 miliony mezinárodních jednotek třikrát týdně („3 MIU TIW“). Tato terapie normálně vede k myelosupresi (snížení bílých krvinek a celkového počtu neutrofilů). Takové nebo vyšší dávky interferonu alfa obvykle způsobují mírné až těžké symptomy podobné chřipce, zažívací potíže, závratě a kašel; každý z těchto symptomů může vyžadovat léčbu pomocí jiných terapií nebo nutí pacienta přerušit nebo omezit terapii interferonem alfa.

Překvapivě jsme objevili, že použití výhodných PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa-2b konjugátů podle předloženého vynálezu dovoluje vyšší a méně časté dávky za současného a překvapivě značného snížení nebo dokonce odstranění nežádoucích vedlejších účinků a symptomů spojených s běžnou terapií interferonem alfa.

Výrazy „polyethylenglykol s relativní molekulovou hmotností 12000 konjugovaný s interferonem alfa“ a „PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa“, jak jsou zde použity, označují konjugáty jako jsou ty připravené podle způsobů mezinárodní přihlášky č. WO 95/13090 a ty obsahující urethanová spojení mezi aminoskupinami interferonu alfa 2a nebo 2b a polyethylenglykolem majícím průměrnou relativní molekulovou hmotnost 12000. Výhodným konjugátem polyethylenglykol-interferon alfa je PEG₁₂₀₀₀-interferon alfa-2b.

Výhodný PEG₁₂₀₀₀-interferon alfa-2b se připravuje připojením PEG polymeru k epsilon aminoskupině lysinového zbytku v molekule IFN alfa-2b. Jediná molekula PEG₁₂₀₀₀ je konjugována ke třem aminoskupinám v molekule IFN alfa-2b *via* urethanové spojení. Konjugát je charakterizován molekulovou hmotností připojeného PEG₁₂₀₀₀. Konjugát PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa je formulován jako lyofilizovaný prášek určený pro injekce. Účelem konjugace IFN alfa s PEG je zlepšit dodávání proteinu pomocí významného prodloužení jeho plasmového poločasu života a tím zajistit protrahovanou aktivitu IFN alfa.

Termín „interferon“ nebo „IFN“, jak je zde použit, označuje skupinu vysoce homologických druhově specifických proteinů, které inhibují virovou replikaci a množení buněk a regulují imunitní odezvu. Lidské interferony jsou seskupeny do tří tříd na základě jejich

buněčného původu a antigenicity: α -interferon (leukocyty), β -interferon (fibroblasty) a γ -interferon (B buňky). Byly vyvinuty a jsou komerčně dostupné rekombinační formy každé skupiny. Podtypy každé skupiny jsou založeny na antigenních/strukturních charakteristikách. Alespoň 24 interferonů alfa (seskupených do podtypů A až H) majících rozdílné sekvence aminokyselin bylo identifikováno izolací a sekvenčním DNA kódováním těchto peptidů. Termíny „ α -interferon“, „alfa interferon“, „interferon alfa“ a „lidský leukocytový interferon“ jsou v této přihlášce použity střídavě k popisu interferonů této skupiny. K provedení tohoto vynálezu mohou být použity jak v přírodě se vyskytující, tak rekombinantní α -interferony, které zahrnují shodné interferony.

Čištění interferonu alfa z lidských leukocytů izolovaných z blan utvořených ze sražených leukocytů z frakcí neporušené krve je popsáno v U.S. patentu č. 4,503,035. Lidský leukocytový interferon připravený tímto způsobem obsahuje směs lidských leukocytových interferonů majících různé sekvence aminokyselin. Čištěné přírodní lidské α -interferony a jejich směsi, které mohou být použity v provedení tohoto vynálezu bez omezení zahrnují Sumiferon[®] interferon alfa-n1 dostupný od firmy Sumitomo, Japonsko; Wellferon[®] interferon alfa-n1 (Ins) dostupný od firmy Glaxo-Wellcome Ltd., Londýn, Velká Británie a Alferon[®] interferon alfa-n3 dostupný od firmy Purdue Frederick Co., Norwalk, CT.

Nástup rekombinační DNA technologie aplikované na výrobu interferonů umožnil úspěšně syntetizovat různé lidské interferony, čímž se umožnila fermentace ve velkém měřítku, výroba, izolace a čištění různých interferonů až k homogenosti. Rekombinačně vyrobený interferon si udržel své *in vitro* a *in vivo* antivirové a imunomodulační účinky. Rozumí se také, že rekombinační techniky by mohly také zahrnovat glykosylační místo pro adici glykosidické skupiny na rekombinačně odvozený polypeptid.

Konstrukce rekombinačních DNA plazmidů obsahujících sekvence kódující alespoň část lidského leukocytového interferonu a exprese polypeptidu majícího imunologický nebo biologický účinek jako lidský leukocytový interferon v *E. coli* je popsána v U.S. patentu č. 4,530,901 a evropském patentu č. EP 0 032 134. Konstrukce hybridních genů α -interferonu obsahujících kombinace různých podtypů sekvencí (např. A a D, A a B, A a F) je popsána v U.S. patentech č. 4,414,150; 4,456,748 a 4,678,751. Typické vhodné rekombinační α -interferony, které mohou být použity v provedení tohoto vynálezu bez omezení zahrnují interferon alfa-2b, jako např. Intron[®] A dostupný od firmy Schering Corporation, Kenilworth, N.J.; interferon alfa-2a, jako např. Roferon[®] A dostupný od firmy Hoffmann-La Roche, Nutley, N.J.

U.S. patenty č. 4,695,623 a 4,897,471 zveřejňují lidské leukocytové interferonové polypeptidy týkající se konvenčního interferonu, které mají sekvence aminokyselin, jaké obsahují běžné nebo dominantní aminokyseliny nalezené v každé pozici mezi přirozeně se vyskytujícími polypeptidy podtypu interferon alfa.

Stavy, které mohou být léčeny podle předloženého vynálezu, jsou takové, které jsou vhodné pro léčbu interferonem alfa. Vhodné stavy například zahrnují takové stavy, které by přesně nebo uspokojivě odpovídaly těm stavům známým v medicínské technice jako terapie interferonem alfa. Pro účely tohoto vynálezu zahrnují stavy, které mohou být léčeny terapií interferonem alfa, ty, ve kterých vykazuje léčba interferonem alfa určitou účinnost, ale nemohou být léčeny interferonem alfa, protože nad výhodami léčby převažují negativní vedlejší účinky. Vedlejší účinky doprovázející alfa terapii fakticky vylučují použití interferonu alfa při léčbě Epstein Barr virus. Provedení vynálezu má za následek podstatné snížení nebo odstranění vedlejších účinků ve srovnání s běžnou léčbou interferonem alfa.

Vzorové stavy, které mohou být léčeny interferonem bez omezení zahrnují poruchy množení buněk, zvláště rakovinu (např. leukémii vlasových buněk, Kaposiův sarkom, chronickou myelogenní leukémii, mnohočetný myelom, rakovinu bazálních buněk a maligní melanom, rakovinu vaječníku, kožní lymfom T buněk) a virové infekce. Léčba interferonem může být bez omezení použita k léčení stavů, které by měly prospěch z inhibice replikace virů citlivých na interferon. Virové infekce, které mohou být léčeny podle tohoto vynálezu zahrnují hepatitidu A, hepatitidu B, hepatitidu C, další hepatitidy non-A/non-B typu, herpes virus, Epstein Barr virus (EBV), cytomegalovirus (CMV), herpes simplex, lidský herpes virus typu 6 (HHV-6), papilom, poxvirus, pikornavirus, adenovirus, rinovirus, lidský T lymfotropní virus typu 1 a 2 (HTLV-1/-2), lidský rotavirus, vzteklinu, retroviry zahrnující virus lidské imunodeficiency (HIV), encefalitidu a virové infekce zasahující dýchací systém. Způsob tohoto vynálezu může být také použit při modifikaci různých imunitních reakcí.

V léčbě leukémie vlasových buněk, venerických bradavic, Kaposiova sarkomu a chronické hepatitidy non-A/non-B typu se ve Spojených Státech Amerických a v dalších zemích v současné době osvědčily dvě varianty interferonu alfa: interferon alfa-2b prodáváný pod obchodním názvem INTRON[®] A (Schering Corporation, Kenilworth NJ) a interferon alfa-2a prodáváný pod obchodním názvem Roferon[®] A (Hoffmann-La Roche, Nutley, NJ). Protože interferon alfa-2b má pro léčbu chronické hepatitidy C nejširší uznání ze všech interferonů na celém světě, je nejvýhodnější pro použití v léčbě chronické hepatitidy C podle tohoto vynálezu.

Osoby prodávající infekci chronickou hepatitidou C mohou vykazovat jeden nebo více z následujících znaků nebo symptomů: a) zvýšená sérová alaninaminotransferasa (ALT), b) pozitivní test na anti-HCV protilátky, c) výskyt HCV projevující se pozitivním testem na HCV-RNA, d) klinické znaky chronické nemoci jater, e) hepatocelulární poškození. Taková kritéria nemusí být použita pouze pro diagnózu hepatitidy C, ale také pro posouzení pacientovy reakce na léčbu.

Je známo, že zvýšení sérové alaninaminotransferasy (ALT) a aspartataminotransferasy (AST) se vyskytuje při nekontrolované hepatitidě C a úplná reakce na léčbu je obecně definována jako normalizace těchto sérových enzymů, zvláště ALT (Davis a kolektiv: *New Eng. J. Med.* 1989, 321, 1501-1506). ALT je enzym uvolněný tehdy, když jsou živé buňky zničeny, a je příznačný pro HCV infekci. Interferon způsobuje syntézu enzymu 2',5'-oligoadenylatsyntetasy (2'5'OAS), který má za následek degradaci virové mRNA. Houghum: *Clinical Pharmacology* 1983, 2, 20-28. Zvýšení hladin 2'5'OAS v séru se současně shoduje se snížením hladin ALT.

Histologické vyšetření vzorků jaterních biopsií může být použito jako druhé kritérium hodnocení. Viz. např. Knodell a kolektiv: *Hepatology* 1981, 1, 431-435, jehož histologický aktivní index (portální zánět, postupná nebo překonaná nekróza, lobulární zranění a fibróza) poskytl instrumentální způsob pro stanovení působení nemoci.

V provedení tohoto vynálezu mohou být podávány výhodné konjugáty PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa-2a nebo 2b pacientům infikovaným virem hepatitidy C. Výhodné je použití PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa-2b.

Pro léčbu byli vybráni pacienti s pozitivním testem na anti-HCV protilátky s průkaznou chronickou aktivní hepatitidou. Každý pacient byl pozitivní na protilátky proti viru hepatitidy C (anti-HCV) pomocí doplňkové zkoušky (Ortho nebo Abbot), měl výskyt HCV RNA pomocí PCR a měl dřívější jaterní biopsie s rysy chronické hepatitidy. Pacienti se pohybovali ve věku od 18 do 68 let a neměli žádnou předchozí léčbu hepatitidy C pomocí interferonu.

Bylo zjištěno, že tři dávky PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa-2b (0,5; 1,0; 1,5 µg/kg) podávané jedenkrát týdně měly stejné nebo lepší působení než regulace interferonem alfa 3 MIU TIW (stanoveno pomocí ztráty HCV-RNA (PCR)) 4., 8. a 12. týden terapie. Zároveň byly významně sníženy vedlejší účinky, které jsou známy jako doprovodné jevy při léčbě interferonem alfa.

Množství konjugátu PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa podávaného k léčbě jakýchkoli stavů popsaných výše je založeno na IFN alfa aktivitě polymerního konjugátu. Je to množství, které je dostatečné pro významné ovlivnění pozitivní klinické reakce za současného udržení snížených vedlejších

účinků. Množství PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa-2b, které může být podáváno, je v rozmezí alespoň 0,25 µg/kg/týden v jedné dávce nebo v rozdělených dávkách. Ve výhodnějších provedeních je podávané množství v rozsahu 0,25 až 2,5 µg/kg/týden nebo v rozsahu 0, 5 až 1,5 µg/kg/týden v jedné dávce nebo v rozdělených dávkách.

Popsané dávky se mohou podávat každý další den, ale výhodně jednou nebo dvakrát týdně. Dávky se podávají injekcemi alespoň během 24 týdenní periody.

Podávání dávky může být nitrožilní, podkožní, nitrosvalové nebo jakýmkoli jiným přijatelným způsobem. Množství podávaného léku a použitý léčebný režim je založen na odhadu ošetřujícího lékaře a bude závislý na věku, pohlaví a lékařské anamnéze léčeného pacienta, na celkovém počtu neutrofilů (např. závažnost neutropenie), závažnosti specifického stavu nemoci a snášenlivosti pacienta vůči léčbě patrné lokální toxicitou a systémovými vedlejší účinky. Dávkovací množství a četnost dávek může být stanovena během počáteční prověrky celkového počtu neutrofilů.

Pro jakýkoli způsob podávání mohou být použity rozdělené dávky nebo jediná dávka. Například když se použije podkožní injekce, tak může být podáno např. 1,5 µg/kg PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa-2b za jeden týden, dvě injekce 0,75 µg/kg v 0. a 72. hodině.

Aby se sledoval průběh HCV replikace u osob jako odezva na léčbu, může být ve vzorcích séra stanoveno HCV RNA pomocí např. zkoušky reakce vloženého polymerasového řetězce, která používá dvě sady maticí odvozených od NS3 a NS4 částí nestrukturního genu HCV genomu. Viz. Farci a kolektiv: *New Eng. J. Med.* **1991**, 325, 98-104, Ulrich a kolektiv: *J. Clin. Invest.* **1990**, 86, 1609-1614.

Antivirové působení může být měřeno pomocí změn v HCV-RNA titru. HCV RNA data mohou být analyzována pomocí srovnávání titrů na konci léčby se základním měřením před léčbou. Snížení HCV RNA za týden 4 poskytuje důkaz o antivirovém působení sloučeniny. Viz. Kleter a kolektiv: *Antimicrob. Agents Chemother.* **1993**, 37(3), 595-597; Orito a kolektiv: *J. Medical Virology* **1995**, 46, 109-115. Změna veličiny nejméně o dva řády (≥ 2 log) se interpretuje jako důkaz antivirového působení.

Bezpečnost a snesitelnost mohou být stanoveny pomocí klinických hodnocení a množství bílých krvinek a celkového počtu neutrofilů. Toto může být hodnoceno prostřednictvím periodického monitorování hematologických parametrů (celkové množství bílých krvinek, neutrofilů, destiček a červených krvinek).

Další interferonové konjugáty mohou být připraveny spojením interferonu s polymerem rozpustným ve vodě. Výčet takových polymerů, který není omezen uvedenými příklady,

zahrnuje další polyalkylenoxidové homopolymery, jako např. polypropylenglykoly, polyoxyethylenované polyoly, jejich kopolymery a jejich blokové kopolymery. Jako další možnost, kromě polymerů založených na polyalkylenoxidových polymerech, mohou být účinně použity neantigenní látky, jako např. dextran, polyvinylpyrrolidony, polyakrylamidy, polyvinylalkoholy, polymery odvozené od sacharidů a podobné. Takové konjugáty interferon-polymer jsou popsány v U.S. patentu č. 4,766,106; v U.S. patentu č. 4,917,888; v evropské patentové přihlášce č. 0 236 987; v evropské patentové přihlášce č. 0 510 356 a v mezinárodní přihlášce č. WO 95/13090.

Protože modifikace polymerem dostatečně snižuje antigenní reakce, cizí interferon nemusí být úplně autologní. Interferon použitý k přípravě konjugátů s polymerem může být připraven ze savčího extraktu, jako např. lidský interferon, interferon přežvýkavců nebo hovězí interferon, nebo může být vyroben rekombinací.

Různé další protrahovaně nebo trvale uvolňující formulace mohou být připraveny pomocí obvyklých způsobů známých ve stavu techniky.

V provedení tohoto vynálezu mohou být použity obvyklé farmaceutické přípravky obsahující terapeuticky účinné množství PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa společně s farmaceuticky přijatelnými nosiči, adjuvans, ředidly, konzervačními činidly a/nebo solubilizátory. Farmaceutické interferonové přípravky obsahují ředidla různých pufrů (např. Tris-HCl, acetat, fosfat) majících rozsah pH a iontovou sílu, nosiče (např. lidský sérový albumin), solubilizátory (např. tween – ethoxylované estery kyseliny sorbové, polysorbat) a konzervační činidla (např. thimerosol, benzylalkohol). Viz. např. U.S. patent 4,496,537.

Jak je popsáno výše, průběh nemoci a její reakce na léčení může být sledován klinickým vyšetřením a laboratorními nálezy. Účinnost terapie tohoto vynálezu je stanovena stupněm, při kterém jsou zmírněny dříve popsané příznaky a symptomy chronické hepatitidy a při kterém jsou odstraněny nebo značně sníženy normální vedlejší účinky interferonu (tj. symptomy podobné chřipce, jako např. horečka, bolest hlavy, třesavka, myalgie, únava atd. a symptomy týkající se centrálního nervového systému, jako např. deprese, parestezie, narušená koncentrace atd.).

Může být vytvořeno mnoho modifikací a variací tohoto vynálezu, aniž by se odchýlily od jeho ducha a rámce, což bude odborníkovi jasné. Zde popsaná specifická provedení jsou předložena pouze jako příklad a tento vynález je omezen pouze podmínkami doplněných nároků společně s úplným rozsahem ekvivalentů, ke kterým jsou tyto nároky oprávněny.

Průmyslová využitelnost:

Vynález se týká způsobu zahrnujícího podávání PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa konjugátu jedinci postiženému virovou infekcí, která je citlivá na léčbu interferonem alfa, za současného snížení nebo odstranění nežádoucích vedlejších účinků, které jsou normálně spojeny s podáváním samotného interferonu alfa.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Použití kombinace PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa pro přípravu farmaceutického prostředku pro léčení virové infekce citlivé na léčbu interferonem alfa, způsobujícího snížení nebo odstranění nežádoucích vedlejších účinků, které jsou normálně spojeny s podáváním interferonu alfa.
2. Použití kombinace PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa podle nároku 1 pro přípravu farmaceutického prostředku pro léčení virové infekce citlivé na léčbu interferonem alfa, kterou je hepatitida C u savců, způsobujícího snížení nebo odstranění nežádoucích vedlejších účinků, které jsou normálně spojeny s podáváním interferonu alfa.
3. Použití kombinace PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa podle nároku 2, kterým je kombinace PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa-2b pro přípravu farmaceutického prostředku pro léčení virové infekce citlivé na léčbu interferonem alfa, kterou je hepatitida C u savců, způsobujícího snížení nebo odstranění nežádoucích vedlejších účinků, které jsou normálně spojeny s podáváním interferonu alfa.
4. Použití kombinace PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa podle nároku 2, kterým je kombinace PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa-2a pro přípravu farmaceutického prostředku pro léčení virové infekce citlivé na léčbu interferonem alfa, kterou je hepatitida C u savců, způsobujícího snížení nebo odstranění nežádoucích vedlejších účinků, které jsou normálně spojeny s podáváním interferonu alfa.
5. Farmaceutický prostředek pro léčení virové infekce citlivé na léčbu interferonem alfa, v y z n a č u j í c í s e t í m, že jako účinnou složku obsahuje kombinaci PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa a farmaceuticky přijatelný nosič.
6. Farmaceutický prostředek pro léčení virové infekce citlivé na léčbu interferonem alfa podle nároku 5, v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahuje alespoň 0,25 μg PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa na 1 kg tělesné hmotnosti na den.
7. Farmaceutický prostředek pro léčení virové infekce citlivé na léčbu interferonem alfa podle nároku 6, v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahuje 0,25 μg až 1,5 μg PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa na 1 kg tělesné hmotnosti na den.