

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

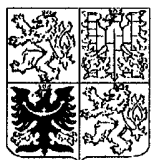
zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

830-99

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **08. 09. 97**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **11.09.96**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **96/96870114**

(33) Země priority: **EP**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **16. 06. 99**
(Věstník č. 6/99)

(86) PCT číslo: **PCT/EP97/04859**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 98/10764**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶:

A 61 K 31/495

(71) Přihlášovatel:

UCB, S. A., Bruxelles, BE;

(72) Původce:

König Brigitte, Hagen, DE;

Rihoux Jean-Pierre, Erpent, BE;

König Wolfgang, Recklinghausen, DE;

(74) Zástupce:

Švorčík Otakar JUDr., Hálkova 2, Praha 2,
12000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

Farmaceutický přípravek pro léčbu virových onemocnění

(57) Anotace:

Použití [2-[4-/4-chlorfenyl/fenylmethyl]-1-piperazinyl]ethoxy]octové kyseliny ve formě jednotlivých optických isomerů nebo jejich farmaceuticky vhodných solí, jakožto aktivní složky pro přípravu farmaceutického přípravku pro léčbu onemocnění vyvolaných respiračním-syncytiálním virem.

CZ 830-99 A3

Farmaceutický přípravek pro léčbu virových onemocnění

Oblast techniky

Vynález se týká farmaceutického přípravku a způsobu léčby virových onemocnění u lidí. Zejména se týká farmaceutických přípravků pro léčbu nemocí, způsobených respiračním syncytiálním virem (RSV).

Dosavadní stav techniky

Je známo, že oblast vracejících se respiračních virových infekcí je následována náhlou sensitivitou k jednomu či několika antigenům se zvyšující se úrovní imunoglobulinů E (Oscar L.Frick, J.Allergy Clin.Immunol., listopad 1986, str. 1013 -1018). Další dominantní virus, způsobující dýchavičnost u lidí a zvláště u dětí je respirační syncytiální virus. Zejména u dětí do dvou let je pozorováno, že způsobují bronchitidu a pneumonii.

T.Chonmaitree a kol. v Journal of Infections Diseases, vol. 164 (3), str. 592-594 (1991) zveřejnil, že mononukleární leukocyty z normálních jedinců produkují histamin, uvolňující faktor (HRF) v závislosti na expozici respiračních virů, svědčící o tom, že cytokin může hrát roli v mechanismu viry indukovaném bronchospasmu. Ačkoliv tito autoři uvedli, že HRF se liší od většiny dalších cytokinů, takových, jako interleukiny -1-6, 8 a 9, nebo granulocyty.

R.C. Welliver a kol. v New England Journal of Medicine vol.305 (15), str. 841-846 (1981) zveřejnil, že respirační syncytiální virus (RSV) - specifické imunoglobuliny E společně s histaminem jsou přítomné u většiny dětí s různou formou respiračních nemocí, způsobených RSV a vykazujících dýchavičnost, ačkoliv nebyl dokázán přímý vztah titru RSV - IgE s uvolněným množstvím histaminu. Existují teoretické mechanismy, podle nichž mohou viry indukovat, nebo aktivovat zánět v nižších dýchacích cestách (lower airways). Následně po infekcích respiračním syncytiálním virem byly pozorovány alveolární makrofagy, peribronchiální infiltrace s neutrofilními granulocyty. Neutrofily nejsou jenom buňky, schopné uvolňovat fagocytosy a uvolňovat nízkomolekulární inflammatorní mediátory, ale mohou vyměšovat rozmanité proinflatorní cytokiny. Nové cytokiny, zejména chemokiny popsal jako aktivující inflammatorní buňky například Piotra Kuna ve Pharmacia Allergy Research Founda-

tion Award Book (1995), str. 23-31. V této rodině chemokinů je interleukin-8 (IL-8) velmi silným chemotaktickým faktorem pro polymorfonukleární buňky. Tento chemokin, podle B.Königa a kol. v Journal of leukocyte Biology (červenec 1996) je produkován ve vysokém množství lidskými polymorfonukleárními buňkami v přítomnosti respiračního syncytiálního viru. V jiné studii, publikované R. Arnoldem a kol. v Immunology, 85, 364-372 (1995) je uvedeno, že syntéza periferních krevních mononukleárních buněk a vyměšování proinflammatorních cytokinů IL-8, následující po infekci, způsobené respiračním syncytiálním virem (RSV), je dokonce prokazatelně nízká.

Autoři této studie navrhuji, že uvolňování potentního chemotoxinu IL-8 z periferie krevních mononukleárních buněk může souviset s vyslovenou akumulací polymorfonukleárních granulocytů v alveolární oblasti RSV indukovaných broncholitidou.

H.P.Heckert a kol. v Berliner Müncher Tierärztl. Wschr. Vol. 106(7), str. 230-235 (1993) popisuje léčbu hovězí RSV infekce. Při použití antibiotické terapie byl sledován vliv antihistaminidifenylhydraminu měřením tělesné teploty. Při denní aplikaci antihistaminu k antibiotické léčbě byla zvířata signifikantně rychlejší s teplotou. I když poučení z toho dokumentu je striktně limitováno veterinární oblastí (krávy), na druhé straně to neumožňuje vysvětlit mechanismus aktivity jednotlivých složek z popsané kombinace.

Z terapeutického hlediska je nutno poznamenat, že neexistuje specifická léčba infekcí způsobených respiračním syncytiálním virem.

Je známo, že používané jednotlivé léky k léčbě alergie a astma (kortikosteroidy, theofilin, ketotifen) mají inhibiční vliv na buňky přímo postižené imuno defenzivním mechanismem, čímž se zvyšuje nebezpečí mikrobiální a virové infekce.

Podstata vynálezu

Uvedený vynález se týká použití farmaceutických přípravků pro léčbu nemocí, způsobených respiračním - syncytiálním virem u lidí.

Vynález je založen na neočekávaném poznání, že 2-[2-[4-[(4-chlorfenyl)fenylmethyl]-1-piperazinyl]ethoxy]-octová kyselina, jednotlivé optické isomery a její farmaceuticky přijatelná sůl má signifikantní inhibiční vliv na opakovaná virová onemocnění spo-

lečně s inhibičním efektem na produkci buněčné modifikace (IL-8 produkci) způsobené RSV. Více než tento farmakologický efekt je důležité, že nesnižuje imunitu pacienta.

Toto poznání demonstruje existenci neočekávaného ochranného efektu získaného při léčbě nemocí jako jsou akutní bronchitida nebo virový zánět plic, vyvolaný respiračním syncytiálním virem u lidí, způsobem, který spočívá v tom, že se člověku, který tuto léčbu potřebuje, podává farmaceutický přípravek, obsahující jako aktivní složku efektivní množství nejméně jedné sloučeniny vybrané ze skupiny, tvořené 2-[2-[4[(4-chlorfenyl)fenylmethyl]-1-piperaziny] ethoxy]octovou kyselinou, jednotlivými optickými izomery a jejich farmaceuticky přijatelnými solemi.

Termín „farmaceuticky přijatelné soli“ se používá ve vztahu k 2-[2-[4[(4-chlorfenyl)fenylmethyl]-1-piperaziny]ethoxy]-octové kyselině, znamená ne jen její soli s netoxickými organickými a anorganickými kyselinami, jako jsou octová, citronová, succinová, askorbová, chlorovodíková, bromovodíková, sírová a fosforečná kyselina a podobně, ale také jejich kovové soli (například sodná, draselná), amonné soli včetně kvarterních amoniových solí a solí s aminokyselinami.

Termín „jednotlivý optický izomer“ znamená jejich levotočivé a pravotočivé enantiomery. Je známo, že čištění těchto enantiomerů je obtížný proces, závisící na vybraném způsobu přípravy sloučeniny a optické čistoty výchozích materiálů.

Proto termín „jednotlivý optický izomer“, jak je použit zde, znamená sloučeninu, obsahující nejméně 90 % hmotn. s výhodou 95 % hmotn. jednotlivého pravo- nebo levotočivého isomeru a maximálně 10 % hmotn., s výhodou 5 % hmotn. druhého levo- nebo pravotočivého optického isomeru.

Každý jednotlivý optický isomer se získá z racemické směsi použitím konvenčních způsobů popsaných v britské patentové přihlášce No. 2,225,321. Jednotlivé optické isomery lze připravit z racemické směsi enzymatickým biokatalytickým rozpouštědlem, které je popsáno v U.S. patentech No. 4,800,162 a 5,057,427.

S výhodou je aktivní složkou podle vynálezu racemát 2-[2-[4-[(4-chlorofenyl)fenylmethyl]-1-piperaziny]ethoxy]octové kyseliny a její dihydrochloridová sůl, která antagonistou histamin H_1 receptoru, dobře známého jako cetirizin dihydrochlorid a jeho levo- a pravotočivé enantiomery.

Pro využití vynálezu může přípravek uvedený vpředu obsahovat efektivní množství 2-[2-[4-[(4-chlorofenyl)fenylmethyl]-1-piperaziny]ethoxy]octové kyseliny a farmaceuticky přijatelnou sůl nebo její jednotlivé optické isomery. Efektivní množství se snadno stanoví použitím konvenčního způsobu práce a pozorováním výsledků získaných za analogických podmínek. Při zjišťování efektivního množství se doporučuje počet sledovaných faktorů, který však není limitován: specifikace pacienta; jeho velikost, věk a všeobecné zdraví; specifikace onemocnění; stupeň, nebo následek nebo prudkost onemocnění; vnímavost určitého pacienta; vzhledem k podávané sloučenině, způsobu podání; charakteru biologické snášenlivosti podávaného přípravku; k vybranému režimu dávkování; a k použité současné medikaci. Efektivní množství 2-[2-[4-[(4-chlorofenyl)fenylmethyl]-1-piperaziny]ethoxy]octové kyseliny a farmaceuticky přijatelné soli nebo jejího jednotlivého optického isomeru podle vynálezu je od 0,1 mg/kg/den do 0,5 mg/kg/den. Dávka 5 mg až 50 mg se s výhodou podává jednou nebo dvakrát denně.

Přípravek podle vynálezu může být podáván pacientovi v jakékoliv formě nebo jakýmkoliv biologicky přijatelným způsobem v efektivním množství, zejména orálně.

Například je možno podávat přípravek orálně, intranasálně nebo rektálně. Doporučuje se orální podání. Odborník z oblasti vývoje lékových forem snadno vybere formu a způsob podávání závisící na charakteru onemocnění, stádii nemoci a dalších okolnostech.

Přípravek podle vynálezu může obsahovat 2-[2-[4-[(4-chlorofenyl)fenylmethyl]-1-piperaziny]ethoxy]octovou

kyselinu a farmaceuticky přijatelné soli nebo jejich jednotlivé optické isomery samostatně nebo v kombinaci s nejméně jedním farmaceuticky přijatelným nosičem nebo excipientem, množství a látky jsou determinovány rozpustností a chemickými vlastnostmi přípravku vybraného na základě způsobu podávání přípravku a standardní farmaceutické praxe.

Nosič může být pevná, polotuhá nebo tekutá látka, která slouží jako vehikulum pro aktivní složku. Vhodné nosiče jsou známy.

Farmaceutické přípravky podle vynálezu pro orální podání mohou být ve formě tablet, kapslí, prášku, tinktury, sirupu, roztoku, suspenze a podobně.

Farmaceutický přípravek podle vynálezu může být upraven pro rektální použití a může být pacientovi podán ve formě čípku.

Nosič bude vybrán s ohledem na způsob podání a běžnou farmaceutickou praxi. Pro orální podání ve formě tablet nebo kapslí terapeuticky aktivní složka může být kombinována s jakýmkoliv orálně netoxickým, farmaceuticky přijatelným inertním nosičem, jako je laktóza nebo škrob. Farmaceutický přípravek podle vynálezu může také obsahovat pojidlo jako mikrokristalickou celulózu, tragant, nebo želatinu, dispergační činidlo jako je kyselina alginová, mazadlo jako magnezium stearát, kluznou látku jako koloidní oxid křemičitý, sladidlo jako je sacharóza, nebo sacharin, vybarvující nebo parfemující látky jako pepermint nebo metylsalicylát.

Pro snadné podávání jsou tablety a kapsle, s výhodou pro orální dávkování, jednotné. Jestliže je třeba, tablety mohou být potaženy standardními vodnými nebo nevodnými technikami, například cukrem, shellakem nebo dalšími potahovými činidly. Každá tableta nebo kapsle by měla obsahovat 5 mg až 50 mg aktivní složky.

Pro orální podání může být přípravek podle vynálezu ve formě roztoku nebo suspenze. Tyto přípravky budou obsahovat nejméně 0,1 % hmotn. aktivní složky v přípravku.

Tyto roztoky nebo suspenze mohou obsahovat jednu nebo více dalších složek: sterilní rozpouštědlo jako je voda pro injekce, fyziologický solný roztok, oleje, polyetylen glykoly, glycerin, propylenglykol nebo další syntetická rozpouštědla; antibakteriální látky jako benzylalkohol; antioxidanty jako askorbová kyselina nebo bisulfit sodný; chelatizační činidla jako etylentetraoctová kyselina; pufrý jako acetáty, citráty nebo fosfáty a složky udržující napětí jako chlorid sodný nebo dextróza. Přípravek může být uzavřen v ampulích, nebo v nádobkách pro více dávek vyrobených ze skla nebo z plastů.

Vynález je dále objasněn následujícími příklady popisujícími detailně přípravky podle vynálezu a jejich využití.

Ačkoliv je vynález popsán a jsou objasněny výhody v něm obsažené, odborníci v oboru mohou provádět různé změny, modifikace a náhrady aniž by se odchýlili od myšlenky vynálezu. Například může být aplikováno efektivní množství mimo doporučený rozsah stanovený vpředu s ohledem k aktivním složkám, jako důsledek rozdílů

citlivosti pacienta, síle symptomů, vzhledem k nepříznivým efektům, pokud byly nějaké pozorovány a podobným podmínkám. Proto jsou takové očekávané variace nebo rozdíly při využití vynálezu v praxi a získaným výsledky v souladu s předmětem vynálezu.

Příklady provedení

Materiály a metody

Ústojný roztok

Ústojný roztok používaný k promývání polymorfonukleárních buněk sestává ze 137 mM NaCl, 8 mM Na_2HPO_4 , 3 mM KH_2PO_4 , pH 7,4 (modifikovaný Dulbekův fosfátový pufr). Pro stimulaci byly vzorky buněk suspendovány v RPMI 1640 prostředku (Gibco BRL, Eggenstein, Germany).

Příprava polymorfonukleárních (PMN) neutrofilních granulocytů

Lidské granulocyty byly izolovány z 200 ml heparizované krve (15 U ml^{-1}) od zdravých dárců, odděleny po dextranové sedimentaci na Ficoll-metrizoate gradientu a dvojnásobným promytím ve 300 g. Touto metodou se získá více než 95 % čistý PMN. Buňky byly zředěny na konečnou hustotu 1×10^6 PMN.

Buněčná životaschopnost

Buněčná životaschopnost byla studována „trypan blue exclusion“, stanovením laktát dehydrogenázy (Boehringer, Mannheim, Germany), stanovením mitochondrické aktivity použitím WST-1 (Boehringer, Mannheim, Germany) u stimulovaných a nestimulovaných buněk. Způsoby stanovení byly popsány výrobcem (Boehringer, Mannheim, Germany).

Všechny experimenty probíhali za podmínek, kdy životaschopnost buněčných typů stanovená všemi třemi způsoby stanovení byla vyšší než 80 %.

Buněčná kultura

Hep-2 epiteliální buňky, epiteliální tumorová buněčná linie byly získány z americké sbírky kultur jako ATCC CCL 23 a byly kultivovány při 37°C v 5 % oxidu uhličitém v

modifikovaném pufru Dulbecco obsahujícího 5 % teplem inaktivované bovinní sérum, 4mM L-glutaminu a 80 µg/ml gentamicinu. Buňky byly subkultivovány 2 týdny.

Příprava viru

Příprava viru byla popsána R.Arnooldem a kol. v *Immunology* 82, 126-133 (1994). Surový produkt, respiračního viru (RSV), Long Strain (ATCC), byl vypěstován a testován v HEP-2 buňkách. Titr RSV byl stanoven v jednotce plakové metody (PFU-plaque-forming unit). Zásobní roztok virů použitý ve studii byl $5 \cdot 10^6$ PFU ml⁻¹. Zásobní roztok byl skladován při -70 °C. Obsah interleukinu-8 (IL-8) byl v zásobním roztoku v případě stanovení způsobem enzyme-linked immuno sorbent (ELISA) pod detekčním limitem. Nepřítomnost mykoplasmatické infekce byla ověřena specifickou mikoplasmatickou polymerní řetězovou reakcí (PCR).

Stimulace experimentů

Na lidské PNM ($1 \cdot 10^6$ ml⁻¹) bylo působeno různým ředěním RSV (10^3 - 10^7) plakových jednotek (PFU) odpovídajících četnosti infekcí (m.o.i.) od 0,001 do 10 v 1ml RPMI-1640 prostředí pro uváděné časové intervaly. Inkubace byla provedena jak v přítomnosti cetirizin dihydrochloridu tak i bez něj v uvedených koncentracích. Buněčný supernatant ze stimulovaných pokusů byl zahuštěn centrifugací a skladován při -70 °C až do použití pro analýzy. Buněčné supernatanty byly použity pro stanovení IL-8; buněčné sedimenty-pelety byly použity pro detekci genové ribonukleové kyseliny RSV_{SH}.

IL-8 stanovení

PNM byly suspendovány v RPMI prostředí o koncentraci 1×10^6 ml⁻¹. Buňky byly kultivovány v přítomnosti vhodného stimulans po dobu 24 hod. Kultura supernatantu byla zahuštěna a analyzována na obsah IL-8. Uvolňování IL-8 bylo sledováno použitím sandwich ELISA testem uvedeným vpředu. Každá jamka z 96 jamek mikrodestičky (Nunc Maxisorb, Roskilde, Denmark) byla přes noc při 4 °C převrstvena 100 µl ústojného roztoku/polyoxyetylen sorbitan monolaurátu (Produkt prodáváný pod označením Tween 20) (0,1%) obsahující anti IL-8 protilátky v koncentraci 5 µg ml⁻¹. Mikrodestičky byly 3x promyty ústojným roztokem/Tween, přidaly se příslušné vzorky

standardu IL-8 (recombinant human IL-8; Calbiochem, Bad Soden, Germany) a inkubace probíhala při 37 °C po dobu 2 hodin. Potom byla přidána alkalická fosfatáza vázaná na anti IL-8 protilátku. Po přidavku p-nitrofenylfosfátu (15 mg ml⁻¹) bylo pro stanovení použito čtecí zařízení pro ELISA test a pro výpočet Mikrotek Software (SLT Labinstrments, Crailsheim, Germany).

Analyza genové RSV-RNA

Analýza genové RNA specifické na RSV byla provedena spojenou reversní transkripcí a řetězovou polymerační reakcí PCR detekcí genové-RNA RSV šifrující malé hydrofobní proteiny (SH) RSF tak jak popsal R. Arnold a kol. v Immunology 82, 126-133 (1994). Veškerá RNA z PMN (1x 10⁶ ml⁻¹) neinfikovaných RSV jakož i z RSV-infikovaných byla extrahována použitím Trizolu (Gibco, Niedereggstein, Germany). Veškerá RNA byla rozpuštěna v 30 ml H₂O.

Interpretace genové RNA RSV_{SH} byla stanovena po reversní transkripci základní závitnice (sense primers) a PCR replikaci cDNA transkripce. Krok reversní transkripce vyžadoval aby reakční směs (konečný objem 20 ml) obsahovala 10 mM Tris-HCL (pH 8,3), 50 mM KCl, 5 mM MgCl₂, 1 mM desoxynukleotidů, 100 pM sense primers RSV_{SH}, 10 U RNase inhibitor, 10 ml RNA vzorku a 200 U reversní transkriptázy z Moloney- Murine-leukemia viru (Gibco, Eggenstein, Germany). Reversní transkripce byla prováděna při 37 °C po dobu 60 minut. Pro replikaci cDNA produktů polymerní řetězovou reakcí (PCR) reakční směs byla smíchána s 50 pM sense a antisense primers a 2 U Taq Polymerázou (Gibco, Eggenstein, Germany).

Produkty z 20, 25 a 30 pasáže (1 min., 94 °C; 2 min., 53 °C; 3 min., 72 °C) byly analysovány na agarovém gelu a vybarveny ethidium bromidem. Co se týče primers RSV_{SH} byly sense 5' - ACCAATGGAAAATACATCC - 3' ; antisense: 5' - TGAATGCTATGTGTTG - 3' . Podle již citovaného R.Arolda a kol. byl předpovězený počet základních párů RSV_{SH} replikovaného produktu 204.

Statistické analýzy

Jestliže není uvedeno jinak, všechna uvedená data jsou hodnoty nejméně ze 3 individuálních experimentů s buňkami od různých dárců.

Vliv cetirizinu na syntézu mRNA specifickou na RSV.

Nedávno jsme ukázali, že se do 24 hodin zabuduje genová RNA specifická na RSV do PMNs. Sledovali jsme vliv cetirizinu na interpretaci mRNA specifické na RSV po stimulaci lidského PMN RSV. Proto v prvním sledu experimentů bylo působeno lidské PMN ($1 \cdot 10^6 \text{ ml}^{-1}$) RSV v m.o.i. z 1-, 0,5 -, 0,05 -, 0,005 -, po dobu 2 hodin a 16 hodin. Výsledky těchto experimentů jsou uvedeny na obr.1: na lidské PMN ($1 \cdot 10^6/\text{ml}$) nebylo působeno RSV (pruhy 1,2 a 7,8) nebo na ně bylo působeno s RSV (1 m.o.i.: pruhy 3, 9; 0,5 m.o.i.: pruhy 4, 10; 0,05 m.o.i.: pruhy 5, 11; 0,005 m.o.i.: pruhy 6, 12) po dobu 2 hodin (pruhy 1-6) a po dobu 16 hodin (pruhy 7 - 12) při 37 °C. V buněčném sedimentu byla stanovena interpretace mRNA specifická pro RSV z SH genu RSV. Šipka označuje replikovaný PCR produkt. M:123 základních párů v sekvenci (Gibco BRL, Eggenstein, Germany).

Obr. 1 znázorňuje, že se s prodlužující inkubační dobou uvnitř PMN zvyšuje mRNA specifická na RSV.

Dále bylo na lidské PMN ($1 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$) působeno RSV při m.o.i. v přítomnosti cetirizinu nebo bez něj. Výsledky těchto pokusů jsou uvedeny na obr. 2: na lidské PMN se nepůsobilo RSV (pruh 1), (pruh 2) působilo se RSV (1 m.o.i.) bez přítomnosti cetirizinu, (pruhy 3 až 7) se působilo RSV v přítomnosti cetirizinu v koncentraci (100-, 10-, 1-, 0,1-, 0,001 $\mu\text{g} / 10^6 \text{ PMN}$). Inkubace probíhala po dobu 2 hod. (obr 2A) a 16 hod. (obr. 2B) při 37 °C.

V buněčném sedimentu byl stanoven metodou RT-PCR RSV-SH gen mRNA specifické na RSV. Šipka ukazuje na replikovaný produkt příslušné velikosti M: 123 základních párů v sekvenci (Gibco BRL, Eggenstein, Germany). Obrázky 2 ukazují, že přidávek cetirizinu inhibuje interpretaci malého hydrofobního SH genu mRNA specifické na RSV. Při všech koncentracích cetirizinu bylo pozorováno snížení mRNA specifické na RSV. Navíc snížení obsahu mRNA specifické na RSV indikuje snížení opakování virové infekce. Je třeba poznamenat, že nikdy předtím u histaminu nebyla pozorována takováto inhibice opakování virové infekce.

Vliv cetirizinu na uvolňování IL-8 způsobeného RSV z lidských PMN.

Na lidské PMN ($1 \cdot 10^6 \text{ ml}^{-1}$) bylo působeno RSV při četnosti infekcí 1 v nepřítomnosti nebo v přítomnosti cetirizin dihydrochloridu (100-, 10-, 1-, 0,1-, 0,01 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) po cel-

kovou inkubační dobu při 37 °C. U kontrolního vzorku se na buňky působilo cetirizinem (100-, 10-, 1-, 0,1-, 0,01 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) nebo bez něj, v nepřítomnosti RSV (regulace pufrem). Buněčný supernatant byl analysován na uvolňování IL-8 Elisa-testem. Výsledky těchto pokusů jsou uvedeny v obr.3: uvedené hodnoty jsou střední a standardní odchylky z osmi nezávislých pokusů. Obr. 3 ukazuje, že cetirizin dihydrochlorid (dále cetirizin) snižuje uvolňování IL-8 způsobené RSV. Vlivy cetirizinu jsou závislé na dávkování. Z tohoto pohledu cetirizin o koncentraci větší než 0,01 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ a menší než 100 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ vede ke značnému poklesu uvolňování IL-8 způsobeného RSV. Po inkubační době 24 hodin rovněž tak jako při koncentracích RSV až do 5 m.o.i. byly získány podobné výsledky. Je nutno poznamenat, že taková interference mezi antihistaminem a uvolňováním IL-8 způsobeném RSV nebyla nikdy pozorována.

Vliv cetirizinu na uvolňování IL-8 způsobené RSV.

Další zkoušky byly provedeny pro zjištění vlivu cetirizinu na průběh uvolňování IL-8 způsobeného RSV. Na lidské PMN ($1 \cdot 10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$) bylo působeno RSV (1 m.o.i.) a cetirizinem (100 μg , 10 μg , 1 μg , 0,1 μg , 0,01 μg). Cetirizin byl přidán ihned po začátku působení RSV (obr.4a), po 30 minutách (obr.4b), nebo po 60 minutách (obr. 4c) nebo po 90 minutách (obr. 4d). Celková inkubace trvala 2 hodiny při 37 °C. U buněčného supernatantu bylo sledováno uvolňování IL-8 Elisa-testem. Naše údaje ukazují, že cetirizin snižuje průběh uvolňování IL-8 způsobeného RSV. Většina uvedených vlivů byla pozorována, když cetirizin byl přidán na počátku působení RSV. Potlačení uvolňování IL-8 způsobeného RSV bylo nejvýraznější pro koncentrace v rozmezí 0,01 až 10 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$.

PATENTOVÉ NÁROKY

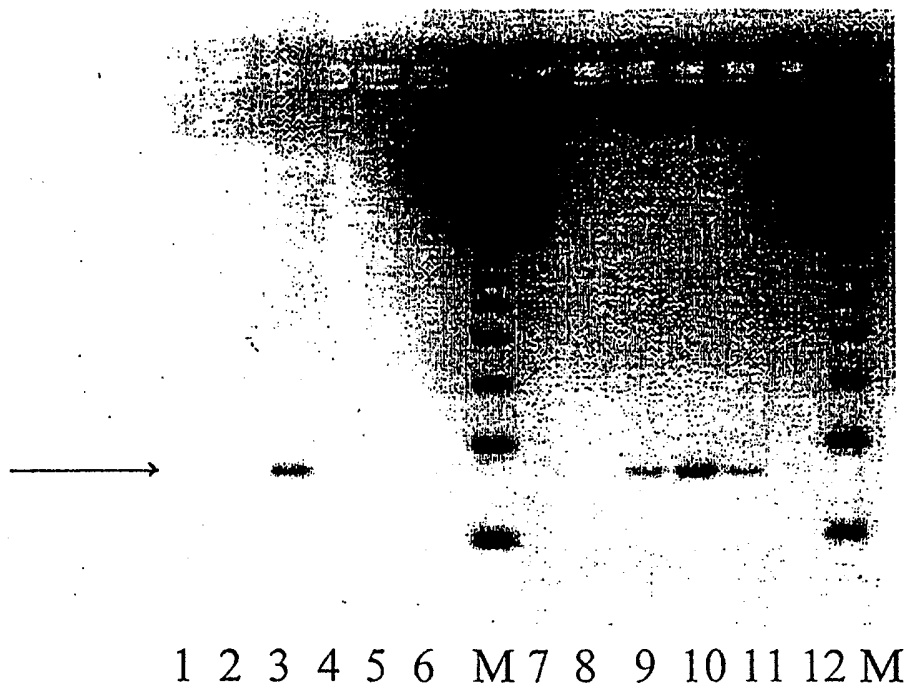
1. Použití [2-[4-[(4-chlorofenyl)fenylmethyl]-1-piperaziny]ethoxy]octové kyseliny ve formě jednotlivých optických isomerů nebo jejich farmaceuticky vhodných solí, jakožto aktivní složky pro přípravu farmaceutického přípravku pro inhibici opakovaných onemocnění respiračním - syncytiálním virem u lidí.
2. Použití podle nároku 1, vyznačující se tím, že farmaceutický přípravek je ve formě dávek, obsahujících 5 mg až 50 mg aktivní složky.
3. Použití podle nároku 1, k léčbě nemocí vybraných ze skupiny, tvořené akutní bronchitidou a virovou pneumonií.
4. Použití podle nároku 1, vyznačující se tím, že farmaceutický přípravek dále obsahuje nejméně jeden farmaceuticky přijatelný nosič nebo excipient.
5. Použití podle nároku 1 až 4, vyznačující se tím, že farmaceutický přípravek je ve formě vhodné pro orální použití.
6. Použití podle nároku 5, vyznačující se tím, že farmaceutický přípravek je ve formě tablet, kapslí, prášku, tinktury, sirupu, roztoku, nebo suspenze.
7. Použití podle nároku 1 až 4, vyznačující se tím, že farmaceutický přípravek je ve formě vhodné pro rektální použití.
8. Použití podle nároku 7, vyznačující se tím, že farmaceutický přípravek je ve formě čípku.
9. Použití podle nároku 6, vyznačující se tím, že farmaceutický přípravek je ve formě roztoku nebo suspenze, obsahující nejméně 0,10 % hmotn. aktivní složky.

830-99

12.03.99

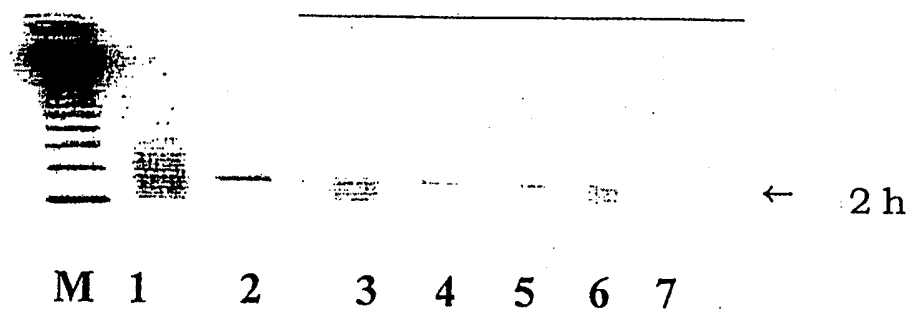
1/4

Obr. 1

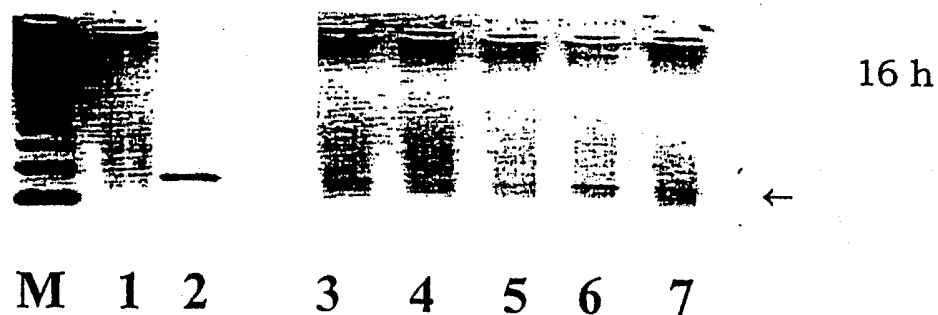


obr.2

A)



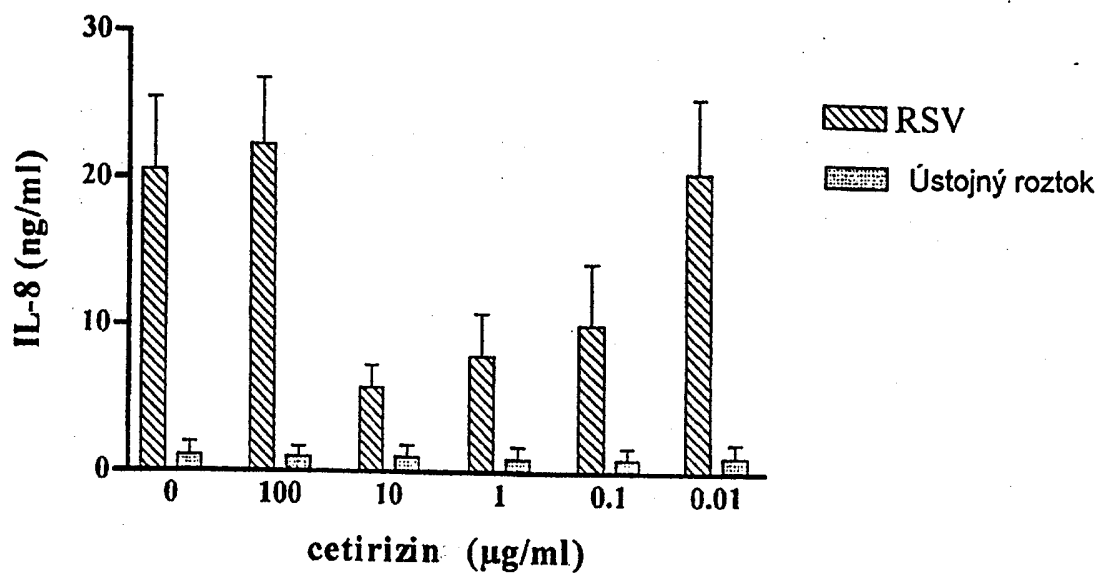
B)



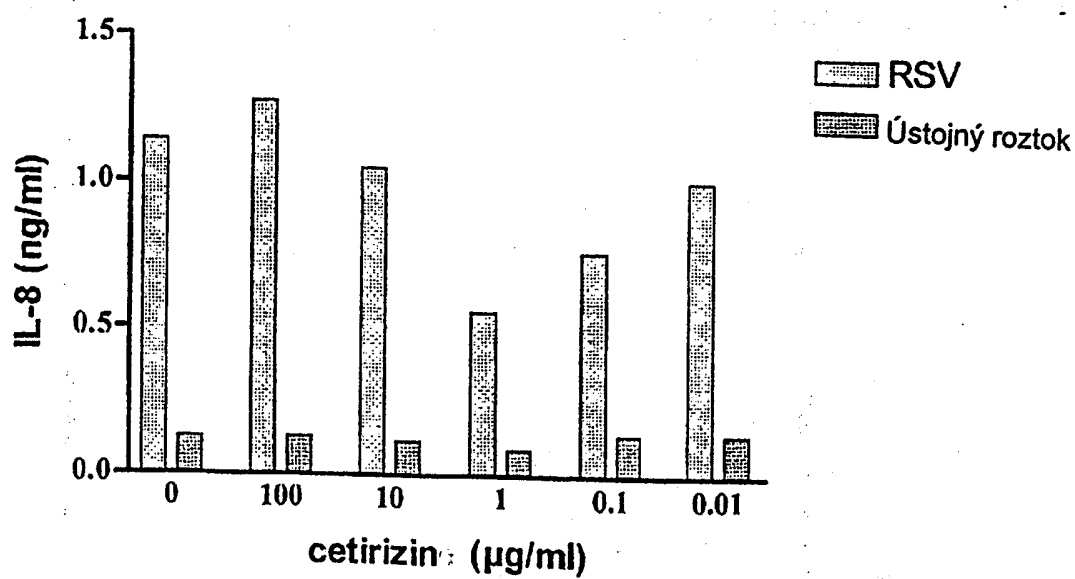
830-99
12.03.99

2/4

obr. 3

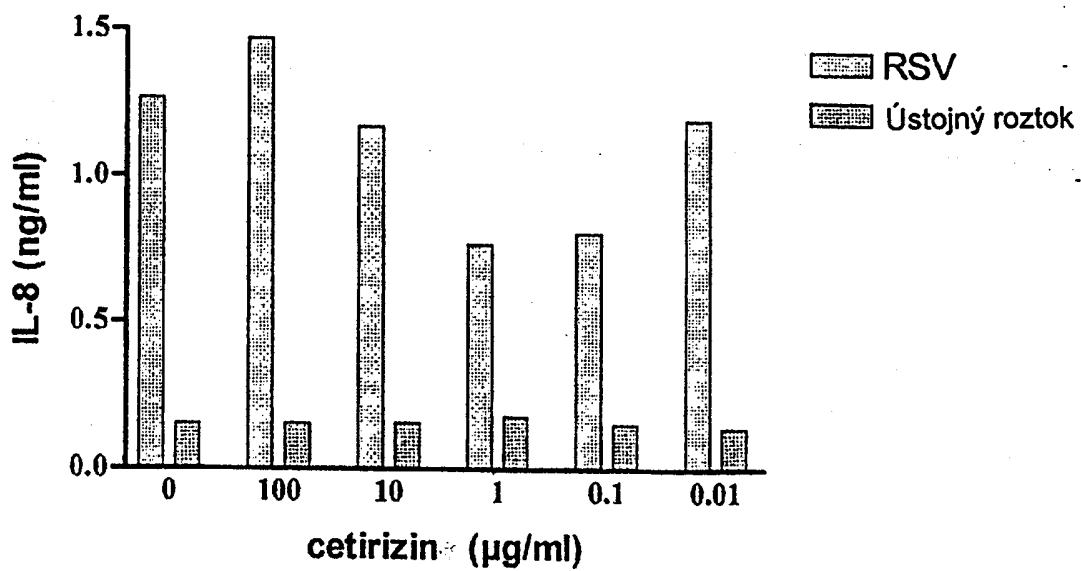


obr. 4 A

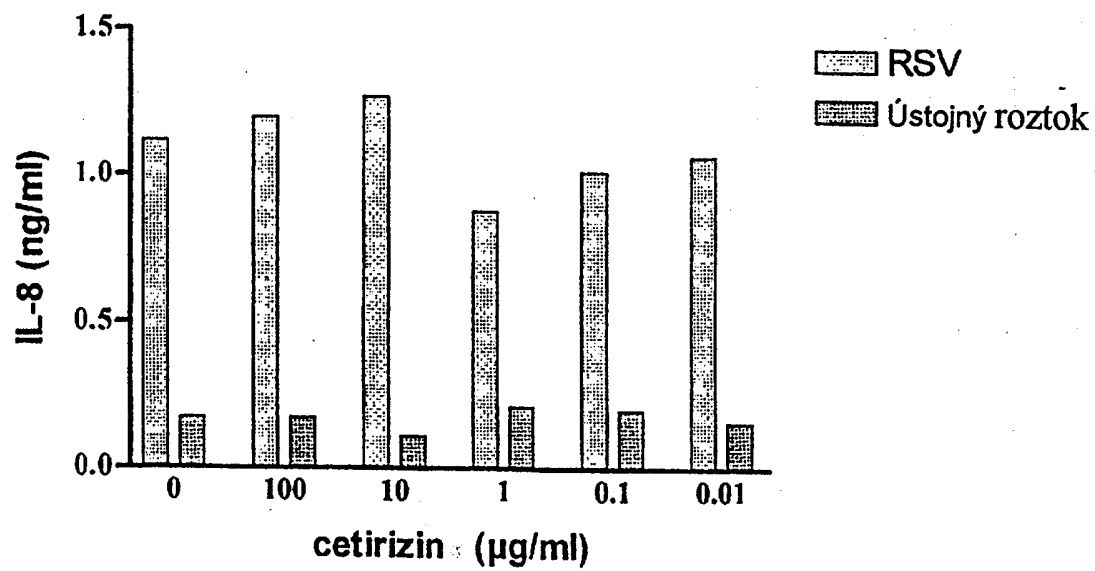


3/4

obr. 4 B



obr. 4 C



830-99

12.03.99

4/4

obr. 4 D

