



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(51) МПК
A61K 31/205 (2006.01)
A61K 31/7072 (2006.01)
A61P 31/18 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: **2001119623/14**, **16.07.2001**
(24) Дата начала действия патента: **16.07.2001**
(30) Приоритет: **03.08.1995** (пп.1-20) **IT RM95A000544**
(43) Дата публикации заявки: **20.04.2003**
(45) Опубликовано: **10.02.2006** Бюл. № 4
(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **Yahi N. et al. Interferon-gamma decreases cell surface expression of galactosyl ceramide, the receptor for HIV-1 GP120 on human colonic epithelial cells // Virology. 1994 Nov 1; 204(2): 550-7, abstr. PubMed на сайте <http://www.pubmed.com>. US 5,314,689, 24.05.1994, весь документ. EP 0560275 A1, 15.09.1993, весь документ. Semino-Mora M.C. et al. The(см. прод.)**

Адрес для переписки:
**129010, Москва, ул. Б.Спасская, 25, стр.3,
ООО "Юридическая фирма Городисский и
Партнеры", пат.пов. Г.Б. Егоровой**

(72) Автор(ы):
МОРЕТТИ Сония (IT)
(73) Патентообладатель(ли):
**СИГМА-ТАУ ИНДУСТРИЕ ФАРМАСЬЮТИКЕ
РИУНИТЕ С.П.А. (IT),
МЕНДЕС С.П.Л. (IT)**

(54) СПОСОБ СНИЖЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ЦЕРАМИДОВ, НАБОР, ВКЛЮЧАЮЩИЙ АНТИРЕТРОВИРУСНОЕ ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО

(57) Реферат:
Изобретение относится к области медицины, к лечению ВИЧ-инфекции и СПИДа, и включает способ снижения содержания церамидов у пациента с указанными состояниями и набор для его осуществления. Пациенту вводят лекарственный препарат, включающий L-карнитин или ацил-L-карнитин, в котором ацильная группа, линейная или разветвленная, имеет 2-6 атомов углерода, или их фармакологически приемлемых солей, в сочетании с антиретровирусным лекарственным препаратом, выбранным из группы нуклеозидоподобных ингибиторов обратной транскриптазы, нуклеозидных ингибиторов

обратной транскриптазы, ингибиторов ВИЧ-протеазы. При этом набор для снижения церамидов включает антиретровирусное лекарственное средство из вышеуказанной группы и усиливающее средство, выбранное из группы, состоящей из L-карнитина или ацил-L-карнитина, в котором ацильная группа, линейная или разветвленная, имеет 2-6 атомов углерода, или их фармакологически приемлемых солей или смесей. Изобретение позволяет повысить активность антиретровирусных средств и защитить иммунную систему за счет снижения концентрации церамида, подавляя таким образом ВИЧ-экспрессию и клеточный апоптоз. 2 н. и 18 з.п. ф-лы, 2 табл.

(56) (продолжение):
effect of L-carnitine on the AZT-induced destruction of human myotubes. Part II: Treatment with L-carnitine improves the AZT-induced changes and prevents further destruction // Lab Invest. 1994 Nov; 71(5): 773-81, abstract PubMed на сайте <http://www.pubmed.com>.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.

A61K 31/205 (2006.01)*A61K 31/7072* (2006.01)*A61P 31/18* (2006.01)**(12) ABSTRACT OF INVENTION**(21), (22) Application: **2001119623/14, 16.07.2001**(24) Effective date for property rights: **16.07.2001**(30) Priority: **03.08.1995 (cl.1-20) IT RM95A000544**(43) Application published: **20.04.2003**(45) Date of publication: **10.02.2006 Bull. 4**

Mail address:

**129010, Moskva, ul. B.Spaskaja, 25, str.3,
OOO "Juridicheskaja firma Gorodisskij i
Partnery", pat.pov. G.B. Egorovoj**

(72) Inventor(s):

MORETTI Sonija (IT)

(73) Proprietor(s):

**SIGMA-TAU INDUSTRIE FARMAS'JU TIKE
RIUNITE S.P.A. (IT),
MENDES S.R.L. (IT)**

(54) METHOD FOR DECREASING CERAMIDE CONTENT, SET COMPRISING ANTIRETROVIRAL MEDICINAL AGENT

(57) Abstract:

FIELD: medicine, virology, pharmacy.

SUBSTANCE: invention relates to treatment of HIV-infection and AIDS and involves a method for decreasing the content of ceramides in a patient suffering these diseases and a set for its realization. Method involves administration in a patient the medicinal preparation comprising L-carnitine or acyl-L-carnitine wherein a linear or branched acyl group comprises 2-6 carbon atoms, or their pharmacologically acceptable salts in combination with an antiretroviral medicinal preparation taken among the group of nucleoside-like inhibitors of reverse transcriptase, non-nucleoside inhibitors of reverse transcriptase, inhibitors of HIV protease. A set for decreasing

the content of the content of ceramides involves an antiretroviral medicinal agent taken among the abovementioned group and enhancing agent taken among the group consisting of L-carnitine or acyl-L-carnitine wherein linear or branched acyl group comprises 2-6 carbon atoms, or their pharmacologically acceptable salts or mixtures. Invention provides enhancing activity of antiretroviral agents and to protect immune system due to decreasing the concentration of ceramides that results to inhibition of HIV expression and cellular apoptosis.

EFFECT: improved and valuable medicinal properties of agent.

20 cl, 2 tbl, 2 ex

Настоящее изобретение относится к способу снижения содержания церамидов при ВИЧ-инфекции и СПИДе путем введения L-карнитина, его производных и фармакологически пригодных солей в сочетании с антиретровирусными лекарственными препаратами для лечения ВИЧ-инфекции и СПИДа. Более подробно, настоящее изобретение относится к способу с использованием L-карнитина, ацил-L-карнитинов, где ацильная группа, линейная или разветвленная, имеет 2-6 атомов углерода, и их фармакологически приемлемых солей в сочетании с нуклеозидоподобными ингибиторами обратной транскриптазы, ненуклеозидными ингибиторами обратной транскриптазы, и ингибиторами ВИЧ-протеазы для снижения содержания церамидов и повышения активности указанных антиретровирусных лекарственных препаратов у ВИЧ-инфицированных пациентов.

Большинство патогенных механизмов, которые вносят вклад в прогрессирование инфекции, вызванной вирусом иммунодефицита человека 1 и 2 (ВИЧ-1, ВИЧ-2), прямо или косвенно касаются состояния общей активации иммунной системы.

Хроническая активация иммунной системы активирует вирусную репликацию через секрецию ряда цитокинов, благоприятствующих экспрессии ВИЧ, и путем сохранения резерва активированных иммунных клеток, которые действуют как мишени для ВИЧ и способствуют его репликации.

Кроме того, состояние устойчивой активации иммунной системы индуцирует патологии такой природы (например, повышенный апоптоз), которые ведут к ослаблению иммунных реакций.

Таким образом, имеем порочный круг: прогрессивная утрата нормального функционирования иммунной системы → вирусное дессиминирование - пониженная элиминация вируса → хроническая активация иммунной системы. Данный процесс может длиться годы до тех пор, пока не происходит указанное истощение иммунной системы, что ведет к неконтролируемой вирусной репликации и атаке условно-патогенных инфекций или к развитию синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИД).

На основании описанных выше патогенных механизмов становится ясно, что нужно иметь в виду любое анти-ВИЧ лечение, снижающее вирусную репликацию и блокирующее истощение иммунной системы.

Что касается антиретровирусной терапии, к сожалению, ВИЧ характеризуется высокой степенью генетической изменчивости, происходящей, главным образом, при очень существенном недостатке обратной транскриптазы. Ретровирусный фермент лишает ферментативные системы контроля возможных ошибок транскрипции. Результатом является появление вариантов вируса - сверх диапазона, который является функцией вирусной репликации - которые отвечают за прогрессивное отклонение иммунной системы и сопротивляемости антиретровирусным лекарствам. В случае зидовудина (zidovudine - AZT, ZDV) потеря клинической эффективности в ситуациях монотерапии является широко признанным фактом. Даже открытые в последнее время антиретровирусные агенты, например, зальцитабин [ddc], диданозин [ddl] и ламивудин [ЗТС] страдают от такого недостатка.

Недавно было продемонстрировано, что церамид стимулирует ВИЧ-экспрессию. Более того, церамид является одним из факторов, способных индуцировать клеточный апоптоз, явление, которое усиливается у людей с ВИЧ-инфекцией и которое вносит вклад в снижение количества TCD4 и TCD8 лимфоцитов. Таким образом, ясно, что изменения концентрации или метаболизма церамида может влиять на вирусную нагрузку и клеточный апоптоз у ВИЧ-инфицированных пациентов (Parr B. и др., AIDS, Res. Hum. Retrovirus, 10(7), 775-80).

К удивлению, обнаружено, что L-карнитин, его производные, а именно, ацил-L-карнитины, в которых ацильная группа, линейная или разветвленная, имеет 2-6 атомов углерода, и их фармакологически пригодные соли ингибируют синтез церамида, по крайней мере, на 25%, а когда их используют в сочетании с антиретровирусными лекарственными препаратами, такими как, например, AZT, ставудин [4dT], фтортимидин [FLT], азидоуридин [Azdu], фосфонированные ациклические нуклеозиды [PMEA], ВИЧ-1

специфические нуклеозиды [TSAO], зальцитабин [ddC], диданозин [ddI] и ламивудин [3TC], дипиридодиазепиноны, тетрагидроимидазобензодиазепиноны, пиридоны или L-лекарственные препараты, бис-гетероарилпиперазины, производные альфа-анилинофенилацетамида, производные хиноксалина, Ro-31-8959, U-81749, KNI-227, SC-52151, NOE/BAY 793 и подобные, повышают антиретровирусную активность и защиту иммунной системы, на которую оказывают влияние эти лекарственные препараты.

Фармацевтически приемлемые соли L-карнитина или ацил-L-карнитина включают в дополнение к внутренним солям любые соли этих веществ с кислотами, которые не вызывают нежелательных токсических или побочных эффектов. Такие кислоты хорошо известны специалистам фармакологам и экспертам по фармацевтической технологии.

Неограничивающие примеры подходящих солей включают хлорид; бромид; иодид; аспарат, в частности, кислый аспарат; цитрат, в частности, кислый цитрат; тартрат; фосфат, в частности, кислый фосфат; фумарат, в частности, кислый фумарат; глицерофосфат; фосфат глюкозы; лактат; малеат, в частности, кислый малеат; оротат; оксалат, в частности, кислый оксалат; сульфат, в частности, кислый сульфат; трихлорацетат; трифторацетат и метансульфонат.

Особо предпочтительны L-карнитин, ацетил, пропионил, бутирил, валерил и изовалерил-L-карнитин.

Совместное введение L-карнитина и его производных, как определено выше, вместе с антиретровирусным агентом обычно осуществляют оральным или парентеральным способом в суточной дозе от 1 до 500 мг/кг, особо предпочтительны дозы от 20 до 100 мг/кг, при соотношении L-карнитина и его определенных выше производных и антиретровирусного агента в диапазоне от 1:40 до 40:1, особо предпочтительно соотношение от 1:10 до 10:1.

Обычно вводят препарат в виде стандартной дозированной формы, включающей оба активных ингредиента, которая может также включать наполнители и дополнительные активные ингредиенты, хорошо известные специалистам, такие как, например, декстран, TNF-альфа ингибиторы (например, пентоксифиллин), глутатион и другие антиоксидантные лекарственные препараты (например, ацетилцистеин, иммуномодуляторные лекарственные препараты, иммунодепрессивные или химиотерапевтические агенты, витамины и олигоэлементы).

Наконец, необходимо отметить, что, судя по всему, другие основные аминокислоты, в частности, лизин, ацильные производные основных аминокислот и их фармацевтически приемлемые соли способны снижать содержание церамидов и повышать активность антиретровирусных лекарственных препаратов для терапии ВИЧ-инфекции и СПИДа.

Целью приведенных ниже примеров является иллюстрация данного изобретения, их нельзя истолковывать как ограничивающие каким-либо образом объем изобретения.

Пример 1

Оценивали эффект от введения сочетания L-карнитина (8 г в день перорально в течение 4 недель) плюс AZT (600 мг в день перорально) 13 пациентам, страдающим от СПИДа, с нормальными сывороточными и внутриклеточными уровнями карнитина и ацетилкарнитина, которых до этого лечили AZT (600 мг в день перорально) в течение, по крайней мере, 6 месяцев.

Определения проводили до лечения сочетанием, когда пациенты принимали только AZT (T0), через 4 недели терапии сочетанием L-карнитин-AZT (T1) и один месяц спустя после прекращения лечения L-карнитином (T2), оставляя пациентам только AZT терапию. Измеряли TCD4 лимфоциты путем проточной цитометрии при помощи специфических моноклональных антител (количество лимфоцитов на мм³) и утраченные лимфоциты методом проточной цитометрии после окрашивания пропидиумиодидом, количественного определения клеток с гиподиплоидными ядрами (количество лимфоцитов на 50000 клеток). Вирусную нагрузку (количество вирусных частиц на мл сыворотки) определяли путем количественного определения HVI-1 РНК при помощи полимеразной цепной реакции (система детектирования Роше: Amplicor HIV detection system by Roche). Для

статистической обработки использовали тест Wilcoxon.

Результаты приведены ниже в таблице 1.

Пациент	ТCD4 лимфоциты/мм ³			Утраченные лимфоциты / 50000 клеток			ВИЧ (вирусные частицы на мл)	
	T0	T1	T2	T0	T1	T2	T0	T1
1	195	211	172	85	59	130	3500	900
2	239	254	264	112	37	84	2400	1600
3	172	176	176	90	29	35	2800	1600
4	254	287	279	91	40	39	1700	1500
5	141	165	165	59	47	66	62000	1100
6	125	205	146	280	81	36	2200	2000
7	40	51	47	41	26	88	3800	3100
8	309	423	411	82	67	41	5900	3900
9	303	502	402	102	20	41	5300	3300
10	47	46	43	65	42	64	2300	2300
11	120	120	116	52	52	55	1400	1400
12	52	60	41	148	111	104	900	1300
13	26	378	378	113	38	54	43000	7000
среднее значение	178	221	203	101	50	64	10553	2384
среднеквадратичное отклонение	101	144	133	61	25	64	19070	1661
статистическое значение		0,001	0,02		0,001	0,04		0,004

У одних и тех же пациентов уровни лимфоцит-церамида, измеренные посредством исследования DAG (диацилглицерин/киназы (Cifone M.G. и др., J. Exp. Med., 180(4), 1547-52), снизившиеся с 48 ± 8 пикомолей/ 10^6 лимфоцитов [измерено до лечения комбинацией (T0)] до 27 ± 5 пикомолей/ 10^6 лимфоцитов (T1) ($P < 0,01$), снова возрастает до 38 ± 9 пикомолей/ 10^6 лимфоцитов через месяц после прекращения введения L-карнитина (T2).

Эти результаты ясно показывают, что лечение только AZT, даже продолжающееся более 6 месяцев (T0), не может дать таких иммунологических и вирусологических улучшений, которых можно достичь, принимая сочетание L-карнитин-AZT в течение лишь 4 недель (T1). Эти улучшения имеют тенденцию снижаться после прекращения лечения (T2).

Пример 2

Четверых пациентов со СПИДом лечили, давая по 600 мг AZT ежедневно перорально. Двое из них принимали также L-карнитин по 3 г в день. Общая продолжительность лечения составляла 6 месяцев. До и после лечения проводили биопсии мышц. Содержание церамида в клетках мышц определяли до и после лечения после разрушения клеток ультразвуком и гомогенизации материала биопсии. Вирусную нагрузку определяли в тех же гомогенатах, как описано в Примере 1.

Результаты представлены ниже в таблице 2.

	До лечения церамид (пикомолей/мг протеина)	После лечения церамид (пикомолей/мг протеина)	До лечения ВИЧ (вир. частиц/мг протеина)	После лечения ВИЧ (вир. частиц/мг протеина)
Пациент 1 (AZT)	89	95	3800	4100
Пациент 2 (AZT)	95	103	5900	5800
Среднее значение	92	99	4850	4950

Среднеквадратичн. откл.	4	6	1485	1202
Статистич. значение		нет стат.		нет стат.
Пациент 3 (AZT+L-карнитин)	129	39	10200	3200
Пациент 4 (AZT+L-карнитин)	79	27	5100	1300
Среднее значение	104	33	7650	4950
Среднеквадратич. откл.	35	8	3606	1344
Статистич. значение		0,01		0,05

Ясно, что лечение сочетанием L-карнитин-AZT заметно более эффективно в снижении вирусной нагрузки и содержания церамида, также содержания в мышцах, по сравнению с лечением одним только AZT.

5

Формула изобретения

1. Способ снижения содержания церамидов при ВИЧ-инфекции и СПИДе путем введения пациенту лекарственного препарата, включающего L-карнитин или ацил-L-карнитин, в котором ацильная группа, линейная или разветвленная, имеет 2-6 атомов углерода, или их фармакологически приемлемых солей в сочетании с антиретровирусным лекарственным препаратом, выбранным из группы нуклеозидоподобных ингибиторов обратной транскриптазы, нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы, ингибиторов ВИЧ-протеазы.

10

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что вводят L-карнитин.

15

3. Способ по п.1, отличающийся тем, что ацил-L-карнитин является изовалерил-L-карнитином.

4. Способ по п.1, отличающийся тем, что пациент, подлежащий лечению, имеет нормальное сывороточное и внутриклеточное содержание карнитина и ацетилкарнитина.

20

5. Способ по п.1, отличающийся тем, что L-карнитин или ацил-L-карнитин и азидотимидин вводят, по меньшей мере, в течение 4 недель, и суточная доза L-карнитина, или ацил-L-карнитина, или азидотимидина составляет от 1 до 500 мг/кг.

6. Способ по п.5, отличающийся тем, что L-карнитин, ацил-L-карнитин вводятся орально в количестве 8 г/сутки, по меньшей мере, в течение 4 недель.

25

7. Способ по п.6, отличающийся тем, что пациенты предварительно в течение, по меньшей мере, 6 месяцев получали лечение только антиретровирусным лекарственным препаратом.

8. Способ по п.7, отличающийся тем, что антиретровирусное лекарственное средство выбирают из группы, состоящей из нуклеозидоподобных ингибиторов обратной транскриптазы, нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы и ингибиторов ВИЧ-протеазы.

30

9. Способ по п.8, отличающийся тем, что антиретровирусный лекарственный препарат представляет собой азидотимидин.

10. Способ по п.1 для уменьшения содержания церамидов в мышцах пациента, страдающего СПИДом, включающий введение указанному пациенту антиретровирусного лекарственного препарата и L-карнитина в течение 4 недель.

35

11. Способ по п.6, отличающийся тем, что L-карнитин, ацил-L-карнитин вводят в количестве 3 г/сутки в течение 6 месяцев.

12. Способ по любому из пп.1-11, отличающийся тем, что количество L-карнитина или ацил-L-карнитина таково, что суточная доза его или антиретровирусного лекарственного средства составляет от 1 до 500 мг/кг и соотношение между L-карнитином или ацил-L-карнитином и антиретровирусным лекарственным средством составляет от 1:40 до 40:1.

40

13. Набор для снижения содержания церамидов при ВИЧ-инфекции и СПИДе, включающий антиретровирусное лекарственное средство и усиливающее средство, выбранное из группы, состоящей из L-карнитина, ацил-L-карнитина, в котором ацильная группа имеет 2-6 атомов углерода, и их фармакологически приемлемых солей или смесей.

45

14. Набор по п.13, отличающийся тем, что антиретровирусное лекарственное средство выбрано из группы, состоящей из нуклеозидоподобных ингибиторов обратной транскриптазы, нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы и ингибиторов ВИЧ-протеазы.

50

15. Набор по п.13, отличающийся тем, что антиретровирусное лекарственное средство представляет азидотимидин.

16. Набор по любому из пп.13-15, отличающийся тем, что антиретровирусное лекарственное средство и/или усиливающее средство представлены, по крайней мере, вместе с одним фармакологически приемлемым наполнителем.

17. Набор по любому из пп.13-16, отличающийся тем, что количество усиливающего средства таково, что суточная доза усиливающего средства или антиретровирусного лекарственного средства составляет от 1 до 500 мг/кг, и соотношение между усиливающим средством и антиретровирусным лекарственным средством составляет от 1:40 до 40:1.

5 18. Набор по любому из пп.13-16, отличающийся тем, что количество усиливающего средства таково, что суточная доза усиливающего средства или антиретровирусного лекарственного средства составляет от 20 до 100 мг/кг, и соотношение между усиливающим средством и антиретровирусным лекарственным средством составляет от 1:10 до 10:1.

10 19. Набор по любому из пп.13-18, отличающийся тем, что антиретровирусное лекарственное средство и/или усиливающее средство представлены в форме для орального или парентерального введения.

15 20. Набор по любому из пп.13-19, отличающийся тем, что антиретровирусное лекарственное средство и/или усиливающее средство представлены вместе, по меньшей мере, с одним компонентом, выбранным из группы, состоящей из декстрана, ингибиторов альфа-TNF, антиоксидантных лекарственных средств, иммуномодуляторов, иммуносупрессоров, химиотерапевтических средств, витаминов и олигоэлементов.

20

25

30

35

40

45

50