

# UŽITNÝ VZOR

(11) Číslo dokumentu:

## 31 559

(13) Druh dokumentu: **U1**

(51) Int. Cl.:

**A61K 38/21** (2006.01)

**A61K 31/05** (2006.01)

**A61K 47/20** (2006.01)

(19)  
ČESKÁ  
REPUBLIKA



ÚŘAD  
PRŮMYSLOVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2018-34616**  
(22) Přihlášeno: **24.01.2018**  
(47) Zapsáno: **06.03.2018**

- (73) Majitel:  
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích,  
České Budějovice, České Budějovice 2, CZ
- (72) Původce:  
RNDr. Ján Štěrba, Ph.D., České Budějovice, České  
Budějovice 2, CZ  
Hana Mašková, Litvínovice, CZ  
prof. Ing. Jan Tríska, CSc., České Budějovice,  
České Budějovice 2, CZ  
RNDr. Pavlína Věchtová, Pardubice, Polabiny, CZ  
Mgr. Martin Selinger, České Budějovice, České  
Budějovice 2, CZ  
RNDr. Naděžda Vrchotová, CSc., České  
Budějovice, České Budějovice 2, CZ
- (74) Zástupce:  
PatentCentrum Sedlák & Partners s.r.o., Husova tř.  
1847/5, 370 01 České Budějovice, České  
Budějovice 3

- (54) Název užitného vzoru:  
**Přípravek pro léčbu či profylaxi infekcí  
způsobených flaviviry, zejména virem  
klíšťové encefalitidy**

CZ 31559 U1

## **Přípravek pro léčbu či profylaxi infekcí způsobených flaviviry, zejména virem klíšťové encefalitidy**

### 5 Oblast techniky

Technické řešení se týká oblasti zdravotnictví, konkrétně přípravku pro léčbu či profylaxi infekcí způsobených flaviviry, zejména virem klíšťové encefalitidy.

10

### Dosavadní stav techniky

Flavivirové infekce jsou v současnosti významným zdravotnickým rizikem a jsou původcem závažných onemocnění především centrálního nervového systému. Mezi původce těchto infekcí se řadí viry, jako jsou virus klíšťové encefalitidy, virus horečky západního Nilu, Dengue virus, virus Zika a další. Pro některé viry jsou aktuálně dostupné vakcíny, které jsou ale relativně drahé a proto také je proočkovanost populace dostatečně vysoká jen v některých státech. U většiny populace vystavené přenašečům těchto virů, jako jsou komáři či klíšťata, je ale proočkovanost nízká až nulová. U mnoha jiných flavivirových infekcí ale vakcíny dosud nejsou dostupné, příkladem je virus Zika, který je původcem celosvětové epidemie. Obecně lze také říci, že pro tyto infekce nemáme dostupná antivirotika, které by bylo možné použít při léčbě.

Klíšťová encefalitida je infekční virové onemocnění napadající mozek a mozkové blány. Relativně účinnou prevencí klíšťové encefalitidy je očkování, jelikož se však klíšťová encefalitida vyskytuje v řadě typů a očkování nebývají komplexní, je třeba zvolit očkovací látku postihující rizika dané oblasti, např. střední Evropy. Očkování proti konkrétním typům poskytuje i částečnou imunitu proti sérologicky příbuzným typům, ale tato poučka neplatí zcela obecně. Očkování se doporučuje u lidí pracujících v rizikových profesích či zabývajících se rizikovými činnostmi jako jsou např. tábory v přírodě. Jedinou léčbu klíšťové encefalitidy představuje podpůrná léčba, tedy vitamíny a léky tlumící sekundární projevy nemoci a klid na lůžku. U závažných případů se podává interferon. Interferony jsou skupinou cytokinů hrající důležitou roli v regulacích imunitního systému, buněčné proliferace a diferenciaci. Jedná se o glykoproteiny produkované především buňkami imunitního systému, ale i jinými buněčnými typy jako jsou například fibroblasty. Jejich syntéza je vyvolána patogenními, nádorovými či mitogenními podněty. Existují tři skupiny interferonů, přičemž všechny interferony se do určité míry podílejí na antivirové odpovědi imunitního systému a svým působením na buňky v nich vyvolávají antivirový stav.

Další z možností při léčbě flavivirových onemocnění je využití látek ze skupiny stilbenů, zejména resveratrolu. Resveratrol neboli trans-3,4',5-trihydroxystilben je přírodní antioxidant, polyfenol a derivát stilbenu vyskytující se v těle některých rostlin. Mezi strukturální analogy resveratrolu řadíme piceid či viniferiny. Tyto biosynteticky příbuzné sloučeniny resveratrolu jsou syntetizovány v listech a bobulích vinné révy. Piceid představuje glykosidovou formu resveratrolu, viniferiny představují oligomery resveratrolu. Využití resveratrolu a jeho derivátů jako antivirotických látek bylo popsáno jak pro viry obecně, tak pro jeden z flavivirů, a to pro virus hepatitidy C. Nevýhoda přípravků obsahujících jako účinnou látku resveratrol, případně jeho deriváty, nebo interferon spočívá v tom, že neposkytuje dostatečné výsledky při profylaxi či léčbě flavivirových infekcí, zejména klíšťové encefalitidy.

Úkolem technického řešení je proto vytvoření přípravku pro léčbu či profylaxi infekcí způsobených flaviviry, zejména virem klíšťové encefalitidy, který by odstraňoval výše uvedené nedostatky, který by účinně působil při profylaxi a léčbě klíšťové encefalitidy s potenciálem využití i u jiných flavivirových infekcí.

55

Podstata technického řešení

Výše uvedené nedostatky odstraňuje přípravek pro léčbu či profylaxi infekcí způsobených flaviviry, zejména virem klíšťové encefalidity. Podstata technického řešení spočívá v tom, že přípravek obsahuje resveratrol nebo jeho derivát o koncentraci v rozmezí 5 µg/ml až 500 µg/ml, interferon β o koncentraci v rozmezí 5 000 IU/ml až 750 000 IU/ml a zbytek do 100 % hmotn. tvoří polární rozpouštědlo. Mezinárodní jednotka se zkratkou IU z anglického International Unit je měrná jednotka pro množství účinné látky, založená nikoli na hmotnosti, nýbrž na naměřeném biologickém působení nebo účinku. Tato kombinace látek představují možnost účinné antivirotické terapie u infekcí virem klíšťové encefalidity, s potenciálem využití i u jiných flavivirových infekcí, jako je např. virus Dengue či virus Zika.

Ve výhodném provedení je derivát resveratrolu piceid o koncentraci v rozmezí 25 µg/ml až 250 µg/ml. V jiném výhodném provedení je derivát resveratrolu viniferin o koncentraci v rozmezí 25 µg/ml až 250 µg/ml. Tyto koncentrace zajišťují dostatečné množství účinné látky v přípravku, které následně působí na virus klíšťové encefalidity.

Pro rozpuštění resveratrolu v přípravku je využito polární rozpouštědlo na bázi dimethylsulfoxidu neboli DMSO ve směsi s fosfátovým pufrům a/nebo vodou. Dimethylsulfoxid je aprotické polární rozpouštědlo, které rozpouští polární i nepolární sloučeniny a je mísitelné se širokou škálou organických rozpouštědel i s vodou. Dimethylsulfoxid tedy zajišťuje rozpuštění resveratrolu pro následnou vhodnou aplikační formu přípravku.

Resveratrol nebo jeho derivát a/nebo interferon β a/nebo dimethylsulfoxid jsou použity pro přípravu přípravku o čistotě alespoň 95 %. Účinné látky lze využít buď komerčně dostupné, kde je zajištěna a deklarována vysoká čistota, která je pro přípravu přípravku vyžadována, případně je možné izolovat účinné látky z přírodních zdrojů. Resveratrol a jeho deriváty piceid a viniferin lze extrahovat z rostlinného materiálu různého původu, dokonce i z odpadního rostlinného materiálu. Je možná také jejich syntéza, což znamená možnost dostatečné produkce, ať už přírodních, anebo uměle vytvořených přípravků. Lidské interferony se vyrábějí jako rekombinantní proteiny s následnou purifikací umožňující jejich použití v medicíně.

Výhody přípravku pro léčbu či profylaxi infekcí způsobených flaviviry, zejména virem klíšťové encefalidity, podle tohoto technického řešení spočívají zejména v tom, že účinné působí proti flavivirovým infekcím, neboť kombinace účinných látek resveratrolu a interferonu β umocňuje jejich přirozené účinky proti flavivirovým infekcím, které jsou u každé účinné látky zvlášť známé. Vzhledem k tomu, že u klíšťové encefalidity neexistuje specifická antivirotická léčba, speciální kombinace resveratrolu a interferonu β v přípravku podle tohoto technického řešení zajišťuje unikátní možnost využití u infekcí způsobených flaviviry, zejména u viru klíšťové encefalidity

Příklad uskutečnění technického řešení

Přípravek pro léčbu či profylaxi infekcí způsobených flaviviry, zejména virem klíšťové encefalidity podle tohoto technického řešení obsahuje účinnou látku resveratrol nebo jeho deriváty piceid či viniferin, dále interferon β a dimethylsulfoxid ve fosfátovém pufru neboli DMSO v PBS.

50 Příprava zásobních roztoků účinných látek

Zásobní roztok resveratrolu se připraví jako 0,05 až 5 µg/g váhy sledovaného zvířete, s koncentrací v 5 µg/ml až 500 µg/ml. Zásobní roztok viniferinu se připraví jako 5 až 50 µg/g váhy sledovaného zvířete s koncentrací v rozmezí 25 µg/ml až 250 µg/ml. Zásobní roztok piceidu

se připraví jako 5 až 50 µg/g váhy sledovaného zvířete s koncentrací v rozmezí 25 µg/ml až 250 µg/ml. Zásobní roztok interferonu β se připraví cca 50 IU/g až 500 IU/g (international unit - mezinárodní jednotka) s koncentrací v rozmezí 5 000 IU/ml až 750 000 IU/ml. Zásobní roztok dimetylsulfoxidu neboli DMSO se připraví v množství 1,5625 % hmotn.

5

## Příklad 1

Pro přípravu přípravku bylo použito 12,5 µg piceidu /g váhy testované myši a 6 000 IU interferonu β /g váhy testované myši rozpuštěné v 1,5625 % DMSO v PBS podaný profylakticky, tedy den před infekcí virem klíšťové encefalidity.

10

Přípravek prodloužil střední dobu života testovaných myši o tři dny, kdy v kontrolní skupině zvířata hynula 8. až 11. den po infekci, zatímco zvířata po podání přípravku hynula 10. až 14. den po infekci.

15

## Příklad 2

Pro přípravu přípravku bylo použito 12,5 µg resveratrolu /g váhy testované myši a 6 000 IU interferonu β /g váhy testované myši rozpuštěné v 1,5625 % DMSO v PBS podaný profylakticky, tedy den před infekcí virem klíšťové encefalidity.

20

Přípravek prodloužil střední dobu života testovaných myši o tři dny, kdy v kontrolní skupině zvířata hynula 8. až 11. den po infekci, zatímco zvířata po podání přípravku hynula 10. až 13. den po infekci.

25

## Příklad 3

Pro přípravu přípravku bylo použito 12,5 µg viniferinu /g váhy testované myši a 6 000 IU interferonu β /g váhy testované myši rozpuštěné v 1,5625 % DMSO v PBS podaný profylakticky, tedy den před infekcí virem klíšťové encefalidity.

30

Přípravek prodloužil střední dobu života testovaných myši o tři dny, kdy v kontrolní skupině zvířata hynula 8. až 11. den po infekci, zatímco zvířata po podání přípravku hynula 11. až 13. den po infekci.

35

## Experimentální ověření:

40

Příslušná kombinace účinných látek v přípravku byla v dávce přepočtena na hmotnost zvířete, tedy laboratorní myši. Kombinace účinných látek byla připravena v objemu 200 µl a sterilně filtrována, následně byl takto vytvořený přípravek v dané dávce subkutánně aplikován. V případě profylaktického podání byla myš o den později infikována virem klíšťové encefalidity v dávce 1000 pfu/myš neboli virové částice schopné tvořit plaky = plaque-forming units. V případě současného podání byla do přípravku ke směsi zkoumaných účinných látek přidána infekční dávka viru klíšťové encefalidity a společně subkutánně aplikována.

45

Myši byly chované v chovných podmínkách za IVC neboli „individually ventilated cages“ podmínek s použitím sterilizované podestýlky i potravy a sterilní vody. Jejich zdravotní stav byl kontrolován dvakrát denně a zaznamenáván, tedy zda je sledovaná myš zdravá, apatická, paralyzovaná či mrtvá.

50

U pokusných myši až do 8. dne po infekci nedocházelo k úmrtím ani jiným projevům infekce. 8. a 9. den po infekci docházelo k úmrtím kontrolních myši (infekce virem klíšťové encefalidity bez

55

aplikace jednoho ze zkoumaných přípravků), u myši, kterým byly aplikované zkoumané přípravky k úmrtím nedocházelo, v tomto období se u několika myši objevovaly pouze projevy infekce jako apatie a paralýza, převážně u skupiny, které byla aplikovaná kombinace resveratrolu s interferonem.

5

11. den po infekci došlo k úmrtí poslední myši z kontrolní skupiny; v tento den bylo naživu 63 % myši ze skupiny s aplikovanou kombinací resveratrol + interferon a viniferin + interferon a 88 % myši ze skupiny s aplikací piceid + interferon.

den po infekci	7	8	9	10	11	12	13	14
PBS + DMSO	100%	88%	38%	13%	0%	0%	0%	0%
resveratrol + interferon	100%	100%	100%	75%	63%	38%	0%	0%
piceid + interferon	100%	100%	100%	88%	88%	25%	25%	0%
viniferin + interferon	100%	100%	100%	100%	63%	38%	13%	0%

10

#### Průmyslová využitelnost

Přípravek pro léčbu či profylaxi infekcí způsobených flaviviry, zejména virem klíšťové encefalitidy podle tohoto technického řešení lze využít jako antivirotický prostředek nejen proti viru klíšťové encefalitidy, ale i jiných flavivirových infekcí.

15

### NÁROKY NA OCHRANU

20

**1.** Přípravek pro léčbu či profylaxi infekcí způsobených flaviviry, zejména virem klíšťové encefalitidy, **vyznačující se tím**, že obsahuje resveratrol nebo jeho derivát o koncentraci v rozmezí 5 µg/ml až 500 µg/ml, interferon β o koncentraci v rozmezí 5 000 IU/ml až 750 000 IU/ml a zbytek do 100 % hmotn. tvoří polární rozpouštědlo.

25

**2.** Přípravek podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že derivát resveratrolu je piceid o koncentraci v rozmezí 25 µg/ml až 250 µg/ml.

30

**3.** Přípravek podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že derivát resveratrolu je viniferin o koncentraci v rozmezí 25 µg/ml až 250 µg/ml.

**4.** Přípravek podle nároku 1 nebo 2, **vyznačující se tím**, že polární rozpouštědlo je tvořeno směsí dimethylsulfoxidu a fosfátového pufru a/nebo vody.

35

**5.** Přípravek podle některého z nároků 1 až 3, **vyznačující se tím**, že resveratrol nebo jeho derivát a/nebo interferon β a/nebo dimethylsulfoxid jsou o čistotě alespoň 95 %.

---

Konec dokumentu

---

40