

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **201791122** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
**2018.04.30**

(51) Int. Cl. *A61K 31/00* (2006.01)  
*A61P 39/02* (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
**2015.11.20**

---

(54) **МЕТОДЫ ЛЕЧЕНИЯ ОТРАВЛЕНИЙ, ВЫЗВАННЫХ УКУСАМИ ЯДОВИТЫХ ЖИВОТНЫХ, И СООТВЕТСТВУЮЩИЕ КОМПОЗИЦИИ, СИСТЕМЫ И КОМПЛЕКТЫ**

---

(31) **62/082,895; 62/131,441; 62/243,374**

(32) **2014.11.21; 2015.03.11; 2015.10.19**

(33) **US**

(86) **PCT/US2015/061834**

(87) **WO 2016/081826 2016.05.26**

(88) **2016.07.14**

(71) Заявитель:

**ОФИРЕКС, ИНК. (US)**

(72) Изобретатель:

**Левин Мэттью Р. (US)**

(74) Представитель:

**Виноградов С.Г. (BY)**

(57) Изобретение предусматривает создание методов лечения, фармацевтических композиций, систем и комплектов, приемлемых для первоочередного лечения и(или) вспомогательной терапии с противоядием, используя по меньшей мере один активный компонент, в некоторых случаях по меньшей мере два активных компонента и в других случаях не более двух активных компонентов, выбранных из группы, включающей селективный секреторный ингибитор PLA2 (sPLA2 или ингибитор PLA2), ингибитор металлопротеиназы, ингибитор сериновой протеазы, противоядие, один или более ингибиторов ацетилхолинэстеразы или агонист nAChR, соединенный с антагонистом mAChR, антагонист NMDA рецептора и ингибитор фактора распространения, для лечения субъекта, страдающего от отравлений, вызванных укусами ядовитых животных, предпочтительно в момент отравления, и зачастую в течение периода времени, составляющего менее приблизительно 1 ч после отравления ядом или 6 ч после отравления ядом, и на протяжении всего курса лечения в некоторых случаях с противоядием или без него в качестве вспомогательной терапии после отравления ядом, например, змеи или беспозвоночных.

**A1**

**201791122**

**201791122**

**A1**

## **МЕТОДЫ ЛЕЧЕНИЯ ОТРАВЛЕНИЙ, ВЫЗВАННЫХ УКУСАМИ ЯДОВИТЫХ ЖИВОТНЫХ, И СООТВЕТСТВУЮЩИЕ КОМПОЗИЦИИ, СИСТЕМЫ И КОМПЛЕКТЫ**

### **ПЕРЕКРЁСТНЫЕ ССЫЛКИ НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ**

По настоящей заявке испрашивается приоритет на основании предварительных заявок США № 62/082,895, под названием "Venom Neutralizing Drug Combinations for the Treatment of Snakebite in and Outside the Hospital Setting", поданной 21 ноября 2014 г., № 62/131,441, идентичного названия, поданной 11 марта 2015 г. и № 62/243,374, также идентичного названия, поданной 19 октября 2015 г. Полное раскрытие каждой из вышеупомянутых заявок включено в настоящую заявку посредством ссылки во всей своей полноте во всех отношениях.

### **ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ**

Настоящее изобретение относится к методам и композициям для лечения отравлений, вызванных укусами ядовитых животных, например, для обезвреживания яда при укусах змей, и находит применение в области медицины, здравоохранения и ветеринарной медицины.

### **ПРЕДПОСЫЛКИ К СОЗДАНИЮ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

Яды животного происхождения, являются разновидностью ядов, имеющих простые или сложные композиции, и они обычно впрыскиваются ядовитыми зубами, жалом, иглой или метательным элементом, содержащими токсины, чтобы обездвижить или убить жертву, или как средство защиты против хищников или соперников. Яд обычно попадает в организм жертвы при укусе или при уколе жалом (вводе заостренной конечности ядовитого животного). Несмотря на то, что многие яды животного происхождения вызывают только дискомфорт, некоторые яды животного происхождения являются высокотоксичными и могут привести к смерти жертвы, ампутации конечности или постоянному обезображиванию. К категории ядовитых животных относятся беспозвоночные (например, пауки «черная вдова», кубовая медуза и улитки конус), рыбы (например, бородавчатка и другие представители семейства скорпеновых (*Scorpaenidae*)) и рептилии (например, змеи и ядозубы). Следует отметить, что укусы ядовитых змей являются проблемой общественного здравоохранения во многих странах, и

случаи отравления змеиным ядом имеют место на всех континентах, за исключением Антарктики. По всему миру ежегодно регистрируется более пяти миллионов случаев укусов змей в год, из указанного числа более 400000 случаев приводят к серьезным последствиям. В результате укуса змей число смертельных случаев составляет приблизительно 125000, при этом число случаев укусов змей, приводящих к постоянной инвалидности, намного выше. По оценкам, ежегодно в Индии погибает более 40000 человек (главным образом, людей молодого возраста) от укусов змей. В Соединенных Штатах ежегодно регистрируется около 8000 укусов ядовитых змей, и более 1500 случаев отравлений от укусов змей, имеющих высоко нейротоксичный и гемотоксичный яд в Австралии, несмотря на отсутствие гадюк на континенте. См. Alirol et al., 2010, "Snakebite in South Asia: A Review" *PLoS Negl Trop Dis.* 4(1): e603; и Kasturiratne et al., 2008, "The global burden of snakebite: a literature analysis and modeling based on regional estimates of envenoming and deaths," *PLoS Med.* 5:e218.

Яд змей широко различается по своему составу, и такие различия являются как внутривидовыми, так и межвидовыми, тем самым ограничивая перекрестную реактивность противоядий в отношении змеиных ядов, для которых они предназначены, и более того, отдалили змей филогенетически от общего предка с точки зрения создания противоядия. Различия между ядами могут иметь серьезные последствия для жертв укусов змей в силу того, что яды нейтрализуют специфические антитела, содержащиеся в противоядиях, делая их неэффективными против гетерологических токсинов, содержащихся в различных ядах животного происхождения. Casewell, et al., "Medically important differences in snake venom composition are dictated by distinct postgenomic mechanisms", *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111.25 (2014): 9205-9210. Широкое разнообразие составов и внешних структурных особенностей змеиных ядов даже в рамках одного и того же вида змей или даже одной и той же отдельной змеи - не позволяет разработать противоядие, которое было бы эффективным против широкого спектра змеиных ядов.

Многие яды животного происхождения включают компоненты, прерывающие ацетилхолиновую передачу сигнала между нервами и мышцами, парализуя скелетные мышцы, нарушая такую передачу и разрушая нервные окончания, тем самым исключая эффективность всех методов лечения кроме специализированной реаниматологической помощи. Многие яды животного происхождения разрушают мышцы, соединительные ткани и кожу, в то время как

другие вызывают тяжелые и зачастую летальные нарушения, обусловленные кровотечением и свертываемостью крови — или имеется сочетание всех указанных эффектов (например, яды многих аспидовых змей, таких как яды коралловой змеи, тайпана, кобр и гадюк, таких как гадюка Рассела, европейская гадюка и гремучей змеи, как правило, являются одновременно гемо/цитотоксичными и нейротоксичными). Яды животного происхождения зачастую представляют собой сложные смеси ферментных и неферментных токсинов, характеризующиеся различными механизмами воздействия, сочетающимися, например, нейротоксичность с гемо- или миотоксичностью.

Несмотря на то, что в некоторых случаях имеются противоядия, их эффективность при лечении жертв укусов змей может быть ограниченной в силу ряда причин. Во-первых, состав ядов даже у одного и того же вида змей может существенно различаться, а также действие яда даже отдельной змеи того вида в зависимости от потребляемой ею пищи и места ее обитания. Змеи одного и того же вида, разделенные лишь географически, могут иметь яд, существенно различающийся по составу: так, например, виды змей в одном регионе Индии (например, гадюка Расселла (*Daboia russelli*)) убивают свою жертву, в основном, за счет нарушения свертываемости крови, в то время как в другом регионе Индии яд этих змей является более нейротоксичным. Аналогичным образом, состав яда европейской гадюки (например, *Vipera berus*) может различаться до такой степени, что в некоторых случаях яд является более нейротоксичным, в то время как в других случаях — цито-гемотоксичными. В Северной Америке при частоте рецидивов признаков и симптомов после проведения начального курса лечения с использованием противоядия требуется более высокая периодичность повторного лечения, которая варьируется в зависимости от региона. Во многих случаях при отсутствии поливалентного противоядия исключительно важно определить вид змеи в целях применения соответствующего противоядия, однако даже правильное определение вида змеи не гарантирует того, что данное противоядие было разработано. В этом случае используют максимально близко соответствующее, или «параспецифическое» противоядие в качестве наиболее эффективной аппроксимации, однако зачастую такое противоядие является неэффективным, вызывая при этом осложнения и приводя к серьезным финансовым затратам.

Во-вторых, в ряде случаев, таких как с североамериканскими коралловыми змеями (моноспецифическая сыворотка) или африканскими змеями

(поливалентная сыворотка), противоядие было изъято с рынка. На африканском континенте к югу от Сахары указанные важные коммерческие препараты стали дефицитом ввиду того, что производители решили прекратить их выпуск. В 2015 г. организация «Врачи без границ» разместили в своем глобальном "Wishlist" (Facebook) информацию о необходимости повышения доступности к средствам лечения от укуса змей, и мировые новостные агентства сообщили, что на большей части африканского континента прекратится применение эффективных методов лечения с применением противоядия к 2016 г., при этом было заявлено, что (например, в пресс-релизах международной медицинской организации «Врачи без границ» от 4 и 8 сентября 2015 г.) «Десятки тысяч людей будут продолжать умирать от змеиных укусов, если мировое медицинское сообщество не примет меры для обеспечения доступных средств лечения и противоядия».

В третьих, и, возможно, самое главное, даже если был определен источник яда и существует соответствующее противоядие, вероятность того, что жертва будет иметь легкий доступ к противоядию чрезвычайно низка или противоядие явится слишком дорогостоящим, в результате чего жертвы будут скорее рисковать умереть, чем искать дорогую медицинскую помощь. По оценкам более 75% смертельных случаев от укуса змей происходит за пределами лечебного учреждения, зачастую в месте проведения сельскохозяйственных работ. Большинство противоядий имеют короткий срок годности, и обычно они отсутствуют за пределами лечебного учреждения, ввиду требования наличия «холодовой цепи» и высокой частоты проявления тяжелых нежелательных реакций, при возникновении которых требуется либо профилактическая, либо неотложная помощь (например, в случае анафилаксии). Более того, поскольку укусы ядовитых животных часто случаются в отдаленных местах, вдали от населенных центров, маловероятно, что у жертвы будет возможность добраться до больницы вовремя и получить необходимое лечение после того, как симптомы уже проявились. В третьих, противоядие не может эффективно проникать через уже поврежденные ядом ткани, поскольку физические свойства тромбов и некротической ткани не позволяют это сделать, и противоядие может только нейтрализовать циркулирующий яд или то, с чем он напрямую контактирует иным путем. Противоядие обычно считается неэффективным при установлении индуцированной нейротоксином патологии из-за его неспособности проникновения в ткани периферической и центральной нервной систем. Скорее реанимационные мероприятия, такие как механическая вентиляция, позволяет

спасти этих пациентов в большинстве случаев. Настоящее изобретение позволит сократить расходы реанимационного отделения и общую стоимость медицинской помощи для отдельных лиц и общества путем снижения необходимости в таких вмешательствах и может быть использовано в качестве терапии первой линии при укусах змей, используя любой способ введения по отдельности, совместного введения или в комбинации с другими известными видами терапии, такими как введение противоядия.

Дополнительно к противоядию были испытаны дополнительные методы для оказания помощи в случае укуса змеи. Ингибитор эдрофоний ацетилхолинэстеразы вводили внутривенно для оказания помощи в случае укуса змей (Warrell et al., 1983, " Severe neurotoxic envenoming by the Malayan krait *Bungarus condidus* (Linnaeus): response to antivenom and anticholinesterase," Br Med J (Clin Res Ed) 286(6366) :678-80; Watt et al., 1986, "Positive response to edrophonium in patients with neurotoxic envenoming by cobras (*Naja naja philippinensis*). A placebo-controlled study" N Engl J Med. 315(23): 1444-8; and Currie et al., 1988, "Resolution of neurotoxicity with anticholinesterase therapy in death-adder envenomation. Med. J. Aust. 148:522-525). Ингибиторы матриксных металлопротеиназ (MPI) и ингибиторы (PLA2) фосфолипазы A2 были предложены в качестве потенциальных методов лечения, однако эффективные примеры широкого спектра действия не были определены Villalta-Romero et al. ACS Med Chem Lett 2012, 3, 540-543 and Marcusi et al. Snake venom phospholipase A2 inhibitors. Current Topics in Medicinal Chemistry, 2007.

Универсальные методы лечения пациентов от укусов змей с применением противоядия оказались недостаточными, поскольку молекулы яда имеют исключительно переменную внешнюю структуру и, как известно, представляют собой сложную и неэффективную цель для воздействия на них противоядия. Разработка фармакологических методов лечения укусов змей, характеризующихся либо специфической эффективностью, либо эффективностью широкого спектра действия, при отравлении змеиным ядом оказалась даже еще более труднодостижимой целью. Таким образом, существует определенная насущная необходимость в эффективных и экономичных методах лечения укусов змей, которое должно быть оказано своевременно. Высокая стоимость противоядия и лечения укуса змей, в целом соответствует определению Всемирной организации здравоохранения «катастрофически высокие затраты на медицинское обслуживание» и ввиду ограниченной

эффективности современных методов лечения укусов змей – и предполагаемого финансового краха. Таким образом, принятие решения лечиться или не лечиться при укусе змеи представляет дилемму, в отношении которой жертва обязана принять решение, в результате чего непринятие решения зачастую приводит к смерти или к нетрудоспособности. Кроме того, правительства многих стран не способны или не желают субсидировать производство препаратов, которые ими рассматриваются как неэффективные и устаревшие, или пытаются найти дешевые неэффективные противоядия, вынуждая фармацевтические компании снимать с рынка более эффективные, но дорогостоящие противоядия. Традиционные противоядные сыворотки не могут быть безопасно введены вне медицинского учреждения. Доступные, широкого спектра действия антитоды первой линии против яда укусов змей окажут незамедлительное положительное воздействие на здоровье миллионов людей, которые подвергаются риску угрозы для жизни и получения повреждений конечностей от укусов змей.

#### КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩЕСТВА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Изобретатель определил гибкие лечебные схемы и сопутствующие фармацевтические композиции, системы и комплекты, позволяющие быстро и эффективно лечить поврежденные отравлением ткани, и широкий спектр связанных с этим последствий, из которых наиболее значимыми являются непосредственная угроза жизни, обусловленная летальным исходом, опосредованным нейротоксическим действием ядов, и гематологический синдром. Методы и фармацевтические композиции настоящего изобретения являются эффективными против фермента PLA2 всех змеиных ядов независимо от вида змей и в других случаях независимо от прямого или косвенного воздействия других элементов яда, а также систем хозяина, тем самым снижая вероятность возникновения острой коагулопатии, повреждения тканей и почечной недостаточности наряду с другими, вызванными ядом патологиями. Это позволяет снизить повреждающее воздействие как ферментных, так и неферментных компонентов яда, при этом ослабляя собственные патологические реакции жертвы в результате воздействия яда. Это примечательное открытие привело к разработке первого в истории лекарственного препарата для оказания медицинской помощи в полевых условиях при укусе змей, который может быть введен человеком, обладающим ограниченными медицинскими навыками вне медицинского учреждения, и, аналогичным образом, к созданию возможностей со

времени изобретения противоядия впервые в истории устанавливая клиническую эквивалентность при использовании и испытании противоядий, когда указанные композиции используются в качестве терапии первой линии в полевых или больничных условиях, обеспечивая при этом систематическое и научно обоснованное усовершенствование традиционных противоядий. Кроме того, исключительное достижение заключается в том, что указанные композиции антидота могут быть введены перорально для создания терапевтически эффективных концентраций препарата в крови прежде, чем пациент будет доставлен в больницу, с целью повышения выживаемости и снижения осложнений, в частности, при комбинировании с эффективным ингибитором MP, SP или многофункциональным ингибитором ферментов змеи и хозяина, которые проявляют сложное взаимодействие в патологии змеиного укуса.

Примечательно то, что фармацевтические композиции настоящего изобретения, в отличие от противоядия, с большей скоростью проникают в поврежденные ядом ткани и нервные окончания, включая нейромышечные соединения, позволяя достичь намного более быстрые и благоприятные результаты по сравнению с действием противоядия. Физические свойства противоядия как такового, кровяные сгустки, некротические ткани и нервная ткань ограничивают такое проникновение противоядия, в результате чего противоядие лишь нейтрализует циркулирующий яд или яд, с которым оно вступает иным образом в непосредственный контакт. Настоящее изобретение позволяет устранить указанные недостатки, и в некоторых примерах осуществления при сочетании с противоядной терапией в качестве терапии первой линии или при комбинировании с другим препаратом позволяет существенно повысить эффективность противоядия, чем при использовании только одного противоядия.

Таким образом, в одном примере осуществления настоящего изобретение относится к методу использования, по меньшей мере, одного соединения ингибитора PLA2 (обычно ингибитора sPLA2), предпочтительно 1Н-индол-3-глиоксиамида (в общем случае 3-глиоксиамид, в частном или более конкретно 1Н-индол-3-глиоксиамид определен в данной области техники как 1Н-индол-3-глиоксиамиды; патент США № 5654326), такой как вареспладиб и (или) метилвареспладиб для лечения отравлений, вызванных укусами ядовитых животных, (например, укус или укол жалом ядовитого животного, такого как змея, ящерица, амфибия, скорпион, паук или укус или укол другого беспозвоночного, если иное не указано в данном контексте), предусматривающему введение

эффективного количества соединения ингибитора sPLA2 в течение определенного периода времени, предпочтительно непосредственно после отравления или как можно скорее после отравления змеиным ядом до приблизительно 6 часов или более (по меньшей мере, в течение приблизительно в течение приблизительно 24-часового периода и зачастую в течение приблизительно 12-часового периода) после отравления. В соответствии с одним аспектом настоящее изобретение относится к методу лечения или снижения вероятности летального исхода, длительной травмы пациента и уменьшения необходимости в проведении курса лечения с применением противоядия и уменьшения необходимости в медицинских ресурсах для пациента, страдающего от отравления, путем введения, по меньшей мере, одного ингибитора sPLA2 по отдельности или в комбинации с одним или более дополнительными биоактивными веществами по одному или более путям доставки непосредственно или как можно быстрее после отравления (зачастую не более 24 часов, даже зачастую не более 12 часов, предпочтительно не более 6 часов, даже более предпочтительно не более 1 часа, даже зачастую непосредственно после определения того, что пациент подвергся отравлению от укуса ядовитого животного) и в течение периода времени, которое требуется для доставки пациента в больницу или иной медицинский пункт для дальнейшего установления диагноза и (или) для лечения. Опционально, курс лечения проводят в течение от одного дня до нескольких недель после отравления с использованием одного или более путей доставки препарата и составов противоядий в зависимости от условий и состояния пациента.

В альтернативном примере осуществления настоящее изобретение также относится к методу использования соединения ингибитора PLA2, предпочтительно вареспладиба и (или) метилвареспладиба по отдельности или в сочетании с другими соединениями, ингибирующими PLA2 (чаще всего sPLA2) или иных компонентов яда, таких как металлопротеиназы (MPs) и (или) сериновые протеазы (SPs) для лечения отравлений, вызванных укусами ядовитых животных, при этом эффективное количество активного вещества вводят немедленно (приблизительно в 0 часов или как можно быстрее после отравления, и лечение по необходимости продолжается в течение приблизительно 1 - 7 дней, либо до тех пор, пока не будет достигнута медицинским способом определенная точка прекращения действия яда. С определенной точки зрения метод включает введение эффективного количества композиции в соответствии с приведенным в

данной заявке описанием до тех пор, пока не произойдет снижение уровней активности опасных sPLA2 или MP, нормализация состава крови, факторов коагуляции и до тех пор, пока у пациента не будет проявляться стабильное улучшение состояния здоровья по ослаблению признаков или симптомов отравления после проведенного курса лечения или повторного курса лечения с использованием альтернативных композиций, в частности, включая традиционные противоядные композиции.

Настоящее изобретение относится к методу использования соединений ингибиторов ядов по отдельности или в комбинациях с целью ингибирования PLA2 или иных компонентов яда, таких как металлопротеиназы (MPs) и (или) ацетилхолинэстеразы путем инъекции или иным путем введения (т.е., не инъекционным путем), в сочетании или по отдельности для лечения отравлений, вызванных укусами ядовитых животных, при котором активные ингредиенты вводят немедленно (приблизительно в 0 часов), либо как можно быстрее в течение приблизительно 6 часов после укуса или укола жалом, и лечение продолжается в течение приблизительно 1 - 7 дней или до тех пор, пока не будет достигнута медицинским способом определенная точка прекращения действия яда на основе объективных или клинических показателей, зачастую относящихся к подтверждению или подозрению на отравление, вызванного укусом ядовитого животного. Указанная точка прекращения действия яда может быть достигнута во время проведения диагноза и (или) лечения пациента в больнице или ином медицинском учреждении, либо указанная точка прекращения действия яда может быть достигнута через достаточно длительный период, составляющий несколько недель (например, приблизительно 1-3 недели или более) с целью обеспечения полного выздоровления пациента от отравления.

Настоящее изобретение предусматривает создание ингибиторов PLA2, комбинаций ингибиторов PLA2, опционально с одним или более ингибиторами металлопротеиназы (MP), ацетилхолинэстеразы и (или) других компонентов яда для пациента в целях ослабления воздействия отравлений, приводящих к травматическому состоянию пациента в связи с попаданием яда в его организм. В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения соединения представляет собой ингибитор более чем одного компонента змеиного яда. В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения ингибиторы sPLA2, в частности ингибиторы, основанные на химических структурах 1-Н-индол-3-глиоксиамида и включающие вареспладиб и метилвареспладиб, используются по

отдельности или в комбинации друг с другом и (или) с другими веществами, как далее описано в настоящей заявке.

Настоящее изобретение также относится к методу лечения или предотвращения летального исхода, длительной травмы и снижению (или повышению) необходимости в методах лечения с применением противоядия, кровезаместительной терапии, заместительной терапии препаратами фактора свертывания крови, диализа и больничных ресурсов для лечения пациента, страдающего от отравления, путем введения композиций, как далее описано в настоящей заявке, в течение от 0 (т.е., незамедлительно или как можно скорее) до 24 часов после укуса или укола жалом или до повышения уровней PLA2, соответственно других аномальных лабораторных показателей, подтверждающих отравление змеиным ядом, и (или) клинических признаков или симптомов, указывающих на токсичность яда.

Настоящее изобретение также относится к методу снижения вероятности летального исхода или травмы от отравления змеиным ядом у млекопитающих, включая человека, при этом метод включает введение противоядия на начальном этапе пациенту, который, как подозревается, или как известно, пострадал от отравления ядом ядовитого животного, при этом метод включает введение эффективного количества (например, вареспладиба или метилвареспладиба) или комбинации соединений (которые могут включать вареспладиб и (или) метилвареспладиб), вводимых совместно или по отдельности после отравления, но до возникновения повреждения, в частности, тяжелого повреждения, вызванного локальным, регионарным или системным отравлением змеиным ядом.

Настоящее изобретение также относится к методу лечения отравления змеиным ядом, при котором лечение пациента проводится с применением терапевтически эффективного количества композиции в соответствии с настоящим изобретением, при этом метод включает введение пациенту, по меньшей мере, одного соединения ингибитора PLA2 (например, ингибитора sPLA2) в течение периода времени, начиная с момента возникновения подозрения на отравление или подтверждения отравления змеиным ядом, объективных или клинических подозрений на повышенные уровни sPLA2 или иных признаков отравлений, вызванных укусами ядовитых животных, на основе полевых, догоспитальных, лабораторных тестов, экспресс-тестов или клинических тестов в предпочтительных примерах осуществления настоящего изобретения с целью снижения необходимости в традиционных противоядиях и (или) с целью

сокращения стоимости и потребностей в госпитальных, в частности, в клинически интенсивных ресурсах, таких как интенсивная терапия (время проведения в палате интенсивной терапии).

В одном примере осуществления настоящего изобретение предусматривает создание метода лечения субъекта, страдающего от отравлений, вызванных укусами ядовитых животных, (как далее описано в настоящей заявке, вызванных, например, укусом змеи, другой рептилии, амфибии, артропода, моллюска, стрекающих кишечнорастворимых или кишечнорастворимых в том числе), при этом метод включает введение (предпочтительно, перорально или путем инъекции субъекту) терапевтически эффективного количества, по меньшей мере, двух, и в некоторых примерах осуществления настоящего изобретения не более двух активных ингредиентов, выбранных из группы, включающей ингибитор PLA2, как далее описано в настоящей заявке, ингибитор металлопротеиназы, ингибитор сериновой протеазы, ингибитор ацетилхолинэстеразы (AChEI или прямой агонист никотинового рецептора, такой как никотин, в сочетании с антихолинэргическим средством), ингибитор фактора распространения (для снижения вероятности того, что активное вещество будет распространяться за пределами пораженной ткани в организме пациента, и включая вареспладиб и метилвареспладиб в этой группе) и антагонист NMDA рецептора (например, дизоцилпин (M K-801)), при котором активный (-е) ингредиент (-ы) может (могут) быть введен (-ы) в смеси или по отдельности, одновременно, совместно или последовательно.

Предпочтительно, чтобы вышеупомянутый (-ые) активный (-ые) ингредиент (-ы) вводили (по меньшей мере, на начальном этапе) путем инъекции с помощью иглы или впрыска без иглы (например, с помощью безыгольного инъектора или аэрозольного баллончика) или перорально, при этом дополнительные дозы активных ингредиентов вводят в организм с использованием различных путей введения для поддержания эффективных концентраций активных ингредиентов в организме пациента до того момента времени, когда терапевтическое вмешательство приостанавливают по той или иной причине, включая решение о применении для пациента более традиционных составов противоядия, поскольку уровень активности ингредиентов в организме пациента повышается до верхних уровней его терапевтического индекса, или поскольку состояние пациента пришло в норму или, по меньшей мере, стабилизировалось, что исключает необходимость дальнейшего введения препаратов.

Предпочтительные дополнительные терапевтические средства включают противоядия, вводимые инъекционно или топикально наносимые ингибиторы ацетилхолинэстеразы с антагонистами mAChR, противорвотные средства или антибиотики (зачастую наряду с другими, цефалоспорин, тетрациклин или демеклоциклин). Многие из этих дополнительных терапевтических средств представляют собой ингибиторы основных ферментных и неферментных компонентов (например, миотоксин гремучей змеи), присутствующих в змеином яде или яде других ядовитых животных.

В другом примере осуществления изобретение предусматривает создание метода лечения субъекта, страдающего от укуса змеи или иного отравления, при этом метод в основном включает этап введения субъекту (предпочтительно путем инъекции или перорально, по меньшей мере, на начальном этапе) терапевтически эффективного количества:

(1) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, как приведено в настоящей заявке, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемую соль и опционально, по меньшей мере, одного дополнительного терапевтического средства, выбранного из группы, включающей ингибитор металлопротеиназы, ингибитор сериновой протеазы, ингибитор ацетилхолинэстеразы (вводимый предпочтительно путем инъекции), антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), ингибитор фактора распространения, антагонист NMDA рецептора, ингибитор L-аминоксидазы, ингибитор гиалуронидазы, противоядие и антибиотик; или

(2) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемую соль и, по меньшей мере, одного ингибитора металлопротеиназы, и опционально одного или более дополнительных терапевтических средств, выбранных из группы, включающей ингибитор сериновой протеазы, ингибитор ацетилхолинэстеразы (например, в некоторых случаях вводимые путем инъекции или перорально антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), ингибитор фактора распространения, антагонист NMDA рецептора, ингибитор L-аминоксидазы, ингибитор гиалуронидазы, противоядие и антибиотик; или

(3) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или

их фармацевтически приемлемую соль и, по меньшей мере, одного ингибитора сериновой протеазы и, опционально, одного или более дополнительных терапевтических средств, выбранных из группы, включающей ингибитор металлопротеиназы, ингибитор ацетилхолинэстеразы (в некоторых случаях вводимых путем инъекции или топикально, назально или интраокулярно), антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), ингибитор фактора распространения, антагонист NMDA рецептора, ингибитор L-аминоксидазы, ингибитор гиалуронидазы, противоядие и антибиотик; или

(4) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемую соль и, по меньшей мере, одного ингибитора металлопротеиназы и, по меньшей мере, одного ингибитора сериновой протеазы и, опционально, одного или более дополнительных терапевтических средств, выбранных из группы, включающей ингибитор ацетилхолинэстеразы, антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), ингибитор фактора распространения, антагонист NMDA рецептора, ингибитор L-аминоксидазы, ингибитор гиалуронидазы, противоядие и антибиотик; или

(5) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемую соль и, по меньшей мере, одного ингибитора ацетилхолинэстеразы (зачастую вводимого путем инъекции с антагонистом ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), таким как атропин или гликопирролат, и опционально, одного или более дополнительных терапевтических средств, выбранных из группы, включающей, по меньшей мере, один ингибитор металлопротеиназы, по меньшей мере, один ингибитор сериновой протеазы, антагонист NMDA рецептора, ингибитор фактора распространения, ингибитор L-аминоксидазы, ингибитор гиалуронидазы, противоядие и антибиотик: или

(6) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемую соль и одного или более ингибиторов фактора распространения и, опционально, одного или более дополнительных терапевтических средств, выбранных из группы, включающей, по меньшей мере, один ингибитор металлопротеиназы, по меньшей мере, один ингибитор сериновой протеазы, ингибитор ацетилхолинэстеразы, антагонист ацетилхолинового

мускаринового рецептора (mAChR), антагонист NMDA рецептора, ингибитор L-аминоксидазы, ингибитор гиалуронидазы, противоядие и антибиотик; или

(7) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемую соль, антагонист NMDA рецептора и, опционально, одного или более дополнительных терапевтических средств, выбранных из группы, включающей, по меньшей мере, один ингибитор металлопротеиназы, по меньшей мере, один ингибитор сериновой протеазы, ингибитор ацетилхолинэстеразы, антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), ингибитор фактора распространения, антагонист NMDA рецептора, ингибитор L-аминоксидазы, ингибитор гиалуронидазы, противоядие и антибиотик; или

(8) приномастат, воринонат, маримастат, нафамостат, иломастат, доксициклин, цефалоспорин, таномастат, батимастат или вареспладиб или только один метилвареспладиб или в комбинации против укусов змей, при этом вареспладиб или метилвареспладиб являются эффективными ингибиторами MP (например, яда гадюки Рассела).

В некоторых предпочтительных примерах осуществления настоящее изобретение предусматривает создание метода лечения субъекта, страдающего от отравлений, вызванных укусами ядовитых животных, как далее описано в настоящей заявке, зачастую от укусов змей, при этом метод в основном включает этап введения субъекту (предпочтительно путем инъекции) терапевтически эффективного количества:

(a) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемую соль, и, по меньшей мере, одного дополнительного вещества, выбранного из группы, включающей N,N-диметилкарбамоилметил,4-4-гуанидинобензоилокси-фенилацетат («Камостат», камостат), этил-p[6-гуанидиногексаноилокси]-бензоат метансульфонат (габексат), DEDA и ингибитор металлопротеиназы (например приномастат, воринонат, маримастат или батимастат) и ингибитор ацетилхолинэстеразы (AChEI) (например, неостигмин с атропином или гликопирролатом); или

(b) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемую соль, и, по меньшей мере, одного

дополнительного вещества, выбранного из группы, включающей N,N-диметилкарбамоилметил,4-4-гуанидинобензоилокси-фенилацетат («Камостат», камостат), этил-p[6-гаунидиногексаноилокси]-бензоат метансульфонат (габексат), приномастат, воринонат, маримастат, батимастат, неостигмин и атропин; и

(с) опционально одного или более дополнительных терапевтических средств, выбранных из группы, включающей антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), антагонист NMDA рецептора, ингибитор фактора распространения, противоядие и антибиотик.

В предпочтительных примерах осуществления методов настоящего изобретения, фармацевтических композиций, систем и комплектов настоящего изобретения ингибитор металлопротеиназы представляет собой приномастат, воринонат, и (или) маримастат, и ингибитор PLA2 представляет собой предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемую соль.

В одном примере осуществления настоящего изобретения, субъекту, страдающему от отравления змеиным ядом в результате укуса, совместно вводят ингибитор PLA2, такой как предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемую соль или их аналог, производное или фармацевтически приемлемую соль, энантиомер, диастереомер, сольват или полиморф, N,N-диметилкарбамоилметил,4-4-гуанидинобензоилокси-фенилацетат («Камостат», камостат), этил-p[6-гаунидиногексаноилокси]-бензоат метансульфонат (габексат), или их фармацевтически приемлемую соль, энантиомер, диастереомер, сольват или полиморф, и ингибитор металлопротеиназы, такой как приномастат, воринонат, батимастат и (или) маримастат или их аналог, производное, фармацевтически приемлемая соль, энантиомер, диастереомер, сольват или полиморф, и, опционально, одно или более дополнительных терапевтических средств, выбранных из группы, включающей ингибитор ацетилхолинэстеразы (например, неостигмин или атропин, вводимый предпочтительно путем инъекции), антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), противоядие и антибиотик, опционально в дополнительной комбинации, по меньшей мере, с одним ингибитором фактора распространения.

В одном примере осуществления настоящего изобретения, субъекту, страдающему от отравления змеиным ядом в результате укуса, совместно вводят ингибитор PLA2, такой как вареспладиб и (или) метилвареспладиб или

аналогичное производное, фармацевтически приемлемую соль, энантиомер, диастереомер, сольват или их полиморф, N,N-диметилкарбамоилметил,4-4-гуанидинобензоилокси-фенилацетат (Камостат, камостат), этил-p[6-гаунидиногексаноилокси]-бензоат метансульфонат (габексат) и ингибитор сериновой протеазы, такие как 4-(2-Аминоэтил) бензолсульфонил фторид, нафамостат или аналогичное производное, фармацевтически приемлемую соль, энантиомер, диастереомер, сольват или их полиморф и, опционально, одного или более дополнительных терапевтических средств, выбранных из группы, включающей противоядия, ингибитор ацетилхолинэстеразы (например, неостигмин или пиридостигмин, вводимые предпочтительно путем инъекции), антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR) и антибиотик опционально в комбинации, по меньшей мере, с одним ингибитором фактора распространения.

В одном примере осуществления настоящее изобретение относится к методу лечения отравления путем введения нуждающемуся в лечении субъекту эффективной дозы ингибитора PLA2 (предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемую соль), опционально в комбинации, по меньшей мере, с одним дополнительным средством, как описано в другом месте данного документа. Стоит отметить, что введение терапевтического (-их) средства (средств) предотвращает или быстро купирует симптомы и признаки отравления. Как отмечено в другом месте данного документа, последствия при отравлении ядом включают слабость, затруднение дыхания, нарушение свертываемости крови, звон в ушах, беспокойство, дыхательный паралич и смерть.

Стоит отметить, что, введение лекарственных средств в соответствии с настоящим изобретением в течение 6, как правило 2 часов после отравления ядом является практически полностью эффективным в предотвращении летального исхода даже в определенных случаях при смертельных дозах яда. Стоит отметить, что, значительное купирование и ослабление признаков и симптомов отравлений, вызванных укусами ядовитых животных у пациента или субъекта, являются очевидными в течение нескольких часов (например, приблизительно 2-х часов) после введения лекарственных средств. Следует отметить, что эффект купирования может возникнуть в течение 60 минут или даже в течение 30 минут после введения лекарственного средства. Например, нервная проводимость, как показывают результаты исследования, может восстановиться,

по меньшей мере, до 80% от нормальной нервной проводимости в течение 8 часов. В качестве другого примера, прекращение или уменьшение гемолиза может наблюдаться в течение 2-х часов — раннее введение лекарственного средства может полностью предотвратить возникновение указанных признаков и симптомов отравления, вызванного укусами ядовитых животных.

Фармацевтические композиции и методы в соответствии с настоящим изобретением могут также предпочтительно включать лидокаин и (или) бупивакаин в качестве средств, способствующих локальному распределению активного (-ых) ингредиента (-ов) для достижения терапевтического эффекта и анальгезии, сокращая при этом распространение яда за счет релаксации гладких мышц сосудов лимфатической системы.

Методы, фармацевтические композиции, системы и комплекты настоящего изобретения обеспечивают лечение или снижение вероятности возникновения вызванной нейротоксином респираторной недостаточности, кардиотоксичности, разрушения ткани и мышц и (или) вызванной ядом диссеминированной внутрисосудистой коагулопатии, в результате чего у пациента значительно снижается риск летального исхода и (или) инвалидизирующей травмы от отравления ядом. Применение методов и фармацевтических композиций, описанных в настоящей заявке, предотвращает наступление широкого спектра угрожающих жизни симптомов, включая повреждения тканей, вызванные гемотоксином, цитотоксином, кардиотоксином или миотоксином, нарушения гемостаза и свертываемости крови, вызванную нейротоксином респираторную недостаточность, травму конечности, почечную недостаточность, полиорганную недостаточность и (или) сердечнососудистую недостаточность. В том случае, если один из ингибиторов представляет собой также антибиотик и (или) противовоспалительный препарат, такой как вареспладиб, риск инфекции также снижается, как и аллергические и другие острые осложнения, возникающие при введении противоядия.

Некоторые примеры осуществления настоящего изобретения обеспечивают лечение или снижение вероятности вызванной нейротоксином респираторной недостаточности и повреждения тканей, вызванные отравлением ядом от укуса других ядовитых животных, таких как бородавчатка, львиная скорпена-ёрш, скорпионы (например, *Centuroides spp*), пауки (например, *Loxosceles*), улитки конус и тропические медузы путем введения субъекту противоядия, в котором он нуждается:

(a) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2 (предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемую соль) и опционально (предпочтительно) ингибитора SP или ингибитора MP; и

(b) дополнительно опционально, одного или более дополнительных терапевтических средств, выбранных из группы, включающей ингибитор ацетилхолинэстеразы (например, неостигмин или пиридостигмин, вводимые предпочтительно путем инъекции), антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), противоядие, антибиотик и ингибитор фактора распространения.

Предпочтительная фармацевтическая композиция настоящего изобретения включает терапевтически эффективное количество, представляющее собой:

(a) вареспладиб и (или) метилвареспладиб, предпочтительно, вареспладиб, N,N-диметилкарбамоилметил,4-4-гуанидинобензоилокси-фенилацетат («Камостат», камостат), этил-р[6-гуанидиногексаноилокси]-бензоат метансульфонат (габексат), или их аналог, производное, фармацевтически приемлемую соль, энантиомер, диастереомер, сольват или полиморф;

(b) либо (1) приномастат, вориностат, батимастат и (или) маримастат, либо их аналог, производное, фармацевтически приемлемую соль, энантиомер, диастереомер, сольват или полиморф, и (или) (2) 4-(2-Аминоэтил) бензолсульфонил фторид или их аналог, производное, фармацевтически приемлемую соль, энантиомер, диастереомер, сольват или полиморф; и

(c) опционально одно или более фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества.

Иллюстративные, неограничивающие фармацевтические композиции могут быть в форме инъеклируемых растворов (что является предпочтительным для проведения начального курса лечения с применением шприца-тюбика, или шприца ручки), порошков, липосом, мазей и аэрозолей и могут включать активный (-ые) ингредиент (-ы)), конъюгированные с другим соединением для специфического таргетирования (например, наночастицы). Фармацевтические композиции, описанные в настоящем документе, могут быть введены с использованием различных способов (например, с использованием ручного или автоинъекционного устройства, которые могут быть снабжены иглой и которые опционально могут включать безыгольный инъектор, устройство для

интраназальной доставки лекарственного средства, распылитель, дозирующий ингалятор или дозирующий распылитель или пероральные лекарственные формы, такие как пилюли, таблетки или эликсиры). Комплекты настоящего изобретения могут включать такие композиции и устройства в сочетании с соответствующими инструкциями и дополнительными компонентами (например, масками). Композиции также могут быть выполнены в форме лиофилизированных порошков, которые могут быть использованы для приготовления инъеклируемых растворов для проведения начального (и последующего) курса лечения пациента, пострадавшего от укусов ядовитого животного.

В одном примере осуществления настоящее изобретение предусматривает создание фармацевтической композиции, предпочтительно в виде устойчивой при хранении, инъеклируемой, аэрозолируемой или диспергируемой фармацевтической композиции, включающей фармацевтически приемлемый разбавитель и терапевтически эффективное количество, либо:

(1) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, как приведено в описании настоящей заявки, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемая соль и опционально, по меньшей мере, одного дополнительного терапевтического средства, выбранного из группы, включающей ингибитор металлопротеиназы, ингибитор сериновой протеазы, ингибитор ацетилхолинэстеразы (все из них вводимые предпочтительно путем инъекции или перорально или по отдельности либо в пероральной, топикальной, либо парентеральной формах с противоядием или без него), антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), ингибитор фактора распространения, антагонист NMDA рецептора, противоядие и антибиотик; или

(2) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемая соль и, по меньшей мере, одного ингибитора металлопротеиназы, и опционально одного или более дополнительных терапевтических средств, выбранных из группы, включающей ингибитор сериновой протеиназы, ингибитор ацетилхолинэстеразы (вводимый предпочтительно путем инъекции), антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), ингибитор фактора распространения, антагонист NMDA рецептора, противоядие и антибиотик; или

(3) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, предпочтительно, по

меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемая соль и, по меньшей мере, одного ингибитора сериновой протеазы и, опционально, одного или более дополнительных терапевтических средств, выбранных из группы, включающей ингибитор металлопротеиназы, ингибитор ацетилхолинэстеразы (вводимый предпочтительно путем инъекции), антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), ингибитор фактора распространения, антагонист NMDA рецептора, противоядие и антибиотик; или

(4) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемая соль и, по меньшей мере, одного ингибитор металлопротеиназы и, по меньшей мере, одного ингибитора сериновой протеазы и, опционально, одного или более дополнительных терапевтических средств, выбранных из группы, включающей ингибитор ацетилхолинэстеразы, антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), ингибитор фактора распространения, антагонист NMDA рецептора, противоядие и антибиотик; или

(5) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемая соль и, по меньшей мере, одного ингибитора ацетилхолинэстеразы (зачастую вводимого путем инъекции) и (или) антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), и опционально, одного или более дополнительных терапевтических средств, выбранных из группы, включающей, по меньшей мере, один ингибитор металлопротеиназы, по меньшей мере, один ингибитор сериновой протеазы, антагонист NMDA рецептора, ингибитор фактора распространения, противоядие, и антибиотик; или

(6) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемая соль и одного или более ингибиторов фактора распространения и, опционально, одного или более дополнительных терапевтических средств, выбранных из группы, включающей, по меньшей мере, один ингибитор металлопротеиназы, по меньшей мере, один ингибитор сериновой протеазы, ингибитор ацетилхолинэстеразы, антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), антагонист NMDA рецептора, противоядие и антибиотик; или

(7) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, предпочтительно, по

меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемая соль, антагонист NMDA рецептора и, опционально, одного или более дополнительных терапевтических средств, выбранных из группы, включающей, по меньшей мере, один ингибитор металлопротеиназы, по меньшей мере, один ингибитор сериновой протеазы, ингибитор ацетилхолинэстеразы, антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), ингибитор фактора распространения, антагонист NMDA рецептора, противоядие и антибиотик.

В другом примере осуществления настоящее изобретение предусматривает создание восстанавливаемой фармацевтической композиции, включающей лиофилизированную или сублимированную смесь одного или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ и терапевтически эффективное количество, либо:

(1) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, как приведено в описании настоящей заявки, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемая соль и опционально, по меньшей мере, одного дополнительного терапевтического средства, выбранного из группы, включающей ингибитор металлопротеиназы, ингибитор сериновой протеазы, ингибитор ацетилхолинэстеразы (вводимый предпочтительно путем инъекции), антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), ингибитор фактора распространения, антагонист NMDA рецептора, противоядие и антибиотик; или

(2) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемая соль и, по меньшей мере, одного ингибитора металлопротеиназы, и опционально одного или более дополнительных терапевтических средств, выбранных из группы, включающей ингибитор сериновой протеиназы, ингибитор ацетилхолинэстеразы (вводимый предпочтительно путем инъекции), антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), ингибитор фактора распространения, антагонист NMDA рецептора, противоядие и антибиотик; или

(3) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемая соль и, по меньшей мере, одного ингибитора сериновой протеазы и, опционально, одного или более дополнительных

терапевтических средств, выбранных из группы, включающей ингибитор металлопротеиназы, ингибитор ацетилхолинэстеразы (вводимый предпочтительно путем инъекции), антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), ингибитор фактора распространения, антагонист NMDA рецептора, противоядие и антибиотик; или

(4) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемая соль и, по меньшей мере, одного ингибитора металлопротеиназы и, по меньшей мере, одного ингибитора сериновой протеазы и, опционально, одного или более дополнительных терапевтических средств, выбранных из группы, включающей ингибитор ацетилхолинэстеразы, антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), ингибитор фактора распространения, антагонист NMDA рецептора, противоядие и антибиотик; или

(5) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемая соль и, по меньшей мере, одного ингибитора ацетилхолинэстеразы (зачастую вводимого путем инъекции) и (или) антагонист мускаринового ацетилхолинового рецептора (mAChR), и опционально, одного или более дополнительных терапевтических средств, выбранных из группы, включающей, по меньшей мере, один ингибитор металлопротеиназы, по меньшей мере, один ингибитор сериновой протеазы, антагонист NMDA рецептора, ингибитор фактора распространения, противоядие, и антибиотик; или

(6) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемая соль и одного или более ингибиторов фактора распространения и, опционально, одного или более дополнительных терапевтических средств, выбранных из группы, включающей, по меньшей мере, один ингибитор металлопротеиназы, по меньшей мере, один ингибитор сериновой протеазы, ингибитор ацетилхолинэстеразы, антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), антагонист NMDA рецептора, противоядие и антибиотик; или

(7) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемая соль, антагонист NMDA рецептора и, опционально одного или более дополнительных терапевтических средств,

выбранных из группы, включающей, по меньшей мере, один ингибитор металлопротеиназы, по меньшей мере, один ингибитор сериновой протеазы, ингибитор ацетилхолинэстеразы, антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), ингибитор фактора распространения, антагонист NMDA рецептора, противоядие и антибиотик.

В одном примере осуществления настоящего изобретения, вышеописанные композиции восстановлены для введения пациенту или субъекту.

В одном примере осуществления настоящего изобретения относится к лечению отравлений, вызванных укусами ядовитых животных, с использованием комбинации соединения или композиции противоядия ("противоядие"), как раскрыто в настоящем документе, с ингибитором PLA2 и (или) ингибитором металлопротеиназы и (или) ингибитором сериновой протеиназы. В одном примере осуществления настоящего изобретения противоядие комбинируют, по меньшей мере, с одним соединением, выбранным из группы, включающей вареспладиб, метилвареспладиб, приномастат, маримастат, батимастат, вориностат, камостат, габексат и нафамостат или их фармацевтически приемлемые соли. В предпочтительном примере осуществления настоящего изобретения противоядие комбинируют с вареспладибом, метилвареспладибом или их фармацевтически приемлемой солью. В другом примере осуществления настоящего изобретения противоядие комбинируют, по меньшей мере, с вареспладибом, метилвареспладибом или их фармацевтически приемлемой солью и, по меньшей мере, с одним из таких ингибиторов, как приномастат, маримастат, батимастат, или их фармацевтически приемлемой солью. В другом примере осуществления настоящего изобретения противоядие представляет собой Crofab\*. Вышеуказанные комбинации могут быть совместно введены нуждающемуся в противоядии пациенту или субъекту одновременно, совместно или последовательно.

В одном примере осуществления настоящего изобретения относится к фармацевтической композиции, включающей, по меньшей мере, одно соединение или композицию противоядия в комбинации, по меньшей мере, с одним ингибитором PLA2, ингибитором металлопротеиназы и (или) ингибитором сериновой протеиназы. Композиция может быть рецептурно составлена и введена в виде одной или более частей, либо в виде цельной композиции. В одном примере осуществления настоящего изобретения противоядие комбинируют, по меньшей мере, с одним соединением, выбранным из группы, включающей

вареспладиб, метилвареспладиб, приномастат, маримастат, батимастат, вориностат, камостат, габексат и нафамостат или их фармацевтически приемлемые соли. В предпочтительном примере осуществления настоящего изобретения противоядие комбинируют в фармацевтической композиции с вареспладибом, метилвареспладибом или их фармацевтически приемлемой солью. В другом примере осуществления настоящего изобретения противоядие комбинируют, по меньшей мере, с вареспладибом, метилвареспладибом или их фармацевтически приемлемой солью и, по меньшей мере, с одним из таких ингибиторов, как приномастат, маримастат, батимастат или их фармацевтически приемлемой солью. В другом примере осуществления настоящего изобретения противоядие представляет собой Crofab™.

Следует отметить, что, лечебные препараты в соответствии с настоящим изобретением предусматривают изменяющиеся комбинации, представляющие собой специфические, регионарно специфические и комбинации универсально широкого спектра, которые могут быть введены в нескольких формах последовательно или по отдельности до, во время и после укуса, с последующей госпитализацией или без нее или лечением с применением противоядия. Это позволяет решить давно назревшую исключительно острую проблему. На данный момент не существует эффективной процедуры лечения или профилактики в полевых условиях при отравлении, вызванном укусом змеи, и по оценкам более чем 75% смертей от отравления змеиным ядом, особенно при укусе змеи, случается за пределами лечебного учреждения. Традиционное противоядие, полученное из сыворотки, не может быть безопасно введено за пределами лечебного учреждения. Таким образом, настоящее изобретение предусматривает выработку единственного приемлемого решения существующей проблемы и отвечает давно назревшей необходимости в данной области медицины.

Более того, в зависимости от опасности укуса с медицинской точки зрения, методы лечения в соответствии с настоящим изобретением могут быть полностью эффективными после одноразового экстренного применения лекарства или комбинаций лекарств в полевых условиях самим пострадавшим от укуса, с помощью находящихся рядом людей или медицинским работником, имеющим минимальную медицинскую подготовку и первым оказавшим помощь. Схемы лечения в соответствии с настоящим изобретением сокращают время пребывания в лечебном учреждении, уменьшают количество и стоимость традиционного противоядия, полученного из сыворотки, необходимого для стационарного

лечения или оказания неотложной медицинской помощи при укусе ядовитым животным, и которое вводится в качестве первой помощи, за которой следует поддерживающая терапия в пероральной, назальной или инъекционной формах в течение нескольких дней или недель после укуса, чтобы обойтись во многих случаях без противоядия. Использование указанных схем лечения снижает заболеваемость, летальность и общие расходы на лечение отравлений, вызванных укусами ядовитых животных, в частности, укусами змей.

В одном примере осуществления настоящего изобретения жертва укушена, самостоятельно делает инъекцию, выпивает эликсир или перорально принимает другую биодоступную лекарственную форму, вводит дозу назального спрея и (или) вводит ингаляционно лекарственную форму композиции настоящего изобретения, и после этого направляется в больницу или другое медицинское учреждение для лечения с применением противоядия или прохождения наблюдения (диагностирования и (или) дальнейшего лечения с помощью композиции в соответствии с настоящим изобретением). В том случае, если симптомы слабо выражены, композиции настоящего изобретения могут приниматься периодически в виде пилюль, в жидкой или аэрозольной форме (например, каждые 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, или 12 часов или даже один раз в сутки в форме пролонгированного и (или) контролируемого высвобождения) до тех пор, пока яд не будет полностью выведен из организма (этот процесс может длиться от 1 до 10 или более дней – вплоть до приблизительно трех недель).

Ввиду отсутствия внебольничных фармацевтических методов лечения при отравлении змеиным ядом и основных эффективных методов лечения, за исключением традиционного противоядия, изобретение позволяет удовлетворить давно назревшую исключительно важную медицинскую потребность в методах лечения. Кроме того, схемы лечения изобретения являются экономичными, безопасными и могут быть переведены с экстренной медицинской помощи на амбулаторное или упрощенное стационарное лечение.

Таким образом, настоящее изобретение предусматривает создание доступного по цене, широко применяемого антидота от укусов змей и для лечения других, вызванных ядом травмах, который окажет помощь миллионам людей, рискующим умереть или получить травму конечности при отравлении змеиным ядом. Следует отметить, что вареспладиб и метилвареспладиб, пролекарство вареспладиба, являются эффективными и имеют высокую активность против широкого спектра ядов животного происхождения. Оба проявляют эффективность

при ингибировании ферментов MP/SP змеиного яда, а также демонстрируют практичность при оперативном лечении укусов любых змей в качестве терапии первой линии. Вареспладиб и метилвареспладиб могут быть введены по отдельности, совместно или смешаны с противоядием, ингибиторами MP, ингибиторами SP и другими ингибиторами или эффективными лекарствами, а также противоядиями – в любом порядке, составе или в любой лекарственной форме. Существует несколько эффективных путей доставки как для лекарства, так и пролекарства и их сочетаний с другими фармацевтически эффективными композициями.

#### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРЕЖЕЙ

На Фиг. 1 показана временная динамика активности PLA2, когда избыток яда сочетали с вареспладибом, метилвареспладибом или только с одним ядом (контроль). Как вареспладиб, так и метил вареспладиб проявили устойчивое ингибирование активности sPLA2 змеиного яда несмотря на чрезвычайную активность избытка яда (Пример 3).

На Фиг. 2А и В показана временная динамика активности металлопротеиназы при комбинировании исключительно высоких концентраций яда с испытуемыми веществами (Пример 4).

На Фиг. 3 показана временная динамика активности сериновой протеазы при комбинировании исключительно высоких концентраций яда с известными ингибиторами MP и sPLA2. Вареспладиб и метилвареспладиб проявляли ингибиторную активность против испытуемой сериновой протеазы змеиного яда (Пример 5).

На Фиг. 4 показано ингибирование активности PLA2 змеиных ядов вареспладибом. Ни вареспладиб, ни дарапладиб не ингибировали значительно sPLA2 пчелиного яда с той же самой степенью активности как sPLA2 змеиного яда. Вареспладиб, но не дарапладиб (отрицательный контроль) эффективно ингибирует PLA2 змеиного яда. Стоит отметить, что, PLA2 пчелиного яда не ингибируется вареспладибом (Пример 6).

На Фиг. 5A-R вареспладиб и метилвареспладиб продемонстрировали высокую степень активности против активности sPLA2 змеиного яда. Ни вареспладиб, ни метилвареспладиб не обладает той же самой степенью активности против sPLA2 пчелиного яда (Пример 6).

На Фиг. 6A-H вареспладиб является профилактически и терапевтически эффективным против летальных доз яда *Micrurus fulvius* (Арлекиновый

коралловый аспид) у мышей и крыс. Приведены примеры испытания настоящего изобретения *in vivo* на мышах и крысах. Проведение терапии с использованием вареспладиба до, одновременно или после подкожных инъекций высоких доз яда арлекинового кораллового аспида продемонстрировало высокую выживаемость у мышей и крыс, обусловленную проведением курса такого лечения на основе вареспладиба. Был предотвращен острый гемолиз путем проведения терапии с использованием внутривенного введения вареспладиба, и уровни PLA2 были соответственно снижены за счет терапии с вареспладибом у тех же самых животных. 100% крыс, которым вводили вареспладиб внутривенно после подкожного введения яда арлекинового кораллового аспида, выжило (Пример 7).

На Фиг. 7 проиллюстрирован повышенный уровень выживаемости мышей, которым совместно инъекционно вводили яд гремучей змеи и вареспладиб или вареспладиб и ингибитор MP. Кроме того, мыши, которым ввели метилвареспладиб и ингибитор MP, были защищены от гибели при воздействии яда гремучей змеи (*C. atrox*) (Пример 8).

На Фиг. 8 продемонстрировано, что мыши, которым предварительно подкожно инъекционно вводили вареспладиб, были защищены от гибели при введении яда гадюки Расселла (*Daboia russelli*), который также был введен подкожно (Пример 9).

На Фиг. 9 показано, что вареспладиб является профилактически и терапевтически эффективным против летальных доз яда гадюки обыкновенной (*Vipera berus*) (яд гадюки обыкновенной в организме мышей) (Пример 10).

На Фиг. 10 показано ингибирование приномастатом, батимастатом и маримастатом ядов семейства аспидовых змей *in vitro*.

На Фиг. 11 показано действие приномастата в качестве ингибитора MP ядов гадюк *in vitro*.

На Фиг. 12 показано действие батимастата в качестве ингибитора MP ядов гадюк *in vitro*.

На Фиг. 13 показано действие маримастата в качестве ингибитора MP ядов гадюк *in vitro*.

На Фиг. 14 показано действие сериновой протеазы в качестве ингибитора яда гадюки и одного аспида (*in vitro*). Нафамостат проявил исключительно высокую активность против яда семейства аспидовых змей и тайпана *in vitro*.

На Фиг. 15 в Таблице 3 приведены концентрации полумаксимального ингибирования (IC50s) для ингибирования sPLA2 вареспладибом (Пример 12).

Вареспладиб проявил неожиданно высокую активность против нескольких змеиных ядов (Пример 12).

На Фиг. 16 в Таблице 4 приведены концентрации полумаксимального ингибирования (IC<sub>50</sub>) для ингибирования sPLA<sub>2</sub> метилвареспладибом. Метилвареспладиб проявил неожиданно высокую активность против нескольких змеиных ядов (Пример 12).

На Фиг. 17 в Таблице 5 приведены концентрации полумаксимального ингибирования (IC<sub>50</sub>) для приномастата индуцированного ингибирования MP *in vitro* (Пример 2). Приномастат обладает более широким спектром активности против металлопротеиназы змеиного яда, по сравнению с активностью, о которой сообщалось ранее.

На Фиг. 18 в Таблице 6 приведены концентрации полумаксимального ингибирования (IC<sub>50</sub>) для маримастат индуцированного ингибирования MP *in vitro*.

На Фиг. 19 в Таблице 7 приведены концентрации полумаксимального ингибирования (IC<sub>50</sub>) для батимастат индуцированного ингибирования MP *in vitro*.

На Фиг. 20 в Таблице 8 приведены концентрации полумаксимального ингибирования (IC<sub>50</sub>) для вориностат, иломастат, габексат и нафамостат индуцированного ингибирования MP *in vitro*.

## ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

### I. ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Нижеприведенные термины используются по всему описанию настоящего изобретения. В том случае, если термину не будет дано конкретное определение в данном контексте, то следует понимать, что этот термин используется в соответствии со значением, очевидным специалистами в данной области.

В тех случаях, когда указывается диапазон значений, следует понимать, что каждое промежуточное значение до десятой доли единицы нижнего предела, если в контексте однозначно не указано иное, между верхним и нижним пределом указанного диапазона, или любое иное фактическое или промежуточное значение в этом указанном диапазоне включено в настоящее изобретение. Изобретение также может охватывать верхний и нижний пределы указанных меньших диапазонов, которые могут быть независимо включены в меньшие диапазоны, с учетом любого специфически исключенного предела в указанном диапазоне. В том случае, если указанный диапазон включает один или оба предела, диапазоны, исключаящие любой из двух, либо оба из указанных включенных

пределов, также включены в изобретение. В тех случаях, если заместитель является возможностью включения в одну или более групп Маркуша, следует понимать, что предусматривается использование только тех заместителей, которые образуют устойчивые связи.

Если не определено иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют одно и то же значение, однозначно и повсеместно понимаемое специалистами в данной области техники, к которой относится настоящее изобретение. Несмотря на то, что любые способы и материалы, аналогичные и эквивалентные способам и материалам, описание которых приведено в настоящей заявке, также могут быть использованы на практике или при испытании настоящего изобретения, ниже приведено описание предпочтительных методов и материалов.

Следует отметить, что в соответствии со значением, используемом в настоящем контексте и в прилагаемой формуле изобретения, формы единственного числа "a," и "the" включают ссылки на множественно число, если только в контексте четко не указано иное.

В соответствии со значением, используемом в настоящем контексте, "AChE" является сокращением ацетилхолина; "AChEI" является сокращением ингибитора ацетилхолинэстеразы; "mAChR" является сокращением ацетилхолинового мускаринового рецептора; "nAChR" является сокращением никотинового ацетилхолинового рецептора; ингибиторы AChE, которые также могут ингибировать бутирилхолинэстеразы (BChE), псевдохлинэстеразы, а также подразумеваются и другие. "MP" является сокращением для металлопротеиназы (например, матриксной металлопротеиназы млекопитающих, MMPs, змеиного яда металлопротеазы, SVMPS; "SP" является сокращением для сериновых протеаз; "MPI" является сокращением для ингибитора металлопротеиназы. Яды животного происхождения (например, яды змеи) секретируются, и в контексте ядов животного происхождения "PLA2" и "sPLA2" используются взаимозаменяемо; PLA2-I является сокращением ингибитора фосфолипазы; и "SPI" - сокращением ингибитора сериновой протеазы.

Далее, нижеприведенные термины имеют следующие определения.

Термин "пациент" или "субъект" используется по всему тексту описания настоящего изобретения с целью описания животного, в основном млекопитающего, в частности, включая одомашненное животное (например, собака, кот, корова, лошадь, овца, коза и т.д.) и предпочтительно человека,

которым предоставляется лечение, включая профилактическое лечение (профилактику), с использованием соединений или композиций в соответствии с настоящим изобретением. Для лечения указанных состояний и заболеваний, являющихся специфическими в отношении конкретного животного, такого как пациент-человек, термин пациент относится к указанному конкретному животному. В большинстве случаев пациент или субъект настоящего изобретения представляет собой пациента-человека одного или обоих полов. Субъекты, предполагаемые для проведения лечения в соответствии с методом настоящего изобретения, включают людей, домашних животных, лабораторных животных, домашний скот, лошадей и т.д.

Термин "эффективный" используется в настоящем контексте, если не указано иное, для описания количества соединения или компонента, который при использовании в контексте его применения, позволяет получить предполагаемый результат или оказать влияние на предполагаемый результат независимо от того, относится ли этот результат к профилактике и (или) лечению отравления змеиным ядом и (или) к болезненному состоянию или к состояниям/симптому в соответствии с приведенным описанием. Термин «эффективный» также предполагает все другие термины эффективного количества или эффективной концентрации (включая термин "терапевтически эффективный"), описание которых приведено или используется в настоящей заявке. Термин «эффективный» также включает периоды введения, независимо от того является ли такое введение единичным введением, зачастую перорально или путем инъекции, или единичным введением спустя часы, дни или недели дополнительного введения до момента времени прекращения введения ввиду полного выведения яда из организма пациента или на основе решения внедрения альтернативной терапии, включая введение традиционной композиции противоядия на основе сыворотки. Следует отметить, что в одном аспекте настоящее изобретение предусматривает введение эффективного количества композиции в соответствии с приведенном в настоящей заявке описанием до тех пор, пока не будут достигнуты снижение опасных уровней активности sPLA2 или MP, нормализация состава крови и факторов коагуляции, и до тех пор, пока не будет наблюдаться устойчивое улучшение признаков или симптомы отравлений у пациента. После введения композиции может быть продолжено лечение или повторное лечение с использованием альтернативных композиций, в частности, включающих традиционные противоядные композиции.

Термин "соединения" используют в настоящем контексте для описания любого специфического соединения или биоактивного вещества, раскрытого в настоящей заявке, включая любые и все стереоизомеры (включая диастереомеры), отдельные оптические изомеры (энантиомеры) или рацемические смеси, фармацевтически приемлемые соли, включая альтернативные фармацевтически приемлемые соли, пролекарственные формы и дейтерированные или другие изотопные замещения. Термин «соединения» в настоящем описании относится к устойчивым соединениям. В пределах его использования в данном контексте термин «соединения» может относиться к единичному соединению или к смеси соединений, как далее описано в настоящей заявке. Соединения для использования в настоящем изобретении могут также включать гидраты, сольваты и (или) полиморфы отдельных соединений. При раскрытии биоактивного вещества для использования в настоящем изобретении понимается, что такой термин в пределах контекста его использования включает его фармацевтически приемлемые соли и (или) альтернативные фармацевтически приемлемые соли, если однозначно не указано иное.

"Укус змеи" включает "сухой" укус змеи, а также укусы, приводящие к отравлению змеиным ядом или укусы неядовитых или неопределенных змей. Существует ряд способов определения того, что субъект пострадал от укуса змеи. Указанные способы определения укуса включают: субъект или другое лицо явилось очевидцем укуса; наблюдается физическое подтверждение укуса змеи (например, колотые ранки или рваные раны, локализованная боль, местное покраснение или отек); у субъекта проявляются признаки или симптомы, указывающее на отравление укусом змеи (например, боль, покраснение, нарушение свертываемости крови, или другое подтверждение отравлений, вызванных укусами ядовитых животных, например, слабость или паралич); у субъекта проявляются признаки или симптомы, указывающее на нейротоксическое отравление змеиным ядом, и у субъекта ранее не диагностировалось состояние, за исключением нейротоксичного отравления змеиным ядом, служащего причиной признаков или симптомов; обнаружен яд или действие яда, (например, в месте укуса, в моче или в крови, с использованием комплекта для обнаружения яда от укуса змеи/действия яда) или путем проведения анализа повышенной активности PLA2. Визуальная идентификация змеи может указывать на то, что субъект был укушен ядовитой змеей, обладающей нейротоксичным ядом даже при отсутствии следов ядовитых клыков

или зубов (например, при укусе крайта (Bungarus)).

«Признаки» и «симптомы» нейротоксичного отравления змеиным ядом включают парестезию, сонливость, парез взгляда, паралич малых мышц, приводящий к блефароптозу (ретракция верхнего века), слабость мышц шеи, дисфагию, мидриаз, фасцикуляцию, повышенное слюноотделение, повышенное потоотделение, потерю координации мышц, боль в животе, затрудненную речь, тошноту, затруднённое глотание и другой бульбарный паралич и рвоту, гипотензию, расстройство дыхания и паралич дыхательных мышц. В некоторых случаях у субъекта проявляются ранние признаки, включающие ранние признаки нейротоксичного отравления змеиным ядом, такие как паралич малых мышц в форме ретракции верхнего века, парез взгляда, затруднённое глотание и другой бульбарный паралич. Клинические оценки мышечной функции субъекта, подвергшегося отравлению змеиным ядом или, у которого имеются подозрения на отравление змеиным ядом, включают: остроту зрения, свободное глотание, свободу высунуть язык, дикция, способность полностью поднимать голову от кровати и держать ее более пяти секунд (сгибание шеи) и пониженный пик дыхательного потока. "Яд" имеет свое нормальное значение и является ядовитой секрецией животного, такого как змея, другие рептилии, амфибии, пауки, скорпионы, клещи, конус улитки, кишечнополостные (медузы), и т.д., вводимой при укусе или уколе жалом.

"Противоядие", "антитело против антигенов змеиного яда" или "антитоксическая иммунная сыворотка" представляет собой биологический продукт, используемый при лечении отравлений в результате укусов или уколов жалом ядовитых животных. Противоядие обычно получают путем «доения» ядовитых позвоночных, таких как змея, ящерица или рыба для сбора яда или путем его экстрагирования из беспозвоночных, таких как паук, клещ, насекомые, кишечнополостные или моллюск. Затем яд разводят и вводят путем инъекции лошади, овце, кролику или козе или в куриные яйца. В организме субъекта-животного или в яйце возникает иммунный ответ на яд, при котором вырабатываются антитела против антигенных молекул яда, которые затем могут извлекаться из крови животного, подвергаться очистке и использоваться для лечения пациентов, пострадавших от отравления змеиным ядом. В международном масштабе противоядия должны соответствовать стандартам фармакопеи и Всемирной организации здравоохранения.

"Параспецифические" противоядия – противоядия, обладающие

действием или свойствами, дополняющими действия и свойства специфических противоядий и считающимися эффективными с медицинской точки зрения (например, для определения параспецифических действий противоядия).

"Отравление" относится к введению яда в организм жертвы в результате укуса рептилии, амфибии, артропода, моллюска, стрекающих кишечнорастворимых, насекомых, кишечнорастворимых или других ядовитых позвоночных или беспозвоночных животных и включает нейротоксическое и ненейротоксическое отравление ядом и отравление ядами неопределенного характера, а также офтальмию в результате «выстреливания» яда коброй. Примеры ненейротоксического отравления ядом включают гемотоксическое, васкулотоксическое, кардиотоксическое и миотоксическое отравление, и в общем называется в описании ниже "гемотоксическим" или "цитотоксическим" отравлением ядом.

"Нейротоксическое отравление" относится к отравлению нейротоксичным ядом. Нейротоксичные яды животного происхождения включают, например, в частности, яды животного происхождения, вырабатываемые ядовитыми змеями.

"Ядовитая змея" относится к змее, имеющей яд с любым соотношением нейротоксических, гемотоксических, васкулотоксических, миотоксических, цитотоксических и (или) других токсических свойств. Например, и в том числе, ядовитые змеи включают кобру, крайт, гадюку Рассела, мамбу, прибрежный тайпан, новогвинейскую гадюкообразную смертельную змею, бумсланг (ужеобразную змею), гремучую змею, арлекиновый коралловый аспид, ластохвостов (Hydrophiinae), помимо многих других. Все гадюки, включая гремучих змей, гадюку Рассела, песчаную эфу, копьеголовую гадюку, европейскую гадюку, куфию и щитомордника, помимо многих других, являются ядовитыми. В общей сложности существует приблизительно 600 видов ядовитых змей, причем выявлено, что более 200 из них имеют медицинское и ветеринарное значение по всему миру. Следует иметь в виду, что яды животного происхождения имеют сложные составы протеинов и других веществ с токсическими свойствами. Таким образом, яд змеи, обладающий нейротоксическим действием, может включать вещества с гемотоксическими, васкулотоксическими, кардиотоксическими, миотоксическими и (или) другими токсическими свойствами, в том числе нейротоксины.

Термины "лечить", "проводить лечение", и "лечение" используются синонимично в отношении любого действия, приносящего терапевтический

эффект пациенту, подвергнутому риску или страдающему от отравления, включая улучшение состояния за счет облегчения, ингибирования, подавления или устранения, по меньшей мере, одного симптома, замедления прогрессирования или поражения от отравления змеиным ядом или связанной с ним болезни, предотвращение, замедление или ингибирование вероятности возникновения симптомов отравлений, вызванных укусами ядовитых животных, и т.д. Лечение, в соответствии со значением, используемом в настоящем контексте, может включать как профилактическое, так и терапевтическое лечение в основном отравлений, вызванных укусами ядовитых животных, а также других нарушений, связанных с отравлением ядом, описанных в настоящей заявке или также известных специалистам в данной области техники.

"Устойчивый при хранении" означает что композиция является устойчивой в течение периода времени, составляющего, по меньшей мере, от приблизительно трех до приблизительно шести месяцев или более, при температуре приблизительно от 20°C - 35°C до приблизительно 40°C.

Термин "фармацевтически приемлемый" в соответствии со значением, используемом в настоящем контексте означает, что соединение или композиция является приемлемой для введения субъекту, включая пациента-человека, для проведения лечения, описанного в настоящей заявке, без исключительно вредных побочных эффектов с учетом тяжести заболевания и необходимости проведения лечения.

Термин "низкомолекулярный" в соответствии со значением, используемым в настоящем контексте, относится к молекуле с низким молекулярным весом, менее приблизительно 2500, или менее приблизительно 1000, или менее приблизительно 750, или менее приблизительно 500.

## II. ОБЗОР ИЗОБРЕТЕНИЯ

В некоторых примерах осуществления настоящее изобретение предусматривает создание метода лечения или снижения вероятности возникновения вызванной нейротоксином респираторной недостаточности у человека-субъекта (или другого млекопитающего) путем определения того, что субъект является жертвой укуса змеи или другого отравление ядом, и введение ингибитора (-ов) PLA2. В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения ингибитор PLA2 представляет собой 1H-индол-3-глиоксиамид. В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения ингибитор (-ы) PLA2

представляет (-ют) собой вареспладиб и (или) метилвареспладиб.

Изобретатель обнаружил, что вареспладиб, метилвареспладиб, другие ингибиторы PLA2, такой как 1H-индол-3-глиоксиамид, являются эффективными для предотвращения летального исхода и других негативных последствий отравлений, вызванных укусом большого количества ядовитых животных, включая змей, в том числе как гадюк, так и аспидов.

В конкретных примерах осуществления настоящего изобретение предусматривает создание метода лечения или снижения вероятности возникновения вызванной нейротоксином респираторной недостаточности у человека-субъекта (или другого млекопитающего) путем определения того, что субъект является жертвой укуса змеи или другого отравление ядом, и введение (или совместное введение) фармацевтически эффективной дозы одной или более композиций, выбранных из группы, включающей ингибитор PLA2, ингибитор металлопротеиназы и ингибитор сериновой протеазы и, опционально, проведение адъювантной комбинированной терапии, в соответствии с описанием в настоящей заявке (например, совместное введение антибиотика, ингибитора фактора распространения, ингибитора ацетилхолинэстеразы с антагонистом mACh или без него).

В одном аспекте настоящее изобретение предусматривает создание метода лечения или снижения вероятности возникновения повреждения тканей, нарушения гемостаза и свертываемости крови, сердечно-сосудистой недостаточности или вызванной нейротоксином респираторной недостаточности у человека или животного, включающие определение или клиническое подозрение на то, что субъект является жертвой укуса змеи, и введение фармацевтически эффективных доз ингибитора субъекту, при котором ингибитор вводят или не вводят путем инъекции, либо вводят при сочетании инъекционных и неинъекционных способов.

Предпочтительная композиция в соответствии с настоящим изобретением включает, по меньшей мере, один ингибитор PLA2, предпочтительно вареспладиб и (или) метилвареспладиб, по отдельности или в сочетании с одним или более средствами/композициями, представленными выше.

В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения ингибитор PLA2 представляет собой вареспладиб, метилвареспладиб или их комбинацию.

В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения ингибитор используют для лечения отравления при укусе (i) аспида; ii) гадюки; или (iii)

ужеобразной змеи.

В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения ингибитор используют для лечения отравления при укусе кобры (*Naja*), такой как индийская кобра (*Naja naja*), капская кобра (*Naja nivea*), китайская кобра (*Naja naja atra*), моноклевая кобра (*Naja naja kaouthia*), черно-белая кобра (*Naja melanoleuca*), королевская кобра (*Ophiophagus Hannah*), ошейниковая кобра (*Hemachatus haemachatus*) или иные важные с медицинской точки зрения змеи из семейства аспидовых в Азии, Африке и Австралии.

В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения ингибитор используют для лечения отравления при укусе крайта (*Bungarus* (крайта)), такого как ленточный крайт (*Bungarus* (крайта) *fasciatus*), индийский крайт (*Bungarus* (крайта) *caeruleus*) и других змей семейства аспидовых в Азии, Юго-Восточной Азии, Океании, Африке, Австралии и в некоторых случаях в Америке и Европе.

В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения ингибитор используют для лечения отравления при укусе прибрежного тайпана (*Oxyuranus*), такого как обыкновенный тайпан (*Oxyuranus scutellatus*), змей рода *Acanthophis* (австралийский шипохвост), такой как гадюкообразная смертельная змея (*Acanthophis antarcticus*), а также змей рода *Pseudechis* (коричневый король и мулга), тигровых змей (*Notechis*) и других аспидовых Австралии, Папуа-Новой Гвинеи и близлежащих регионов.

В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения ингибитор используют для лечения отравления при укусе змей рода аспидов (*Micrurus*), такого как арлекиновый коралловый аспид и других коралловых аспидов Северной и Южной Америки и Юго-Восточной Азии.

В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения ингибитор используют для лечения отравления при укусе морской змеи (например, морской крайт (*Laticauda semifasciata*)) и других морских змей в большой группе подсемейства аспидов (*Hydrophiinae*).

В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения ингибитор используют для лечения отравления при укусе змей семейства *Dendroaspis* (черная мамба (*Dendroaspis polylepis*)).

В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения ингибитор используют для лечения отравления при укусе гадюковых, таких как гадюки, гремучие змеи, медянки/водяные щитомордники бушмейстеры, включая, в частности, гремучие змеи, такие как ромбический гремучник (*C. adamanteus*),

техасский гремучник (*C. atrox*), мойавский ромбический гремучник (*C. scutulatus scutulatus*) и другие, такие как обыкновенная гадюка (*Vipers berus*), копьеголовая змея (*Bothrops asper*), обыкновенная жарарака (*Bothrops jararaca*), габонская гадюка (*Bitis gabonica*), обыкновенный щитомордник (*Gloydus brevicaudis*), изящная древесная гадюка (*Trimeresurus elegans*) и другие виды гадюк, обитающие в различных странах мира.

В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения ингибитор используют для лечения отравления ядом гадюки Рассела (*Daboia spp*), *Daboia russelli* (также известной как цепочная гадюка (*D. russeli*, *Vipera russelli*)), тем самым предотвращая непосредственную угрозу жизни, поражение почек и инфаркт гипофиза.

В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения ингибитор используют для лечения отравления ядом эфы (*Echis*), такой как песчаная эфа (*Echis carinatus*) и других важных с медицинской точки зрения видов эф.

В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения ингибитор используют для лечения отравления ядом настоящих гремучников (ямкоголовая гадюка, гремучая змея), таких как мойавский ромбический гремучник (*Crotalus scutulatus scutulatus*), техасский гремучник (*Crotalus atrox*), ромбический гремучник (*Crotalus adamanteus*), мексиканский зеленый гремучник (*Crotalus basiliscus*) и другие гремучие змеи.

В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения ингибитор используют для лечения отравления ядом ямкоголовых (*Agkistrodon*) (щитомордник), таких как водяной щитомордник (*Agkistrodon piscivorus*), медноголовый щитомордник (*Agkistrodon contortrix*), гладкий щитомордник (*Agkistrodon calloselasma rhodostoma*) и восточный щитомордник (*Agkistrodon blomhoffii brevicaudus*).

В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения ингибитор используют для лечения отравления змеиным ядом африканских гадюк, таких как габонская гадюка (*Bitis gabonica*) и хвостатая гадюка (*Bitis caudalis*).

В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения ингибитор используют для лечения отравления ядом ужеобразных змей, таких как бумсланги, древесные змеи, остроголовые змеи и мангровые змеи.

При применении некоторых методов ингибитор PLA2 может быть использован в качестве единичного средства. В предпочтительных аспектах в настоящем изобретении используется эффективное количество ингибитора PLA2

(предпочтительно, 1Н-индол-3-глиоксиамиды, в частности вареспладиб, метилвареспладиб или индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемая соль или их смеси) в качестве отдельного средства или средств для лечения субъекта, страдающего от отравления ядом.

При применении некоторых методов вареспладиб и (или) метилвареспладиб вводят пострадавшему от отравления ядом субъекту без введения противоядия, других низкомолекулярных ингибиторов MP или других низкомолекулярных ингибиторов SP. При применении некоторых методов вареспладиб и (или) метилвареспладиб вводят пострадавшему от отравления ядом субъекту, и в последующем не вводят введения противоядия, другие низкомолекулярные ингибиторы MP или другие низкомолекулярные ингибиторы SP в течение определенного периода времени после введения ингибитора PLA2. Указанный период времени может составлять, по меньшей мере, приблизительно 1 час, по меньшей мере, приблизительно 2 часа, по меньшей мере, приблизительно 3 часа, по меньшей мере, приблизительно 4 часа, по меньшей мере, приблизительно 5 часов, по меньшей мере, приблизительно 10 часов, по меньшей мере, приблизительно 12 часов или, по меньшей мере, приблизительно 24 часа. В других примерах осуществления настоящего изобретения вареспладиб и (или) метилвареспладиб могут быть введены совместно или скомбинированы со специфической или поливалентной смесью противоядия.

Следует отметить, что в некоторых предпочтительных примерах осуществления настоящего изобретения вареспладиб и (или) метилвареспладиб могут быть использованы при отсутствии отдельного ингибитора сериновой протеазы или ингибитора металлопротеазы.

В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения ингибитор PLA2 не является специфическим для PLA2 яда, но он обладает ингибиторной активностью против как PLA2 млекопитающих (например, человека, мыши или крысы), так и PLA2 яда. Без привязки к конкретному механизму эффективность ингибитора PLA2 (например, вареспладиба и метилвареспладиба) может быть обусловлена двойным ингибированием активности PLA2 хозяина (млекопитающего или человека), тем самым сокращая выработку С-реактивного белка хозяина и снижая воспалительную реакцию, а также активности PLA2 яда, тем самым снижая предрасположенность к развитию паталогических каскадов, связанных с повреждением тканей, истощающей коагулопатии и других токсикологических каскадов, вызываемых попаданием яда в организм или в глаза.

При одном подходе ингибитор sPLA2 имеет более низкую концентрацию полумаксимального ингибирования (IC50) для PLA2 человека по сравнению с концентрацией полумаксимального ингибирования (IC50) PLA2 змеиного яда. В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения значение концентрации полумаксимального ингибирования (IC50) для PLA2 яда эквивалентно 10-кратному, 100-кратному, 1000-кратному значению PLA2 человека или ниже известного значения для PLA2 человека.

Кроме того, как описано в Примере 11, было обнаружено, что вареспладиб и метилвареспладиб дополнительно к проявлению активности ингибирования PLA2 против широкого спектра змеиных ядов, также ингибирует активность MP и SP яда ряда змей. Следует отметить, что в ряде случаев вареспладиб и метилвареспладиб проявляли себя как более активные ингибиторы MP и SP по сравнению с рядом испытанных ингибиторов для применения против змеиных ядов, являющихся важных с медицинской точки зрения. См., например, Фиг. 2А, В и Фиг. 3. Без привязки к конкретному механизму эффективность ингибитора PLA2, используемого для проведения монотерапии, может быть повышена путем сочетания активности ингибирования PLA2 и активности ингибирования SP и (или) MP.

При применении некоторых методов ингибитор PLA2 может быть использован в качестве комбинированной терапии. В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения ингибитор PLA2 вводят в комбинации с одним или более средством, выбранным из группы, включающей противоядие (или антивенин), низкомолекулярный (-ые) ингибитор (-ы) металлопротеиназы и низкомолекулярный (-ые) ингибитор (-ы) сериновой протеазы.

В различных примерах осуществления настоящего изобретения комбинированная терапия может включать введение 2-х или более активных веществ, которые скомбинированы (например, смешаны вместе или скомбинированы в единичную дозированную лекарственную форму) или совместно введены (оба введены как часть курса лечения для лечения отравления змеиным ядом). Совместно вводимые лекарственные средства могут вводиться одновременно (например, в виде двух или более отдельных единичных дозированных лекарственных форм, в виде одновременного перорального и внутривенного введения и других путей введения) или могут быть введены приблизительно в одно и то же время (одновременно) или последовательно (например, с интервалом приблизительно в одну или две минуты, с интервалом

приблизительно 10 минут, с интервалом приблизительно 30 минут, или с интервалом приблизительно 60 минут, или с интервалом от 90 до 120 минут, или с интервалом 180 минут). Средства также могут быть введены в разное время, как часть одного и того же курса лечения. Например, пациенту может быть введено одно лекарственное средство ежедневно, второе – еженедельно, как часть одного курса лечения. Аналогичным образом, пациент может пройти начальный курс лечения (например, с использованием вареспладиба и (или) метилвареспладиба) для того, чтобы далее приступить к интенсивному курсу лечения подозреваемого или подтвержденного отравления змеиным ядом и второочередному лечению (например, с применением противоядия) в дальнейшем (например, в течение 12 часов, в течение 24 часов, или в течение 36 часов), как часть одного курса лечения.

Термин "совместное введение" используют для описания введения двух или более активных соединений в эффективных количествах. Хотя термин «совместное введение» предпочтительно включает введение двух или более активных соединений пациенту приблизительно в одно и то же время (одновременно, совместно или даже последовательно), не обязательно, чтобы соединения фактически вводили точно в одно время (одновременно) или даже в быстрой последовательности (совместно/последовательно), только при этом необходимо, чтобы количество соединений было введено пациенту или субъекту таким образом, чтобы обеспечивалась эффективная концентрация в крови, сыворотке или плазме или в лёгочной ткани одновременно для достижения намеченного результата.

Термин "комбинирование" относится к более чем одному активному соединению, включенному в состав единичной лекарственной формы для введения пациенту в такой единичной лекарственной форме. Как было отмечено, термин «совместное введение» включает термин «комбинирование», по меньшей мере, для целей синхронизации введения рассматриваемых активных соединений.

При одном подходе субъект, нуждающийся в лечении, проходит совместную терапию, включающую один или более ингибиторов PLA2 (например, вареспладиб или метилвареспладиб) и противоядие.

При применении некоторых методов ингибитор PLA2 может быть использован в качестве комбинированной терапии. При одном подходе субъект, нуждающийся в лечении, проходит совместную терапию, включающую один или

более ингибиторов PLA2 (например, вареспладиб или метилвареспладиб) и ингибитор MP. При применении некоторых методов ингибитор MP представляет собой приномастат. При применении некоторых методов ингибитор MP выбирают из вориностата, цефиксима и других цефалоспоринов, тазидима, Abbott-50192, доксициклина и других тетрациклинов, нафамостата, гинкголида А, леводопы, GM6001, габексата, актарита, гранисетрона, маримастата, батимастата и скополамина.

При применении некоторых методов ингибитор PLA2 может быть использован в качестве комбинированной терапии. При одном подходе субъект, нуждающийся в лечении, проходит совместную терапию, включающую один или более ингибиторов SPL2 (например, вареспладиб или метилвареспладиб) и ингибитор SP. При применении некоторых методов ингибитор SP представляет собой нафамостат или габексат или AEBSF (4-(2-аминоэтил) бензолсульфонил фторид гидрохлорид).

При применении некоторых методов ингибитор PLA2 может быть использован в качестве комбинированной терапии. При одном подходе субъект, нуждающийся в лечении, проходит совместную терапию, включающую один или более ингибиторов SPL2 (например, вареспладиб или метилвареспладиб) и ингибитор MP и ингибитор SP. При применении некоторых методов ингибитор SP выбран из нафамостата, габексата и AEBSF и ингибитор MP выбран из приномастата, вориностата, цефиксима и других цефалоспоринов, тазидима, Abbott-50192, доксициклина и других тетрациклинов, нафамостата, гинкголида А, леводопы, GM6001, габексата, актарита, гранисетрона, маримастата, батимастата и скополамина. При применении некоторых методов ингибитор MP представляет собой приномастат или вориностат, и ингибитор SP представляет собой нафамостат, габексат или AEBSF.

Некоторые методы лечения в случае попадания яда в глаз или глаза пациента (например, офтальмия, вызванная «выстреливанием» яда коброй) и моно- или комбинированная терапия на основе вареспладиба применяются топикально.

### III. СУБЪЕКТ

В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения субъект, подвергшийся риску отравления ядом или страдающий от отравления змеиным ядом, подвержен риску поражения тканей под действием гемотоксина,

цитотоксина, кардиотоксина или миотоксина, поражения конечностей или органов зрения, при этом может иметь или не иметь место почечная недостаточность, полиорганная недостаточность и (или) сердечно-сосудистая недостаточность вследствие отравления ядом змеи, рыбы, артропода, моллюска, стрекающего кишечнополостного или других ядовитых животных.

Субъектами являются млекопитающие, включая, например, человека, нечеловекообразных приматов, мышей, крыс, собак и кошек.

В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения субъект, который, как известно, был отравлен ядом, проходит лечение в соответствии с настоящим изобретением (например, лечение проводят с использованием ИН-индол-3-глиоксиамида, такого как вареспладиб и (или) метилвареспладиб). В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения известно, что субъект был отравлен ядом гадюки. В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения известно, что субъект был отравлен ядом аспида. В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения известно, что субъект был отравлен ядом ужеобразной змеи. В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения не известно, был ли субъект отравлен ядом при укусе гадюки, или аспида, или ужеобразной змеи (т.е., вид змеи не известен во время лечения). В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения субъект был отравлен ядом при укусе змеи неизвестного вида.

В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения субъект был отравлен дозой яда, превышающей среднюю смертельную дозу (LD50) для яда в организме человека или позвоночных, не относящихся к человеку. В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения субъект был отравлен дозой яда, не превышающей среднюю смертельную дозу (LD50) для яда в организме человека или позвоночных, не относящихся к человеку. В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения субъект был отравлен дозой яда, которая, по меньшей мере, в 0,5 раз больше средней смертельной дозы (LD50) для яда в организме человека или позвоночных, не относящихся к человеку. В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения субъект был отравлен дозой яда которая, по меньшей мере, в 2 раза больше средней смертельной дозы (LD50) для яда в организме человека или позвоночных, не относящихся к человеку.

#### IV. ИНГИБИТОРЫ ФОСФОЛИПАЗЫ A2

Липазы являются ферментами, высвобождающими биологически активные молекулы из мембранных липидов. Семейство основных ферментов липазы включает фосфолипазу A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>). Фосфолипаза A<sub>2</sub> катализирует гидролиз фосфолипидов в позиции sn-2, в результате которого получают свободную жирную кислоту и лизофосфолипид. PLA<sub>2</sub> способствует высвобождению и (или) формированию, по меньшей мере, трех важных липидных медиаторов из мембран арахидоновой кислоты, фактора активации тромбоцитов и лизофосфатидиловой кислоты. Высвобождение арахидоновой кислоты из мембранных фосфолипидов с помощью PLA считается основным этапом в регулировании выработки эйкозаноида внутри клетки. Ферменты PLA<sub>2</sub> обычно группируются в цитозольную PLA<sub>2</sub> (cPLA<sub>2</sub>), секреторную PLA<sub>2</sub> (sPLA<sub>2</sub>) и кальций-независимую PLA<sub>2</sub> (iPLA<sub>2</sub>). PLA<sub>2</sub> яда (например, змеиного яда) секретируется (т.е., sPLA<sub>2</sub>). Классификация основана на молекулярном весе, потребности в кальции, структурных свойствах, субстратной специфичности и функциональной роли. См. Ray, et al., "Phospholipase A<sub>2</sub> in Airway Disease: Target for Drug Discovery," *Journal of Drug Discovery and Therapeutics* 1 (8) 2013, 28-40.

Ингибиторы PLA<sub>2</sub> были определены в растениях, змеином яде и других источниках. Ингибиторы PLA<sub>2</sub>s были исследованы как возможные терапевтические средства для лечения воспалительных заболеваний. См. Magrioti, Victoria, and George Kokotos. "Phospholipase A<sub>2</sub> inhibitors as potential therapeutic agents for the treatment of inflammatory diseases." *Expert opinion on therapeutic patents* 20.1 (2010): 1-18), and Dennis, Edward A., et al. "Phospholipase A<sub>2</sub> enzymes: physical structure, biological function, disease implication, chemical inhibition, and therapeutic intervention." *Chemical reviews* 111.10 (2011): 6130-6185. Marcussi et al. предположили, что биотехнологический потенциал ингибиторов PLA<sub>2</sub>s позволяет создать терапевтические молекулярные модели с антифидантной активностью в качестве дополнения к традиционной сывороточной терапии против PLA<sub>2</sub>s. См. Marcussi, Silvana, et al. "Snake venom phospholipase A<sub>2</sub> inhibitors: medicinal chemistry and therapeutic potential." *Current Topics in Medicinal Chemistry* 7.8 (2007): 743-756). Также см. Abhijit Dey and Jitendra Nath De, 2012. *Phytopharmacology of Antiophidian Botanicals: A Review*," *International Journal of Pharmacology*, 8: 62-79, and LS Guimaraes, Cesar, et al. "Biodiversity as a Source of Bioactive Compounds Against Snakebites." *Current medicinal chemistry* 21.25 (2014): 2952-2979. Тем не менее, ни один из низкомолекулярных ингибиторов PLA<sub>2</sub>s не был одобрен в качестве средств для лечения отравлений.

Ингибиторы PLA2s, которые могут быть использованы в настоящем изобретении, включают, в частности, LY315920 и S5920 (вареспладиб), LY333013 и S-3013 (метилвареспладиб), LY 311727, BMS 181162, YM 26567 и Variabilis SB 203347, S-2474 (метилиндоксам) и индоксам. В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения ингибитор (-ы) PLA2(s) представляет (-ют) собой вареспладиб и (или) метилвареспладиб. Вареспладиб представляет собой ингибитор sPLA2, композиция которого была составлена для внутривенного и перорального введения и который был исследован в целях лечения гиперлипидемии, синдрома системной воспалительной реакции, вызванной сепсисом и острого грудного синдрома (осложнение серповидно-клеточной анемии). См. "Вареспладиб" *American Journal of Cardiovascular Drugs*. 11 (2): 137-43. 2011. Метилвареспладиб представляет собой пролекарство вареспладиба, в общем предпочтительное для перорального введения.

В предпочтительных примерах осуществления настоящего изобретения ингибитор PLA2 является низкомолекулярным (например, молекулярный вес < 2000, <1000 или <500).

В соответствии с описанием, приведенном в настоящем контексте, было продемонстрировано, что вареспладиб и метилвареспладиб обладают особыми свойствами, которые позволяют использовать их в качестве средств для проведения "универсального" первоочередного, многократного, полного лечения отравлений ядом. Как указывалось выше, вареспладиб и метилвареспладиб дополнительно к проявлению активности ингибирования PLA2 против широкого спектра змеиных ядов ослабляет патологическую реакцию на змеиный яд, тем самым снижая вред за счет прямого и косвенного ингибирования токсичности змеиного яда. Указанная активность широкого спектра против змеиного яда является исключительно необычной с учетом наших наблюдений того, что вареспладиб и метилвареспладиб не являются активными ингибиторами PLA2 пчелиного яда и, как правило, активность лекарственных ингибиторов PLA2 ниже для змеиных ядов, чем для ядов млекопитающих.

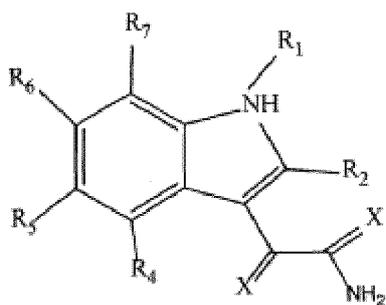
Следует отметить, что вареспладиб и метилвареспладиб также ингибируют активность MP и SP яда ряда змей. Безусловно, следует отметить, что при проведении ряда экспериментов вареспладиб и метилвареспладиб оказались более активными ингибиторами SP и MP яда гадюки Рассела по сравнению с несколькими значимыми с медицинской точки зрения примерами указанных ингибиторов (например, нафамостата, маримастата и батимастата).

Также неожиданными оказались результаты исследования того, что концентрации полумаксимального ингибирования (IC50) вареспладиба и метилвареспладиба в отношении всех протестированных змеиных ядов, были существенно ниже значений, о которых сообщалось в отношении ингибирования человеческого sPLA2.

Также было обнаружено, что даже когда действие яда в основном было цитотоксическим (включая все проявления в цельных жидких составных органах), монотерапия с использованием вареспладиба и метилвареспладиба позволила достичь исключительно высокого уровня выживаемости мышей, в организм которых был введен яд змей. Это указывает на то, что вареспладиб и метилвареспладиб являются эффективными при лечении отравления змеиным ядом включая, в частности, яд таких змей, как тexasский гремучник (*C. atrox*), мойавский ромбический гремучник (*C. scutulatus*), гадюка Рассела (*V. russelli* (*Daboia*)), гадюка обыкновенная (*V. berus*) и арлекиновый коралловый аспид (*M. fulvius*) с геморрагическими вариантами. Без привязки к конкретному механизму тот факт, что вареспладиб и метилвареспладиб могут безопасно подавлять реакцию организма-хозяина и являются более активными против PLA2 змеиного яда (более низкая концентрация полумаксимального ингибирования (IC50)), чем против человеческого sPLA, обуславливает частично защиту от неблагоприятных последствий гемолиза и других разрушений тканей. Непосредственная и косвенная активность вареспладиба и метилвареспладиба ингибирования MP и SP яда и хозяина обуславливает частично эффект защиты против неблагоприятных последствий гемолитических ядов животного происхождения.

Другие ингибиторы PLA2, такие как, в частности, 1H-индол-3-глиоксиамиды, являются также эффективными при лечении отравлений ядом животного. Специалист в данной области техники, руководствуясь настоящим изобретением, имеет возможность определить ингибиторы PLA2 и терапевтические комбинации, эффективные против широкого спектра ядов животного происхождения и (или), специально разработанные для конкретной разновидности ядов животного происхождения (например, конкретные виды змей, или яды, например, из конкретных типов беспозвоночных).

Дополнительные предпочтительные ингибиторы sPLA2 включают ингибиторы, описанные в патенте США № 5654326, представленные соединениями в соответствии с химической структурой:



где X - O или S, предпочтительно O;

R<sub>i</sub> - C<sub>7</sub>-C<sub>20</sub> алкил, C<sub>7</sub>-C<sub>20</sub> алкенил, C<sub>7</sub>-C<sub>20</sub> алкинил, карбоциклический радикал (предпочтительно бензиловая или этилфениловая группа) или гетероциклический радикал;

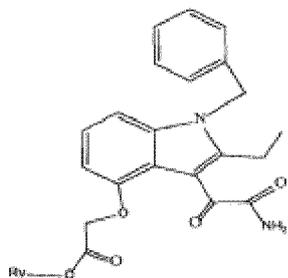
R<sub>2</sub> - водород, гало (F, Cl, Br, I), C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкил (предпочтительно этил) или C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub> циклоалкил;

R<sub>4</sub> - H или -O-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-C(O)OR<sub>v</sub> группа, где m - 1-3 (предпочтительно 1) и R<sub>v</sub> - H или C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкильная группа, предпочтительно CH<sub>3</sub>; и

R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub> и R<sub>7</sub> - H, или

его фармацевтически приемлемая соль, сольват или полиморф.

Предпочтительные соединения ингибиторов sPLA<sub>2</sub> (вареспладиб и метилвареспладиб) для использования в настоящем изобретении представлены химической структурой:



где R<sub>v</sub> - H (вареспладиб) или метил (метилвареспладиб), или их фармацевтически приемлемые соли. Вышеуказанные соединения также могут быть использованы в качестве пролекарственных форм C-C<sub>6</sub> алкильных сложных эфиров, C<sub>2</sub>-C<sub>7</sub> ацилоксиалкильных сложных эфиров, или C<sub>3</sub>-C<sub>9</sub> алкилоксикарбонилоксиалкильных сложных эфиров (каждый образован при R<sub>4</sub>). Эти и другие родственные соединения для использования в настоящем изобретении описаны в патенте США № 5,654,326 to Bach, et al., который включен в настоящую заявку посредством ссылки во всей своей полноте.

Дополнительные ингибиторы PLA<sub>2</sub>s включают, например: вареспладиб Мофетил, N-Ацетил цистеин, LY329722 (натрий [3-аминооксиалил-1-бензил-2-

этил-6-метил-1H-индол-4-илокси]-уксусную кислоту), охнафлавон (встречающийся в природе биофлавоноид), ВРРА (5-(4-бензилоксифенил)-4S-(7-фенилгепатаноиламино) пентановую (валериановую) кислоту, p-бромфенацилбромид (p-ВРВ) и другие бензофеноноксисы, дериватизированные с синдоном. В конкретных примерах осуществления настоящего изобретения ингибиторы sPLA2 для использования в настоящем изобретении выбраны из группы, включающей: {9-[(фенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; e-бензил-6J-диметокси-S-тетрагидрокарбазол-гидразид карбоновой кислоты; 9-бензил-5,7-диметокси-1,2,3,4 тетрагидрокарбазол-4-карбоксамид; [9-бензил-4-карбамоил-7-метокси-1,2,3,4 тетрагидрокарбазол-5-ил] оксиуксусную кислоту; [9-бензил-4-карбамоил-7-метоксикарбазол-5-ил]оксиуксусную кислоту; метил [9-бензил-4-карбамоил-7-метоксикарбазол-5-ил]оксиуксусную кислоту; 9-бензил-7-метокси-5-цианометилокси-S-тетрагидрокарбазол-карбоксамид; 9-бензил-7-метокси-5-(1H-тетразол-5-ил-метил)окси)-1,2,3,4-тетрагидрокарбазол-4-карбоксамид; {9-[(фенил)метил]-5-карбамоил-2-метил-карбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(3-фторфенил)метил]-5-карбамоил-2-метилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(3-метилфенил)метил]-5-карбамоил-2-метилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(фенил)метил]-5-карбамоил-2-(4-трифторметилфенил)-карбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; 9-бензил-5-(2-метансульфонамидо)этилокси-7-метокси-1,2,3,4-тетрагидрокарбазол-4-карбоксамид; 9-бензил-4-(2-метансульфонамидо)этилокси-2-метоксикарбазол-5-карбоксамид; 9-бензил-4-(2-трифторметансульфонамидо)этилокси-2-метоксикарбазол-5-карбоксамид; 9-бензил-5-метансульфонамидоилметилокси-7-метокси-1,2,3,4-тетрагидрокарбазол-4-карбоксамид; 9-бензил-4-метансульфонамидоилметилокси-карбазол-5-карбоксамид; [5-карбамоил-2-пентил-9-(фенилметил)карбазол-4-ил]оксиуксусную кислоту; [5-карбамоил-2-(1-метилэтил)-9-(фенилметил)карбазол-4-ил]оксиуксусную кислоту; [5-карбамоил-9-(фенилметил)-2-[(три(-1-метилэтилсили)оксиметилкарбазол-4-ил] оксиуксусную кислоту; [5-карбамоил-2-фенил-9-(фенилметил)карбазол-4-ил]оксиуксусную кислоту; [5-карбамоил-2-(4-хлорфенил)-9-(фенилметил)карбазол-4-ил]оксиуксусную кислоту; [5-карбамоил-2-(2-фурил)-9-(фенилметил)карбазол-4-ил]оксиуксусную кислоту; [5-карбамоил-9-(фенилметил)-2-[(три(-1-метилэтилсили)оксиметилкарбазол-4-ил] оксиуксусную кислоту; {9-[(2-фторфенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(2-трифторметилфенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(1-(2-бензилфенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(1-

нафтилметил-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(2-цианофенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(3-цианофенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(3,5-диметилфенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(3-иодфенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(2-Хлорфенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(2,3-дифторфенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(2,6-дифторфенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(2,6-дихлорфенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(2-бифенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(2-бифенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}сложный метил эфир оксиуксусной кислоты; [9-бензил-4-карбамоил-1,2,3,4-тетрагидрокарбазол-5-ил]оксиуксусную кислоту; {9-[(2-пиридил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил} оксиуксусную кислоту; {9-[(3-пиридил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; [9-бензил-4-карбамоил-8-метил-1,2,3,4-тетрагидрокарбазол-5-ил]оксиуксусную кислоту; [9-бензил-5-карбамоил-1-метилкарбазол-4-ил]оксиуксусную кислоту; [9-бензил-4-карбамоил-8-фтор-1,2,3,4-тетрагидрокарбазол-5-ил]оксиуксусную кислоту; [9-бензил-4-карбамоил-8-хлор-1,2,3,4-тетрагидрокарбазол-5-ил]оксиуксусную кислоту; [5-карбамоил-9-(фенилметил)-2-[[пропен-3-ил]окси]метил]карбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; [5-карбамоил-9-(фенилметил)-2-[(пропилоксиметилкарбазол ил]оксиуксусную кислоту; 9-бензил-7-метокси-5-((карбоксамидометил)окситетрагидрокарбазол-карбоксамид; 9-бензил-7-метокси-S-цианометилоксикарбазол-карбоксамид; 9-бензил-7-метокси-5-((1H-тетразол-5-ил-метил)окси)-карбазол-4-карбоксамид; 9-бензил-7-метокси-5-((карбоксамидометил)окси)-карбазол-4-карбоксамид; [9-бензил-4-карбамоил-1,2,3,4-тетрагидрокарбазол-5-ил]оксиуксусную кислоту; {9-[(фенил)метил]-5-карбамоил-2-метил-карбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(3-фторфенил)метил]-5-карбамоил-2-метилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(3-метилфенил)метил]-5-карбамоил-2-метилкарбазол-4-ил} оксиуксусную кислоту; {9-[(фенил)метил]-5-карбамоил-2-(4-трифторметилфенил)-карбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; 9-бензил-5-(2-метансульфонамидо)этилокси-7-метокси-1,2,3,4-тетрагидрокарбазол-4-карбоксамид; 9-бензил-4-(2-метансульфонамидо)этилокси-2-метоксикарбазол-5-карбоксамид; 9-бензил-4-(2-трифторметансульфонамидо)этилокси-2-метоксикарбазол-5-карбоксамид; 9-бензил-5-метансульфонамидоилметилокси-7-метокси-1,2,3,4тетрагидрокарбазол-4-карбоксамид; 9-бензил-4-метансульфонамидоил-

метилокси-карбазол-5-карбоксамид; [5-карбамоил-2-пентил-9-(фенилметил)-карбазол-4-ил]оксиуксусную кислоту; t5-карбамоил-2-(1-метилэтил)-9-(фенилметил)карбазол-4-ил]оксиуксусную кислоту; [5-карбамоил-9-(фенилметил)-2-[(три(-1-метилэтилсили)оксиметил)карбазол ил]оксиуксусную кислоту; [5-карбамоил-2-фенил-9-(фенилметил)карбазол-4-ил]оксиуксусную кислоту; [5-карбамоил-2-(4-хлорфенил)-9-(фенилметил)карбазол-4-ил]оксиуксусную кислоту; [5-карбамоил-2-(2-фурил)-9-(фенилметил)карбазол-4-ил]оксиуксусную кислоту; [5-карбамоил-9-(фенилметил)-2-[(три(-1-метилэтилсили)оксиметил)карбазол-ил]оксиуксусную кислоту; {9-[(3-фторфенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(3-хлорфенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(3-фенохуфенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(2-фторфенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(2-трифторметилфенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(2-бензилфенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(3-трифторметилфенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(1-нафтилметил-6-карбамоилкарбазол-ил)оксиуксусную кислоту; {9-[(2-цианфенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(3-цианфенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(2-метилфенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(3-метилфенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(3,5-диметилфенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(3-иодфенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(2-хлорфенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(2,3-дифторфенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(2,6-дифторфенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(2,6-дихлорфенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(3-трифторметокси-фенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(2-бифенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(2-бифенил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}сложный метил эфир оксиуксусной кислоты; [9-бензил-4-карбамоил-1,2,3,4-тетрагидрокарбазол-5-ил]оксиуксусную кислоту; {9-[(2-пиридил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; {9-[(3-пиридил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил}оксиуксусную кислоту; [9-бензил-4-карбамоил-8-метил-1,2,3,4-тетрагидрокарбазол-5-ил]оксиуксусную кислоту; [9-бензил-5-карбамоил-1-метилкарбазол-4-ил]оксиуксусную кислоту; [0-

бензил<sup>A</sup>-карбамоил-6-фтор-1,2,3,4-тетрагидрокарбазол-5-ил]оксиуксусную кислоту; [8-бензил-6-карбамоил-*i*-фторкарбазол-4-ил]оксиуксусную кислоту; [9-бензил-4-карбамоил-8-хлор-1,2,3,4-тетрагидрокарбазол-5-ил]оксиуксусную кислоту; [9-бензил-5-карбамоил-*l*-хлоркарбазол-4-ил]оксиуксусную кислоту; [9-[(циклогексил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил]оксиуксусную кислоту; [9-[(циклопентил)метил]-5-карбамоилкарбазол-4-ил]оксиуксусную кислоту; [5-карбамоил-9-(фенилметил)-2-(2-тиенил)карбазол-4-ил]оксиуксусную кислоту; [5-карбамоил-9-(фенилметил)-2-[[пропен-3-ил]окси]метил]карбазол-4-ил]оксиуксусную кислоту; [5-карбамоил-9-(фенилметил)-2-[(пропилоксиметил)карбазол-ил]оксиуксусную кислоту; 9-бензил-7-метокси-5-((карбоксамидометил)окситетрагидрокарбазоле-карбоксамид; 9-бензил-7-метокси- $\delta$ -цианометил)оксикарбазол-карбоксамид; 9-бензил-7-метокси-5-((1-Н-тетразол-5-ил-метил)оксикарбазол-4-карбоксамид; 9-бензил-7-метокси-5-((карбоксамидометил)оксикарбазол-4-карбоксамид; [9-бензил-4-карбамоил-1,2,3,4-тетрагидрокарбазол-5-ил]оксиуксусную кислоту; (R,S)-(9-бензил-4-карбамоил-1-оксо-3-thia-1,2,3,4-тетрагидрокарбазол-5-ил)оксиуксусную кислоту; (R,S)-(9-бензил-4-карбамоил-3-thia-1,2,3,4-тетрагидрокарбазол-5-ил)оксиуксусную кислоту; 2-(4-оксо-5-карбоксамидо-9-бензил-9/-/~ пиридо[3,4-иб]индолил) хлорид уксусной кислоты; [N-бензил-1-карбамоил-1-аза-1,2,3,4-тетрагидрокарбазол-8-ил]оксиуксусную кислоту; 4-метокси-6-метоксикарбонил-10-фенилметил-6,7,8,9 тетрагидропиридо[1,2-а]индол; (4-карбоксамидо-9-фенилметил-4,5-дигидротиопирано[3,4-иб]индол-5-ил)оксиуксусную кислоту; 3,4-дигидро-4-карбоксамидо-5-метокси-9-фенилметилпирано[3,4-иб]индол; 2-[(2,9 бис-бензил-4-карбамоил-1,2,3,4-тетрагидро-бетакарболин-5-ил)окси]уксусную кислоту; 2-[4-оксо-5-карбоксамидо-9-(2-метилбензил)-9/-/-пиридо[3,4-иб]индолил]уксусную кислоту; 2-[4-оксо-5-карбоксамидо-9-(3-метилбензил)-9/-/-пиридо[3,4-иб]индолил]уксусную кислоту; 2-[4-оксо-5-карбоксамидо-9-(4-метилбензил)-9/-/-пиридо[3,4-иб]индолил]уксусную кислоту; 2-[4-оксо-5-карбоксамидо-9-(4-tert-бутилбензил)-9/-/-пиридо[3,4-иб]индолил]уксусную кислоту; 2-[4-оксо-5-карбоксамидо-9-пентафторбензил-9/-/-пиридо[3,4-иб]индолил]уксусную кислоту; 2-[4-оксо-5-карбоксамидо-9-{2-фторбензил)-9/-/-пиридо[3,4-иб]индолил]уксусную кислоту; 2-[4-оксо-5-карбоксамидо-9-(3-фторбензил)-9/-/-пиридо[3,4-иб]индолил]уксусную кислоту; 2-[4-оксо-5-карбоксамидо-9-(4-фторбензил)-9/-/-пиридо[3,4-иб]индолил]уксусную кислоту; 2-[4-оксо-5-карбоксамидо-9-(2,6-дифторбензил)-9/-/-пиридо[3,4-иб]иридолил]уксусную кислоту; 2-[4-оксо-5-карбоксамидо-9-(3,4-дифторбензил)-9/-/-





уксусную кислоту; 2-[4-оксо-5-карбоксамидо-9-(1-пропил)-9/-/-пиридо[3,4-иб]индолил] уксусную кислоту; 2-[4-оксо-5-карбоксамидо-9-(2-пропил)-9/-/-пиридо[3,4-иб]индолил] уксусную кислоту; 2-[4-оксо-5-карбоксамидо-9-(1-бутил)-9Н-пиридо[3,4-иб]индолил] уксусную кислоту; 2-[4-оксо-5-карбоксамидо-9-(2-бутил)-9/-/-пиридо[3,4-иб]индолил] уксусную кислоту; 2-[4-оксо-5-карбоксамидо-9-изобутил-9/-/-пиридо[3,4-иб]индолил] уксусную кислоту; 2-[4-оксо-5-карбоксамидо-9-[2-(1-фенилэтил)]-9/-/-пиридо[3,4-иб]индолил] уксусную кислоту; 2-[4-оксо-5-карбоксамидо-9-[3-(1-фенилпропил)]-9/-/-пиридо[3,4-иб]индолил] уксусную кислоту; 2-[4-оксо-5-карбоксамидо-9-[4-(1-фенилбутил)]-9/-/-пиридо[3,4-иб]индолил] уксусную кислоту; 2-[4-оксо-5-карбоксамидо-9-(1-пентил)-9/-/-пиридо[3,4-иб]индолил] уксусную кислоту; 2-[4-оксо-5-карбоксамидо-9-(1-гексил)-9/-/-пиридо[3,4-иб]индолил] уксусную кислоту; 4-[(9-бензил-4-карбамоил-1,2,3,4-тетрагидрокарбазол-6-ил)окси]масляную кислоту; 3-[(9-бензил-4-карбамоил-1,2,3,4-тетрагидрокарбазол-9-ил)окси]пропилфосфоновую кислоту; 2-[(9-бензил-4-карбамоил-1,2,3,4-тетрагидрокарбазол-6-ил)окси]метилбензойную кислоту; 3-[(9-бензил-4-карбамоил-7-п-октил-1,2,3,4-тетрагидрокарбазол-6-ил)окси]пропилфосфоновую кислоту; 4-[(9-бензил-4-карбамоил-7-этил-1,2,3,4-тетрагидрокарбазол-6-ил)окси]масляную кислоту; 3-[(9-бензил-4-карбамоил-7-этил-1,2,3,4-тетрагидрокарбазол-6-ил)окси]пропилфосфоновую кислоту; (S)-(+)-4-[(9-бензил-4-карбамоил-7-этил-1,2,3,4-тетрагидрокарбазол-6-ил)окси]масляную кислоту; 4-[9-бензил-4-карбамоил-6-(2-цианоэтил)-1,2,3,4-тетрагидрокарбазол-6-ил]кетомасляную кислоту; 4-[9-бензил-4-карбоксамидо-7-(2-фенилэтил)-1,2,3,4-тетрагидрокарбазол-6-ил] кетомасляную кислоту; 4-[9-бензил-4-карбоксамидокарбазол-6-ил] кетомасляную кислоту; метил 2-[(9-бензил-4-карбамоил-1,2,3,4-тетрагидрокарбазол-6-ил)окси]метилбензоат; 4-[9-бензил-4-карбамоил-7-(2-цианоэтил)-1,2,3,4-тетрагидрокарбазол-6-ил]кетомасляную кислоту; 9-бензил-7-метокси-5-цианометилтетрагидрокарбазол-карбоксамид; [9-бензил-4-карбамоил-8-метил-карбазол-5-ил] оксиуксусную кислоту; и [9-бензил-4-карбамоил-карбазол-6-ил] оксиуксусную кислоту, или фармацевтически приемлемые соли, сольваты, производные пролекарств, рацематы, таутомеры или их оптические изомеры.

Прямые и непрямые ингибиторы PLA2 также включают N,N-диметилкарбамоилметил,4-4-гуанидинобензоилокси-фенилацетат («Камостат», камостат) или этил-р[6-гаунидиногексаноилокси-бензоат метансульфонат

(габексат) и ингибитор синтеза лейкотриена, выбранные из группы, включающей метил арахиноил фторфосфонат (MAFP), пирроксифен, ONO-RS-082, 1-[3-(4-октилфенокси)-2-оксопропил]индол-5-карбоновую кислоту, 1-[3-(4-октилфенокси)-2-оксопропил]индол-6-карбоновую кислоту, арахиноил трифторметил кетон, D609, 4-{3-[5-хлор-2-(2-{{(3,4- дихлорбензил)сульфонил}амино}этил)-1-(дифенилметил)-1H-индол-3-ил]пропил}бензойную кислоту (WAY-196025), эфипладиб, 4-{2-[5-хлор-2-(2-{{(3,4-дихлорбензил)сульфонил}амино}-этил)-1-(дифенилметил)-1H-индол-3-ил]этокси}бензойную кислоту, экопладиб, (E)-N-[(2S,4R)-4-[N-(бифенил-2-илметил)-N-2-метилпропиламино]-1-[2-(2,4-дифторбензоил)бензоил]пирролидин-2-ил]метил-3-[4-(2,4-диоксотиазолиди-п-5-илиден-метил) фенил]акриламид (RSC-3388), берберин, глутамин, индоксам, меиндоксам или их фармацевтически приемлемую соль.

Конкретные примеры осуществления настоящего изобретения включают введение ингибитора PLA2, выбранного из группы, включающей вареспладиб (LY 315920), метилированный вареспладиб (LY333013), AIPLAI (ингибитор PLA2 *Azadirachta indica*), BMS-181162, LY311727, ARL-67974, FPL67047, SB-203347, Ro-23-9358, YM-26734, YM 26567, IS-741, J33, флуниксин, эфипладиб, Way 196025, Экопладиб, Гирипладиб, Вариабиллин, Индоксам, Меиндоксам, SB 203347, PAF-АН, Дарапладиб, фосфатидилэтанолламин (PE), фосфатидилсерин (PS), фосфатидилхолин (PC), фосфатидилхинозитол (PI), фосфатидилглицерол (PG) и их смеси, связанные (конъюгированные), по меньшей мере, с одним соединением, выбранным из группы, включающей карбоксиметилцеллюлозу (CMPE, CMC-Peog CME), гиалуроновую кислоту (HYPE, HyPE и Hyal-PE), гепарин (HEPPE, HepPE, HePPE, Hepar-PE), хондроитин сульфат А (CSAPE, CsaPE, CsAPE), полигелин (гемацелл) (HemPE, HEMPE), гидроксиэтилкрахмал (HesPE, HESPE) (предпочтительно, фосфатидил этаноламин, связанный гиалуроновой кислотой (HyPE)) и аналоги, производные, фармацевтически приемлемые соли, энантиомеры, диастереомеры, сольваты, полиморфы и их смеси.

Ингибиторы PLA2s также включают композиции, содержащие, по меньшей мере, один фосфолипид, выбранный из группы, включающей фосфатидилэтанолламин (PE), фосфатидилсерин (PS), фосфатидилхолин (PC), фосфатидилхинозитол (PI) и фосфатидилглицерол (PG) и их смеси, связанные (конъюгированные), по меньшей мере, с одним соединением, выбранным из группы, включающей карбоксиметилцеллюлозу (CMPE, CMC-Peog CME), гиалуроновую кислоту (HYPE, HyPE и Hyal-PE), гепарин (HEPPE, HepPE, HePPE,

Нера-PE), хондроитин сульфат А (CSAPE, CsaPE, CsAPE), Полигелин (гемацелл) (НemPE, HE PE), гидроксиэтилкрахмал (HesPE, HESPE) и их смеси. Фосфатидил этаноламин, связанный гиалуриновой кислотой (HyPE), является предпочтительным ингибитором PLA2.

В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения ингибитор PLA2 представляет собой ингибитор, описанный ниже в Примере 14 ("HTS Открытие of Аспид Ингибитора PLA2s Using M. fuMus Venom").

## V. ПРОТИВОЯДИЕ

Активность ингибирования PLA2, MP и SP многими противоядиями против токсинов позвоночных и беспозвоночных животных может быть повышена, например, с помощью только одних вареспладиба, метилвареспладиба (обычно используемых в качестве ингибиторов PLA2s) и в комбинации с приномастатом, батимастатом, маримастатом (с вареспладибом, метилвареспладибом в сочетании с противоядием или без них) и другими ингибиторами, обладающими специфической и неспецифической активностью против компонентов яда и благотворной модификацией реакции организма-хозяина или сочетанием благотворных эффектов.

Способность более быстрой доставки антидота по сравнению с приготовлением противоядия (последовательное введение доз) позволит решить долгосрочную неудовлетворенную необходимость в проведении рандомизированных клинических испытаний противоядия, т.к. низкомолекулярные антидоты могут быть доставлены прежде, чем будет принято окончательное решение о необходимости или отсутствии необходимости введения противоядия. В комбинации с противоядием – открытие того, что активность комбинаций лекарственных препарат-противоядие повышается – позволит решить долгосрочную неудовлетворенную потребность в ограничении использования противоядия, уменьшении осложнений, сокращении производственных/складских расходов и времени пребывания в стационаре.

Совместная терапия с применением противоядия может быть исключительно приемлемой в случае отравлений ядом, содержащим как нейротоксичные, так и гемотоксичные компоненты, вызывающие как паралич, так кровотечение или нарушение свертываемости крови, в том случае, если укус нанесен гадюкой, аспидом или ужеобразной змеей, при этом противоядие варьируется по необходимости и составу в зависимости от специфических

потребностей региона, риска от змеиного укуса и лечебных ресурсов. Комбинированная терапия также может предусматривать использование противоядия и ингибиторов других ферментов яда, таких как ингибиторы фосфолипаз (например, фосфолипазы A2) или других компонентов яда, которые могут вызвать паралич, поразить нервные окончания и (или) вызвать нарушения свертываемости крови (например мелитин, который стимулирует фосфолипазу и может быть как гемотоксичным/цитотоксичным, так и нейротоксичным (Clapp et al, 1995, Brain Res. 693:101-11). Активные ингредиенты могут быть конъюгированы с противоядием или фрагментами антител, направленных против компонентов яда, и антагонисты mAChR, такие как атропин, гликопирролат, могут быть опционально совместно введены для ослабления нежелательных мускариновых эффектов AChEIs.

Моновалентные и поливалентные противоядия могут быть использованы при лечении отравлений, вызванных укусами змей, пауков, клещей, насекомых, скорпионов и морских животных. Типичные противоядия и способы производства противоядий хорошо известны специалистам в данной области техники. См. патент США № 5,340,923. Например, CroFab\* (BTG International, Pic.) представляет собой поливалентный иммунный FAb-антидот против яда семейства ямкоголовых (овечий), противоядие, показанное для оказания помощи пациентам, отравленным змеиным ядом североамериканской ямкоголовой змеи. Термин «ямкоголовые» используется для описания подсемейства Crotalinae (ранее известное как Crotalidae) ядовитых змей, включающих гремучих змей, медянок и щитомордников-рыбодедов/водяных змей. Своевременное применение CroFab\* (в течение 6 часов после укуса змеи) рекомендуется для предотвращения клинического ухудшения и возникновения системных нарушений коагуляции. Своевременное применение лекарств на основе вареспладиба позволит снизить потребность в противоядии, уменьшая осложнения и издержки, когда в противоядии нет необходимости, и улучшит конечные результаты в случае использования обеих терапевтических средств. В некоторых случаях методы лечения на основе вареспладиба позволят полностью исключить необходимость в противоядии (например, при множественных укусах гадюки и укусах арлекинового кораллового аспида). Важно отметить, что, методы лечения на основе вареспладиба, используемые в сочетании со специфическими, параспецифическими или неспецифическими противоядиями, повысят терапевтическую эффективность всех составов противоядий, независимо от того,

будут ли они совместно введены или скомбинированы.

Важно отметить, что фармацевтические композиции, включающие вареспладиб, вареспладибметил и опционально предпочтительные ингибиторы МР, такие как приномастат, батимастат и маримастат, улучшают активность параспецифических противоядий. Как описано в Примере 11 ниже, иллюстративный ингибитор PLA2, вареспладиб и иллюстративное противоядие CroFab<sup>®</sup> были скомбинированы и исследованы на предмет активности ингибитора PLA2, при этом неожиданно была обнаружена повышенная активность. Синергизм сильнее для гадюкообразной смертельной змеи (*Acanthophis antarcticus*) (вареспладиб). Из всех протестированных ядов яд *Acanthophis antarcticus* в меньшей степени схож с ядом гадюки, против которого разработан и применяется Crofab\*. Этот факт убедительно говорит в пользу использования ингибиторов sPLA2 для расширения спектра отравлений змеиным ядом, лечение которых может проводиться с использованием указанного противоядия. Совместная терапия с ингибитором sPLA2 может усилить параспецифическое действие и активность противоядия, применяемого против змеиного яда, отличающегося от яда змеи, приводящего к отравлению (например, подвиды или родственные виды змей, против укуса которых направлено противоядие). Совместная терапия с ингибитором sPLA2 также позволяет использовать противоядия в том случае, когда отсутствует известное противоядие или имеется противоядие для конкретного вида змей, или тип отравлений, вызванных укусами ядовитых животных, не известен (например, змея, рыба или беспозвоночное, например, скорпион или паук не известны). Совместная терапия с ингибитором sPLA2 также позволяет вводить меньшие дозы противоядия. Способность приномастата и других ингибиторов МР повышать активность Crofab\* указывает на то, что совместное введение ингибиторов МР и противоядия могут быть использованы для лечения субъектов при отравлении ядом.

В описании настоящей заявки ниже приведены специфические и параспецифические противоядия и композиции на основе противоядий, которые могут быть использованы в комбинации с низкомолекулярным ингибитором PLA2 (например, ИН-индол-3-глиоксиамидо, таким как вареспладиб и (или) метилвареспладиб) для лечения при отравлении ядом позвоночных или беспозвоночных животных.

## ИЛЛЮСТРАТИВНЫЕ ПРОТИВОЯДИЯ

Ниже приведен неограничивающий список противоядий, в отношении которых вареспладиб и метилвареспладиб могут улучшить показатели за счет повышения эффективности составов противоядия при заблаговременном введении, совместном введении или комбинировании.

Противоядие от укуса гремучей змеи, произведенное компанией by Pfizer Inc.: Противоядие от укуса гремучей змеи (Crotalidae) представляет собой поливалентный продукт лошадиной сыворотки, представляющий собой очищенный и концентрированный препарат сывороточных глобулинов, полученных путем фракционирования крови здоровых лошадей, иммунизированных ядами следующих животных: ромбический гремучник (*Crotalus adamanteus*) Техасский гремучник (*C. atrox*), страшный гремучник (*C. durissus terrificus*) и кайсака (*Bothrops atrox*). Противоядие от укуса гремучника показано для лечения отравлений, вызванных укусами ямкоголовых или гремучих змей (гремучников);

Противоядие Anavip Snake Venom, разработанное Instituto Bioclon SA de CV, Rare Disease Therapeutics Inc.: Anavip содержит в качестве активного ингредиента фрагменты иммуноглобулина лошадиной сыворотки F(ab')<sub>2</sub>, предназначенной для нейтрализации яда ямкоголовых змей (*crotalinae*);

Противоядие Antisnake Snake Venom Serum Snake Venom, разработанное компанией Indian Drugs & Pharmaceuticals Ltd.: Противоядная сыворотка, содержащая иммуноглобулины поливалентной лошадиной сыворотки, показана для лечения укусов змей;

Противоядие, Anti-Vipers Serum VACSERA Snake Venom Poisoning, разработанное Holding Company for Biological Products & Vaccines (VACSERA). Сыворотка против яда змей семейства гадюковых содержит поливалентную антисыворотку против яда гадюки. Она показана для лечения укусов гадюк.

Противоядие, разработанное компанией PFIZER INC. Противоядие (арлекиновый коралловый аспид (*Micrurus fulvius*)) представляет собой очищенный, концентрированный и лиофилизированный препарат сывороточных глобулинов, полученный путем фракционирования крови здоровых лошадей, иммунизированных ядом арлекинового кораллового аспида (*Micrurus fulvius*);

Antiviperino BIRMEX Snake Venom Poisoning, Laboratories de Biologicos y Reactivos de Mexico S A de C V (Birmex). Antiviperino содержит иммуноглобулины лошадей, иммунизированных ядом гадюки обыкновенной (*Vipera berus*);

ASVS-Africa Snake Venom Poisoning, Bharat Serums And Vaccines Limited,

представляет собой поливалентной антитоксин против змеиного яда. Это очищенный и концентрированный препарат сывороточных глобулинов, полученный путем фракционирования крови здоровых лошадей, гипериммунизированных ядом различных змей. ASVS-Africa показано для лечения отравлений, вызванных укусами ядовитых змей.

ASVS-Asia Snake Venom Poisoning, Bharat Serums And Vaccines Limited, Globulins, ASVS-Asia представляет собой поливалентную антисыворотку против змеиного яда. Антисыворотка против змеиного яда представляет собой очищенный концентрированный препарат сывороточных глобулинов, полученный путем фракционирования крови здоровых лошадей, гипериммунизированных ядами различных змей;

Black snake Antivenom CSL LTD Snake Venom Poisoning, CSL Limited. Противоядие от укуса черного полоза приготавливают из плазмы лошадей, иммунизированных ядом королевской коричневой змеи (*Pseudechis australis*), также известной как мулга, затем отбирают ту часть лошадиной крови, которая нейтрализует указанный яд. Яд королевской коричневой змеи содержит нейротоксины, миотоксины и антикоагулянтный токсин. Противоядие от укуса черного полоза используют для лечения пациентов, проявляющих симптомы системного отравления после укуса королевской коричневой змеи, или мулги, и родственных видов и подвидов, и используется как "параспецифическое" противоядие.

Bothrofav Snake Venom Poisoning, Sanofi: антитела, глобулины, иммуноглобулины, иммунопротеины, сывороточные глобулины, BothroFav представляет собой F(ab')<sub>2</sub>, содержащую антисыворотку, используемую для лечения отравлений, вызванных укусами мартининского ботропса;

Brown Snake Antivenom Snake Venom Poisoning, CSL Limited: антитела, антитоксины, биологические факторы, глобулины, иммунопротеины, пептиды, сывороточные глобулины; противоядие от яда восточной коричневой змеи приготавливают из плазмы лошадей, иммунизированных ядом восточной коричневой змеи (*Pseudonaja textilis*). Противоядие от укуса восточной коричневой змеи показано для лечения пациентов, проявляющих симптомы системного отравления после укуса змеи рода ложные кобры Гюнтера (*Pseudonaja*). Этот род включает восточную коричневую змею, змею-даджит и западную коричневую змею;

Coralmyrn Snake Venom Poisoning, Instituto Bioclon SA de CV: токсины,

биологические вещества, Coralmyn представляет собой поливалентное терапевтическое средство от укусов коралловых аспидов, содержащее фрагменты F(ab')<sub>2</sub> и Fab иммуноглобулина G (IgG); сывороточные глобулины, CroFab<sup>®</sup> (BTG) содержит препарат из фрагментов овечьих иммуноглобулинов против яда ямкоголовых змей в качестве активного ингредиента. Поливалентный иммунный FAb-антидот против яда семейства ямкоголовых (овечьих) представляет собой фрагмент Fab иммуноглобулина G (IgG), против специфического яда, действующий путем связывания с токсинами яда и нейтрализующий токсины яда и способствующий их перераспределению из тканей-мишеней и выведению из организма пациента.

Death Adder Antivenom CSL LTD Snake Venom Poisoning, CSL LTD Venom Poisoning, CSL Limited. Противоядие приготавливают из плазмы крови лошадей, иммунизированных ядом гадюкообразной смертельной змеи (*Acanthophis antarcticus*). Противоядие от укуса гадюкообразной смертельной змеи показано для лечения пациентов, проявляющих симптомы системного отравления после укуса гадюкообразных смертельных змей;

Fav-Afrique, Sanofi, Globulins: FAV-Afrique представляет собой поливалентное противоядие, полученное путем иммунизации лошадей ядом 10 различных видов змей, наиболее опасных в Африке и относящихся к семейству аспидовых и гадюковых. Сохраняются и очищаются только фрагменты F(ab')<sub>2</sub>. Указанная сыворотка способна уменьшить количество циркулирующего яда и тем самым снизить его токсичность. Favirept (Sanofi Pasteur) представляет собой поливалентное лошадиное противоядие F(ab')<sub>2</sub>, показанное для лечения укуса змей, обитающих на Ближнем Востоке: африканские гадюки (*Bitis*), эфы (*Echis*), настоящая кобра (*Naja*), рогатые гадюки (*Cerastes*) и гигантские гадюки;

Лиофилизированное противоядие против укусов желто-зеленой куфии (хабу), производимое компанией KAKETSUKEN. Лиофилизированное противоядие против укусов желто-зеленой куфии содержит иммуноглобулин лошадиного происхождения против яда желто-зеленой куфии (*Trimeresurus flavoviridis*). Лиофилизированное противоядие против укусов щитомордника (KAKETSUKEN) является противоядием лошадиного происхождения;

Поливалентное противоядие от укусов змеи, выпускаемое компанией CSL LTD: поливалентное противоядие содержит антитела к яду следующих змей: коричневый король или мулга (*Pseudechis australis*), тигровая змея (*Notechis scutatus*), восточная коричневая змея (*Pseudonaja textilis*), гадюкообразная

смертельная змея (*Acanthophis antarcticus*), тайпан (*Oxyuranus scutellatus*). Противоядие приготавливают из плазмы лошадей, иммунизированных ядом этих змей. Оно показано для лечения пациентов в Папуа-Новая Гвинея и во всех австралийских штатах, за исключением штата Виктория и штата Тасмания;

Противоядие от укуса ластохвостых, выпускаемое компанией «CSL Limited». Противоядие от укуса ластохвостых приготавливают из плазмы крови лошадей, иммунизированных ядом морской змеи - носатой энгидрины (*Enhydrina schistose*). Противоядие от укуса морской змеи показано для лечения пациентов, у которых проявляются признаки системного отравления вследствие укуса морской змеи;

Поливалентная сыворотка против яда змей, выпускаемая компанией Serum Institute of India Ltd., представляет собой поливалентную сыворотку против яда змей, приготовленную из гипериммунизированных лошадей против ядов четырех чаще всего встречающихся ядовитых змей в Индии;

Противоядие BIOLOGICAL E, выпускаемое компанией Biological E. Limited, представляет собой поливалентный препарат, перевариваемый пепсином, очищенный и концентрированный, полученный из лошадиной гипериммунной сыворотки. Он используется для нейтрализации яда песчаной эфы (*Echis carinatus*), очковой змеи (*Naja naja*), индийского крайта (*Bangarus caeruleus*) и гадюки Рассела (*Daboia*).

Компания VINS Bioproducts Ltd. производит антисыворотку, содержащую иммуноглобулины (лошадиные) змеиного яда в качестве активного ингредиента. Вакцина от змеиного яда, выпускаемая компанией United Company for Biological Industries Ltd (Bio Egypt) показана в качестве профилактической вакцины против укуса змей.

Противоядие против укуса тайпана, выпускаемое компанией CSL LTD, представляет собой противоядие, приготавливаемое из плазмы лошадей, иммунизированных ядом тайпана (*Oxyuranus scutellatus*), и аналогичные препараты;

Противоядие от укуса тигровой змеи, выпускаемое компанией CSL LTD, приготавливают из плазмы лошадей, иммунизированных ядом тигровой змеи [*Notechis scutatus*]. Противоядие от укуса тигровой змеи показано для лечения пациентов, проявляющих симптомы системного отравления после укуса тигровой змеи, медянки или черного полоза;

Viperatab содержит иммуноглобулины яда гадюки обыкновенной в

качестве активного ингредиента. Противоядие представляет собой поливалентный иммунный-fab (овечий), включающий специфические фрагменты антитела, связывающие и нейтрализующие компоненты яда гадюки обыкновенной, включая протеазы, липазы и кардиотоксины, способствующие их перераспределению из тканей-мишеней и последующего выведения из организма пациента;

Viperaglav (Sanofi) представляет собой противоядие поливалентного лошадиного иммуноглобулина F(ab')<sub>2</sub>, показанное для профилактики отравления при укусе европейских змей (*Vipera* sp);

Змеиная антисыворотка (KAMADA) Antivipmyn, выпускаемая Instituto Bioclon SA de CV, содержит фрагменты иммуноглобулина (лошадиного) против змеиного яда в качестве активного ингредиента. Она представляет собой поливалентные фрагменты F(ab')<sub>2</sub> иммуноглобулина, G (IgG) гипериммуноглобулина, содержащие противозмеиное fab-терапевтическое средство.

Список специфических и параспецифических противоядий от укусов беспозвоночных, эффективность которых повышена за счет использования вареспладиба и метилвареспладиба и их сочетаний:

Противоядие от укуса кубовой медузы, CSL LTD Jellyfish, CSL Limited: Противоядие от ожога кубовой медузы приготавливают из плазмы овцы, иммунизированной ядом кубовой медузы (*Chironex fleckeri*).

Analatro (Instituto Bioclon SA de CV and Rare Disease Therapeutics Inc.) содержит в качестве активного ингредиента фрагменты иммуноглобулина F(ab')<sub>2</sub> яда паука «черная вдова»;

Противоядие Aracmyn Plus, выпускаемое by Instituto Bioclon SA de CV and Rare Disease Therapeutics Inc., содержит в качестве активного ингредиента поливалентной иммуноглобулин F(ab')<sub>2</sub> яда паука;

Funnel Web Spider Antivenom Poisoning, CSL Limited: Противоядие от укуса воронковых водяных пауков представляет собой очищенный иммуноглобулин (в основном иммуноглобулин G), полученный из плазмы кролика, иммунизированного ядом сиднейского лейкопаутинового паука (*Atrax robustus*);

Противоядие Reclusmyn, выпускаемое Instituto Bioclon SA de CV: Reclusmyn содержит иммунное противоядие F(ab')<sub>2</sub>.

Red Back Spider Antivenom Poisoning, CSL Limited. Противоядие от укуса красного паука приготавливают из плазмы лошадей, иммунизированных ядом

самки красного паука (*Latrodectus hasselti*);

Противоядие от укула бородавчатки (CSL Limited) приготавливают из плазмы лошадей, иммунизированных ядом бородавчатки (*Synanceia trachynis*);

Противоядие Scorgen выпускается компанией Bharat Biotech International Limited. Scorgen содержит антисыворотку (лошадиное происхождение) яда скорпиона. Указанная антисыворотка содержит очищенный фермент и очищенные и концентрированные специфические гетерологичные иммуноглобулины;

Противоядие Anascorp выпускается Instituto Bioclon SA de CV, Accredo Health Group Inc, Rare Disease Therapeutics Inc. Anascorp содержит фрагменты иммуноглобулина против яда центруридецов (*Centruroides*) (лошадиного происхождения);

Anti-Scorpion Serum VACSERA Scorpion. Антисыворотка против яда скорпионов является очищенной поливалентной антисывороткой от яда скорпионов;

Противоядие от яда скорпионов Scorpifav: Scorpifav представляет собой поливалентное противоядие F(ab')<sub>2</sub> (лошадиного происхождения). Scorpifav показан для профилактики отравлений ядом североафриканских и ближневосточных скорпионов (*Androctonus*, *Leiurus*, *Buthus*);

Scorpion venom antiserum Scorpion, VIIMS Bioproducts Ltd. Антисыворотка против яда скорпионов содержит фрагменты иммуноглобулина (лошадиного происхождения) против яда скорпионов в качестве активного ингредиента. Антисыворотка против яда скорпионов показана для лечения укуса скорпиона;

Scorpion Venom Vaccine Scorpion, United Company for Biological Industries Ltd (Bio Egypt). Вакцина против яда скорпиона показана в качестве профилактической вакцины против укула жалом скорпиона;

Scorpion Venom Vaccine, выпускаемая United Company for Biological Industries Ltd (Bio Egypt). Антитоксин против яда скорпионов содержит иммуноглобулины против яда скорпионов со способностью нейтрализации токсинов;

Stop Itch Skin Rash, Valeant Pharmaceuticals Australasia Pty Ltd. Активным ингредиентом в составе Stop Itch является папаин, фермент, экстрагированный из незрелого плода папайи (*Carica papaya*). Папаин обладает двояким действием: ингибирование сенсорной передачи и нейтрализация яда животного с целью быстрого облегчения и уменьшения боли, зуда и отежности, связанных с укусом насекомого, и незначительного раздражения кожи;

CSL Tick Antivenom. Противоядие против укусов клещей позволяет нейтрализовать действие яда австралийского паралитического клеща. Противоядие изготавливают путем иммунизации собак. Противоядие против укусов клещей показано для лечения пациентов, проявляющих симптомы паралича в результате отравления яда клещей.

## VI. ИНГИБИТОРЫ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ

В соответствии с одним аспектом настоящего изобретения комбинированную терапию с использованием ингибитора PLA2 (например, ИН-индол-3-глиоксиамида, такого как вареспладиб и (или) метилвареспладиб) проводят в комбинации с низкомолекулярным ингибитором, проявляющим активность против металлопротеиназы змеиного яда.

Эффективные "ингибиторы металлопротеиназы" включают, в частности, приномастат, ВВ-94 (маримастат), ВВ-2516 (батимастат), вориностат, цефиксим, гинголид. Другие ингибиторы металлопротеиназы, которые могут быть использованы в изобретении, включают, в частности, ТАPI-2, ТАPI-1, EGTA, EDTA, фосфорамадон, ТАPI-0, лютеолин, алендронат, таномастат, иломастат, приномастат, нафамостат, ингибитор 1 коллагеназы 1, Ro-32-3555, лактобионовую кислоту, о-фенантролин, экотин, 4-эпи-хлотетрациклин, тетрациклин, доксициклин или родственный антибиотик с дополнительным лечебным противомикробным эффектом, п-дансил-d-фенилаланин, 20[R]гинсенозидRh2, про-лей-гли-гидроксимат, gm6001, актинонин, agr-100, ингибитор I MMP9, ингибитор I MMP2, SB-3CT, Тиорфан (DL), 4-эпи-демеклоциклин, метакрилат цинка, фуналенон, полученный естественным способом, или синтетический коротко-пептидный ингибитор металлопротеиназы змеиного яда и их аналоги, производные, фармацевтически приемлемые соли, энантиомеры, диастереомеры, сольваты, полиморфы и смеси.

Следует отметить, что, комбинация вареспладиба и (или) метилвареспладиба без определенных ингибиторов металлопротеиназы и с ними подтверждает свою эффективность при лечении укусов всех основных ядовитых змей в Японии, многих, если не всех американских гадюк и других змей по всему миру. Кроме того, совместное введение вареспладиба и (или) метилвареспладиба с неостигмином или пиридостигмином и опционально с атропином или гликопирролатом или без них обеспечивает эффективное лечение укусов всех

арлекиновых коралловых аспидов, обитающих в Северной Америке и Южной Америке, - открытие, имеющее исключительно большое терапевтическое значение, поскольку оно позволяет проводить оперативное лечение при угрожающих жизни симптомах, в частности, путем введения препаратов самим пострадавшим от отравления в результате укуса ядовитого животного.

В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения ингибитор МР представляет собой ингибитор, описанный ниже в Примере 12 ("Открытие на основе метода высокопроизводительного скрининга эффективных ингибиторов МР яда техасского гремучника (*C. Atrox*) (представляющего гадюк Нового света), или в Примере 13 ("Пример 13: Открытие на основе метода высокопроизводительного скрининга ингибиторов МР яда эф (*E. Carinatus*) (представляющих гадюк Старого света)).

## VII. ИНГИБИТОРЫ СЕРИНОВОЙ ПРОТЕАЗЫ

В соответствии с одним аспектом настоящего изобретения комбинированную терапию с использованием ингибитора PLA2 (например, 1Н-индол-3-глиоксиамида, такого как вареспладиб и (или) метилвареспладиб) проводят в комбинации с низкомолекулярным ингибитором, проявляющим активность против сериновой протеазы змеиного яда.

Эффективный ингибитор сериновых протеаз включает, в частности, нафамостат и габексат, камостат или камостат и, что следует отметить отдельно в конкретных случаях, сами по себе вареспладиб и метилвареспладиб. В конкретных случаях, на которые дается ссылка в данном контексте выше и ниже, габексат, камостат или камостат и другие ингибиторы прямо или косвенно подавляют действие змеиного яда или активность PLA2 хозяина с благотворным воздействием после укуса змеи или другого отравления змеиным ядом. Другие эффективные ингибиторы сериновых протеаз включают, в частности, апротинин, лейпептин, антитромбин (АТ), альфа-1 антитрипсин (а антитрипсин (AIAT)), AEBSF (4-(2-аминоэтил) бензолсульфонил фторид гидрохлорид), PMSF (фенилметансульфонилфторид или фенилметилсульфонил фторид), ингибитор протеина С (PCI, SERPINA5), протеин Z-зависимый ингибитор протеазы, метоксиарахидонил фторфосфонат (MAFP), миелоидный и эритроидный ядерный терминальный стадиеспецифический белок (MENT), ингибитор-1 активатора плазминогена (PAI-1), ингибитор-2 активатора плазминогена (плацентарный PAI), протеолитический нексин-1 (PN-1), коллигин антитромбина III,

фосфатидилэтаноламин-связывающий белок, нейросерпин,  $\alpha_2$ -антиплазмин, ингибитор сериновой протеазы 3, муриноглобин I, полученный естественным способом, или синтетические коротко-пептидные ингибиторы сериновой протеазы змеиного яда, рибозимы и низкомолекулярные агенты, снижающие транскрипцию или трансляцию полинуклеотида сериновой протеазы, как описано в заявке на патент США № 20090318534, ингибиторы сериновой протеазы, описанные в заявке на патент США № 20140341881, на которые дается ссылка, и их аналоги, производные, фармацевтически приемлемые соли, энантиомеры, диастереомеры, сольваты, полиморфы и смеси.

## VIII. ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА

### A. ИНГИБИТОРЫ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ

Ацетилхолин (ACh) является нейромедиатором, синтезированным в цитоплазме нервных клеток и в ненейронных тканях, таких как ткани, имеющиеся в поверхности слизистых оболочек головы и шеи. Когда потенциал действия достигает нервного окончания, везикула высвобождает ацетилхолин в синапс. Находясь в синапсе, ацетилхолин диффундирует через синаптическую щель и связывается с постсинаптическим рецептором ацетилхолина. Связывание ацетилхолина со своим рецептором запускает процесс деполяризации постсинаптической клетки. Опосредованный рецепторами отклик впоследствии завершается, когда ацетилхолин под воздействием ацетилхолинэстеразы гидролизуется в уксусную кислоту и холин. Ацетилхолинэстераза (AChE; EC 3.1.1.7) представляет собой сериновую протеазу, гидролизующую ацетилхолин. Анализ активности ацетилхолинэстеразы известен специалистам в данной области техники (см. например, Ellman et al., *Biochem. Pharmacol.*, 7, 88-95, 1961).

Ацетилхолин связывается с двумя основными видами рецепторов - никотиновым ацетилхолиновым рецептором (nAChR) и мускариновым ацетилхолиновым рецептором (mAChR). Никотиновые ацетилхолиновые рецепторы обычно входят в состав плазматических мембран определенных нейронов и находятся на постсинаптической стороне нейромышечных соединений (которая контролирует скелетные мышцы). Мускариновые ацетилхолиновые рецепторы, как правило, входят в состав органов, связанных с парасимпатической нервной системой. Вредному действию нейротоксичных ядов животного происхождения, или остаточным явлениям недеполяризующих нервно-мышечных блокаторов (NNBAs) можно противодействовать путем ингибирования ацетилхолинэстеразы в

нейромышечном соединении. Ацетилхолинэстераза завершает отклик nAChR, гидролизуя ACh в уксусную кислоту и холин. Возможно, что ингибирование активности ацетилхолинэстеразы предотвращает гидролиз ACh, что повышает эффективную концентрацию ACh в нейромышечном соединении и тем самым ослабляет действие  $\alpha$ -нейротоксинов и других нейротоксинов, таких как  $\beta$ -нейротоксины или остаточные эффекты NBAs.

Нейротоксины (такие как альфа- и бета-нейротоксины), содержащиеся в змеином яде, конкурируют с ACh или блокируют ACh для связывания с никотиновыми ацетилхолиновыми рецепторами. Большинство смертей от ацетилхолин-модулирующих нейротоксинов вызвано параличом скелетных мышц, обусловленным пресинаптически таргетированными токсинами, препятствующими функционированию нервной системы ("пресинаптические") или на участках ACh-рецептора, связанных с прямой активацией стороны мышечного сокращения ("постсинаптический"). Все это в совокупности, т.е. указанные особенности, нейромышечное соединение и повреждение или нарушение указанных механизмов, ведет к развитию дыхательной недостаточности, и если пострадавшему от укуса не будет оказана медицинская помощь, летальный исход неизбежен. В целом механизм действия указанных нейротоксинов заключается в нарушении нормального функционирования nAChR за счет снижения эффективной концентрации ACh, имеющегося для связывания с нейромышечным соединением. Это происходит ввиду того, что нейротоксины являются антагонистами nAChR и конкурируют с ACh за участок связывания nAChR или повреждают сам синапс, снижая способность нейрона высвобождать ACh. Выраженность физиологической реакции яда/нейротоксина непосредственно коррелирована с аффинностью связывания нейротоксина с nACh или нервными окончаниями, обеспечивающими высвобождение ACh или обоих.

Эффективные ингибиторы ацетилхолинэстеразы включают, в частности, амбеноний; демаркарий; донепезил; эдрофоний; галантамин; гуперзин А; ладостигил; лактукопикрин; неостигмин; физостигмин; пиридостигмин; ривастигмин; такрин; фосфолин иодид; и унгеремин.

Эффективные антагонисты mAChR включают конкурентные антагонисты. Антагонист mAChR может быть обратимым конкурентным антагонистом, и предпочтительно, чтобы он не переходил гематоэнцефалический барьер. Предпочтительно, чтобы mAChR антагонист был избирательным в отношении mAChR по сравнению с nAChR и имел время полужизни от 4 до 6 часов или

менее. Эффективные антагонисты mAChR включают, в частности, гликопирролат и атропин, и предпочтительные комбинации совместной терапии ингибитором ацетилхолинэстеразы-антагонистом mAChR включают неостигмин и гликопирролат или атропин. Иллюстративные комбинации адъювантных терапевтических средств, которые могут быть совместно введены с ингибитором металлопротеиназы, ингибитором PLA2 и ингибитором сериновой протеазы, включают фосфолин иодид, полученный из оксима восстанавливающий агент AChE, такой как пралидоксим и ингибитор mAChR, такой как атропин или бипериден. В одном примере осуществления настоящего изобретения, антагонист mAChR выбран из группы, содержащей атропин, бензатропин, гликопирролат, ипратропий, мебеверин, оксибутинин, пирензепин, скополамин, бипериден, тиотропий и тропикамид.

#### В. АНТАГОНИСТЫ NMDA-РЕЦЕПТОРА

«Антагонисты NMDA-рецептора» включают, в частности, дизоцилпин (MK801), ифенпродил, R025-6981, TCN-201, кетамин, фторфелбамат, фелбамат, мемантин, декстрометорфан, элипродил, селфотел, Конантокин-G, -R, аптигамел (CNS1102), динорфин A(I-13), DQP 1105 и NVP-AAM077.

#### С. АНТИБИОТИКИ

Эффективные антибиотики, купирующие (тормозящие) действие змеиного яда включают, в частности: демеклоцидин, доксициклин, вибрамицин, миноциклин, тигециклин, окситетрациклин, тетрациклин, гентамицин, канамицин, неомицин, нетилмицин, тобрамицин, паромомицин, спектиномицин, гелданамицин, гербимицин, рифаксимин, стрептомицин, эртапенем, дорипенем, имипенем/циластатин, меропенем, цефадроксил, цефазолин, цефалотин, цефалексин, йефаклор, цефамандол, цефокситин, цефпрозил, цефуроксим, цефиксим, цефдинин, цефдиторен, цефоперазон, цефотаксим, цефтазадим, цефтибетен, цефтизоксим, цефтиаксон, цефепим, цефтаролин фосамл, цефтобипрол, тейкопланин, ванкомицин, телаванцин, даптомицин, оритаванцин, WAP-8294A, азитромицин, кларитромицин, диритромицин, эритромицин, рокситромицин, телитромицин, спирамицин, клиндамицин, линкомицин, азтреонам, фуразолидон, нитрофурантоин, оксазолидоны, динезолид, позизолид, радезолид, торезолид, амоксициклин, ампициллин, азлоциллин, карбенициллин, диклоксаллин, флуклоксаллин, мезлоциллин, метициллин,

нафциллин, оксациллин, пенициллин G, пенициллин V, пиперациллин, темоциллин, тикарциллин, амоксицилин/клавуланат, ампициллин/сульбактам, пиперациллин/тазобактам, тикарциллин/клавуланат, бацитрацин, колистин, полимиксин В, цiproфлоксацин, эноксацин, гатифлоксацин, гемифлоксацин, левофлоксацин, ломефлоксацин, моксифлоксацин, налидиксовая кислота, норфлоксацин, офлоксацин, trovафлоксацин, грепафлоксацин, спарфлоксацин, мафенид, сульфацетамид, сульфадиазин, сульфадиметоксин, сульфаметизол, сульфаметоксазол, сульфасалазин, сульфизоксазол, триметоприм-сульфаметоксазол, сульфонамидохризоидин, клофазимин, капреомицин, циклосерин, этамбутол, рифампицин, рифабутин, рифапентин, арсфенамин, хлоромидетин, фосфомицин, фузидовая кислота, метронидазол, мупироцин, платенсимицин, квинупристин/дальфопристин, тиамфеникол, тигециклин и тинидазол и их сочетания.

Исключительно эффективные ингибирующие действия яда антибиотики используют для уничтожения микробов, связанных с укусом змеи, и они действуют в качестве веществ, нейтрализующих действие ядов. Примеры таких антибиотиков включают цефалоспорины, такие как цефиксим и тетрациклины, такие как доксициклин и демеклоциклин.

#### D. ВЕЩЕСТВА, УЛУЧШАЮЩИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ

Дополнительно к вышеуказанному характеристики компонентов, композиций и методов в соответствии с настоящим изобретением могут быть повышены за счет включения эффективного количества вещества, способствующего биораспределению, например, такого, как лидокаин и (или) бупивакаин, которые могут быть включены в композиции в соответствии с настоящим изобретением для улучшения распределения активных компонентов в ткани, в которые инъектируется композиция, при одновременном расслаблении гладких мышц и замедлении скорости распространения яда.

#### E. ИНГИБИТОРЫ ФАКТОРА РАСПРОСТРАНЕНИЯ

Методы лечения и фармацевтические композиции настоящего изобретения позволяют ингибировать ангиогенезис, связанный с укусом змеи, за счет использования "ингибиторов фактора распространения". "Ингибиторы фактора распространения" включают ингибиторы рецептора витронектин  $\alpha_5\beta_3$ , включая, частности, указанные ингибиторы рецептора витронектин  $\alpha_5\beta_3$ ,

описанные или указанные в патенте США № 8,546,526, а также ингибиторы ингибитора-1 плазминогенного активатора (PAI-1; SERPINE1), описанные и указанные в работе Simone, et al., " Chemical Antagonists of Plasminogen Activator Inhibitor-1: Mechanisms of Action and Therapeutic Potential in Vascular Disease ", J Mol Genet Med, Volume 8, Issue 3, 1000125 (2014). XR330, XR334, XR1853, XR5082, XR5967, XR1121, AR-H029953XX, fendosalanthranalic acid derivatives of the fibrinolytic antagonist flufenamic acid, ANS, bis-ANS, 1-dodecyl sulphuric acid, XR-5118 CDE-066, CDE-081, IMD-1622, Tiplaxtinin and TM5007. Эффективные ингибиторы фактора распространения также включают полученные естественным способом или синтетические коротко-пептидный ингибиторы фактора распространения змеиного яда и полученный естественным способом или синтетические коротко-пептидный ингибитор неферментных, тканеразрушающих, кардиотоксических, миотоксических, паралитических или геморрагических токсинов. Лидокаин и другие -каины обеспечивают расслабление гладких мышц лимфатических сосудов и замедляют распространение яда. Ингибиторы физических факторов распространения включают давящее иммобилизирующее устройство, которое может быть использовано в сочетании с методом настоящего изобретения для замедления распространения яда и увеличения временного интервала для проведения радикального или вспомогательного лечения.

## IX. ДОЗИРОВКИ И ПУТИ ВВЕДЕНИЯ

В целом, дозировки и пути введения фармацевтических композиций и терапевтических соединений, описание которых приведено в настоящей заявке, определяются в зависимости от размера и состояния субъекта, а также в соответствии со стандартной фармацевтической практикой. Уровни используемых доз могут варьироваться в широком диапазоне и могут быть без каких-либо сложностей определены специалистами в данной области техники. Как правило, используются дозы, количество которых измеряется от миллиграмм до граммов.

Предусматривается создание композиций, включающих лекарственное средство, пролекарственное средство или сочетания, описанные в настоящей заявке (например, вареспладиб или метилвареспладиб, пролекарство вареспладиба и иные соединения ингибиторов при их включении в композиции в соответствии с настоящим изобретением) и физиологический раствор.

В одном аспекте настоящего изобретения в таких композициях значение pH находится на физиологически приемлемом уровне (например, приблизительно

7,4 – 8,5) например, при их растворении в растворе 58% (объемное содержание) 8,4% бикарбоната и 42% (объемное содержание) 10% декстрозы. Такие композиции могут быть приемлемыми для хранения и последующего использования с лекарственным средством, пролекарством или комбинациями, при этом они остаются устойчивыми в течение продолжительного периода времени (например, во время хранения), и они могут быть преобразованы в вареспладиб с другими компонентами или без них после введения субъекту (например, взрослому человеку, ребенку или младенцу). В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения лекарственное средство, пролекарство или комбинации хранят в виде сухого порошка или порошков (в частности, в виде лиофилизированного порошка), и композицию получают путем растворения сухого порошка в физиологическом растворе или ином растворителе до введения в организм субъекта. В одном аспекте настоящего изобретения предусматривается создание композиций, например, композиций, включающих лекарственное средство, пролекарство или комбинации при молярных эквивалентах, находящихся в диапазоне от приблизительно 1 нг/мл до 1 мкг/мл и до 0,01, мг/мл, 0,1 мг/мл, 1 мг/мл, 5 мг/мл, 10 мг/мл, 25 мг/мл, 50 мг/мл, 75 мг/мл, 100 мг/мл, 125 мг/мл, 150 мг/мл, 175 мг/мл, или 200 мг/мл или 400 мг/мл или 600 мг/мл или 800 мг/мл или 1000 мг/мл исходного лекарственного средства (например, вареспладиба), при этом молярный эквивалент лекарственного средства, пролекарства или комбинаций является количеством лекарственного средства, пролекарства или комбинаций, которое позволит получить указанное количество исходного лекарственного средства при полном преобразовании. Для любого количества (например, дозировка) лекарственного средства, пролекарства или комбинаций, описанных в настоящей заявке, также предусматривается молярный эквивалент пролекарства для данного количества исходного лекарственного средства. Кроме того, предусматривается создание одноразовых доз лекарственных форм (болюс), например, в количестве до приблизительно 5 мл, 10 мл, или 15 мл (например, при стехиометрическом эквиваленте пролекарства, составляющем приблизительно от 1450 мг до приблизительно 1600 мг исходного лекарственного средства, такого как вареспладиб) или в виде пилюль, капсул или перорального эликсира: от 1 мг до 100 мг, 250 мг, 500 мг, 1000 мг для перорального приема один раз, два раза, три раза в сутки для достижения концентраций в сыворотке на уровне 10 пМ, 100 пМ, 1 нМ, 10 нМ, 50 нМ, 100 нМ, 200 нМ, 500 нМ, 1 мкМ, 10 мкМ, 100 мкМ, и у животных, не относящихся к человеку,

до 1, 10, 25, 50, 100, 150 мг/кг/день, но предпочтительно 0,5 – 100 мг/кг/день в одноразовых или разделенных дозах.

Вводимая доза будет варьироваться в зависимости от известных факторов, таких как фармакодинамические характеристики конкретного вещества, способа и пути его введения; возраста, состояния здоровья и веса реципиента; характера и выраженности симптомов, типа сопутствующего лечения, периодичности лечения и требуемого эффекта. Как правило, ежедневная доза активного соединения может составлять от приблизительно 0,1 до 500 миллиграмм на килограмм веса тела. Обычно доза от 0,5 до 50, и предпочтительно от 1 до 25 миллиграмм на килограмм в сутки, при введении дозы в виде разделенных доз 1 - 6 раз в сутки либо в форме пролонгированного высвобождения является эффективной для достижения требуемого результата.

В зависимости от состояния пациента ему могут быть введены дозы в более узком или в более широком диапазоне до проявления симптомов или признаков укуса змей или укуса беспозвоночных или укола жалом, вызывающих такие состояния отравления (т.е. как определено клинически или потенциально по увеличению уровней sPLA2 в больничных условиях), в то время как более высокие дозы могут быть введены субъекту при показании агрессивного вмешательства для снижения повышающихся уровней sPLA2.

В общем, ингибитор sPLA2 вводят животному таким образом, чтобы в организме находилось его терапевтически эффективное количество. Терапевтически эффективное количество может известным образом быть определено для отдельного пациента путем введения активного соединения при увеличении доз и наблюдения за его воздействием на пациента, заключающегося в следующем: например, уменьшение паралича, уменьшения повреждения тканей или подавление повышающихся уровней активности sPLA2, или уменьшение других симптомов и признаков, связанных с укусами змей или беспозвоночных или укола жалом.

В целом, соединение должно быть введено таким образом и в такой дозе, чтобы обеспечить достижение уровня концентраций ингибитора sPLA2 или другого ингибитора в крови животного в пределах от 0,01 до 5000 нанogramм/мл и предпочтительно уровня концентрации в пределах от 1 до 1000 нанogramм/мл.

Продолжительность схемы лечения может составлять от нескольких часов до одного дня, до нескольких недель, месяцев или нескольких лет в соответствии с решением, принятым компетентным врачом (лечащим врачом). Пероральный

прием доз (или) внутривенное вливание являются предпочтительными для удобства пациента переносимости воздействия. При пероральном приеме доз от одной до четырех пероральных доз в день (при этом количество каждой дозы составляет приблизительно от 0,01 до 100 мг/кг веса тела) предпочтительные дозы составляют приблизительно от 0,1 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг.

#### Х. ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ФОРМЫ, ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ; СПОСОБЫ ДОСТАВКИ

Активные соединения (в частности, включая соединения ИН-индол-3-глиоксиамида, такие как вареспладиб и метилвареспладиб) могут быть использованы при концентрации от 0,01 до 99,9 весовых процентов от веса композиции, или в ряде случаев при концентрации от 0,001 до 99,9 весовых процентов от веса композиции. Предпочтительно чтобы фармацевтическая композиция представляла собой единичную лекарственную форму. Единичная лекарственная форма может представлять собой капсулу или таблетку или соответствующее количество любой из них. Количество активного соединения в единичной дозе композиции может варьироваться или может быть отрегулировано в пределах приблизительно от 0,1 до приблизительно 1000 миллиграмм или более в соответствии с конкретным предписанным лечением.

Композиции (лекарственные формы), подходящие для внутреннего введения, содержат от приблизительно 1 миллиграмма до приблизительно 1000 миллиграмм активного соединения на единичную дозу. В указанных фармацевтических композициях количество активного соединения, как правило, составляет приблизительно 0,5-95% по весу с учетом общего веса композиции. Примеры применяемых фармацевтических композиций и соотношения их ингредиентов приведены ниже:

Капсулы: Капсулы могут быть приготовлены путем заполнения каждой стандартной двухкомпонентной твердой желатиновой капсулы 50 мг порошкообразного активного соединения, 175 мг лактозы, 24 мг талька и 6 мг стеарата магния.

Мягкие желатиновые капсулы: Приготавливают смесь активного соединения в соевом масле и инжeksiруют с помощью нагнетательного насоса в желатин для формирования мягких желатиновых капсул, содержащих 50-500 мг активного соединения. Капсулы промывают в петролейном эфире и высушивают.

Таблетки: Таблетки могут быть изготовлены с использованием известных

способов таким образом, чтобы лекарственная форма содержала 50 мг активного соединения, 6 мг стеарата магния, 70 мг макрокристаллической целлюлозы, 11 мг кукурузного крахмала и 225 мг лактозы. С целью повышения вкусовых качеств и пролонгированной абсорбции на таблетки могут быть нанесены соответствующие покрытия.

Суспензии: Водную суспензию приготавливают для перорального введения таким образом, чтобы каждые 5 мл содержали 25 мг мелкодисперсного активного соединения в количестве 200 мг натрий карбоксиметилцеллюлозы, 5 мг бензоата натрия, 1,0 г раствора сорбитола, фармакопея США, и 0,025 мг ванилина.

Лекарственные формы для инъекций: Парентеральную композицию, приемлемую для введения путем инъекций, приготавливают путем перемешивания 1,5% весовых процентов активного соединения в 10 объемных процентов пропиленгликоля и воды. Раствор стерилизуют с использованием общепринятых способов. Другие лекарственные формы для инъекций приготавливают из порошков, в частности, из лиофилизированных порошков, которые растворяют в физиологическом растворе при медицински приемлемом значении pH).

Назальный спрей: Водный раствор приготавливают таким образом, чтобы каждый 1 мл содержал 10 мг активного соединения, 1,8 мг метилпарабена, 0,2 мг пропилпарабена и 10 мг метилцеллюлозы. Раствор разливают во флаконы объемом 1-5 мл.

Аэрозольные лекарственные формы обеспечивают диспергирование частиц препарата размером от приблизительно 0,5 до приблизительно 10 микрон и содержат достаточное количество ингибитора sPLA2 для достижения концентраций ингибитора на поверхностях дыхательных путей от приблизительно  $10^{10}$  до  $10^{12}$  молей на литр.

Парентеральное введение (в частности, внутривенное введения) зачастую является предпочтительным в случаях, когда необходимо быстрое улучшение тяжелого состояния пациента, т.е., когда результаты анализа показывают увеличение уровней sPLA2 или вплоть до 24 часов после проявления первой органной недостаточности. При парентеральном введении могут быть использованы дозы в количестве от 0,001 до 200 мг/кг/день, вводимые непрерывно или периодически в течение дня. При парентеральном введении соединение может быть введено в физиологическом солевом растворе

(например, 0,9% раствора хлорида натрия, 0,45% раствор хлорида натрия и т.д.), в растворе декстрозы (например, водный 5% раствор декстрозы), или в сочетании физиологического раствора и раствора декстрозы (0,9% раствор хлорида натрия в 5% растворе декстрозы), при этом раствор может включать или не включать бикарбонат натрия (4,2%-8,4%) для повышения значения рН раствора до >8,0 для парентерального введения.

Кроме того, предпочтительно проводить парентеральное введение с использованием лиофилизированной (-ых) композиции (-й) соединения, приемлемых для практического осуществления настоящего изобретения.

Композиции в соответствии с настоящим изобретением могут быть введены пациенту либо по отдельности, либо в комбинации с единичной лекарственной формой, либо последовательно при использовании более чем одной композиции (в любом порядке). Лекарственные формы композиций настоящего изобретения могут включать твердые композиции, которые высушены приемлемым образом для восстановления в полевых условиях, растворы для инъектирования или перорального введения, либо композиции могут быть включены в смеси или приготовлены в виде отдельных компонентов, которые вводятся последовательно после подозрения на отравление или подтверждения отравления змеиным ядом. В конкретных примерах осуществления настоящего изобретения лекарственная форма композиции является парентеральной лекарственной формой, рецептура которой составлена для инъектирования с помощью шприца или безыгольного впрыскивания (например, внутримышечно, подкожно) или внутривенной инфузией для немедленного или пролонгированного высвобождения. Другие лекарственные формы предназначены для введения путем микроинъектирования или с помощью пластырей (трансдермальное введение) по отдельности или под давящей иммобилизирующей шиной, интраназально, перорально в виде пилюль, эликсира или раствора, буккально, сублингвально, в виде геля, аэрозолированного с помощью фармацевтически активных или инертных носителей, обладающих или не обладающих дополнительными свойствами, такими как антибиотическая и анальгетическая активность, и опционально доставляемых в везикулах, включающих также липосомы, мицеллы, полимерные, металлические и липидные наночастицы, и дополнительно усиливающие проницаемость средства для улучшения доставки к тканям.

Дозировка и испытываемые препараты — вареспладиб (LY315920) или

метилвареспладиб, поставляемые. Введение: в виде лиофилизированного порошка, растворенного при необходимости в физиологическом растворе с соответствующим солюбилизатором и введенного в организм субъекта. Каждый флакон может содержать от 0,1, 1, 10, 50, 100, 250, 500, 750, 1000, 2000, 5000 до 50000 мг вареспладиба, при этом обеспечивается дозировка соответствующих соотношений компонентов из пакета в раствор. После восстановления все дозы вареспладиба предназначены для достижения концентраций вареспладиба в плазме крови на уровне приблизительно от 1 до 2500 нг/мл, предпочтительно приблизительно 1000 нг/мл. В предпочтительных аспектах настоящего изобретения концентрации вареспладиба в сыворотке достигают от 500 нг/мл до приблизительно 1500 нг/мл, предпочтительно приблизительно от 750 нг/мл до приблизительно 1250 нг/мл и наиболее предпочтительно приблизительно 1000 нг/мл (1 г/мл) для достижения максимального терапевтического эффекта. Концентрация других ингибиторов PLA2 варьируется в значительно больших пределах, чем концентрации вареспладиба вследствие того, что их активность в целом ниже по сравнению с активностью вареспладиба. В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения ингибитор металлопротеиназы и (или) ингибитор сериновых протеаз вводят для достижения их концентрации в сыворотке крови в диапазоне от приблизительно 0,1 нг/мл до приблизительно 500 мг/мл.

Предусматривается, что способы доставки, дозы и пути введения будут изменяться в зависимости от этапа лечения. Для наглядности, пациент-человек или пациент-животное укушен змеей, и ему вводят фармацевтически эффективную дозу композиции антидота путем внутримышечной инъекции, затем ему потребуется медицинская помощь в соответствующем медицинском учреждении, где пациент может получить противоядие с антидотом или без антидота, или антидот с противоядием или без него в форме внутривенной инъекции, в виде пилюли, тампона, повторной инъекции, назального спрея или иной аэрозольной системы доставки композиции с целью поддержания надлежащих показателей крови для дальнейшего ингибирования действия яда до тех пор, пока не стабилизируется состояние пациента или не будет определено, что отсутствует необходимость в каком-либо другом лечении.

Иллюстративные диапазоны доз для ингибитора металлопротеиназы, ингибитора PLA2 и ингибитора сериновой протеазы включают достаточное количество ингибиторов, для диспергирования, растворения или разведения в

фармацевтически приемлемом носителе (вспомогательном веществе) для доведения концентраций ингибитора от приблизительно 0,000001, 0,00001, 0,0001, 0,001, 0,01, 0,1, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 230, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 370, 380, 390, 400, 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490, 500, 525, 550, 575, 600, 625, 650, 675, 700, 725 до приблизительно 750 мкМ или до 800, 850, 900, 950 или до 1000 мкМ. Указанные иллюстративные диапазоны доз также относятся к адъювантной терапии, о которой речь идет в данной заявке. Возможны дозировки от приблизительно 0,000001, 0,00001, 0,0001, 0,001, 0,01, 0,1, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 230, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 370, 380, 390, 400, 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490 до приблизительно 500 мкМ.

В конкретных примерах осуществления настоящего изобретения терапевтически активные вещества, описанные в настоящей заявке, наносят локально в месте укуса или укола жалом в виде пасты или геля для нейтрализации введенного яда. В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения, первое терапевтическое средство вводят непосредственно в месте укуса или в пораженную ткань или максимально приближенно к месту укуса или поражения, при этом второе терапевтическое средство вводят совместно с другим средством другим путем (опционально в комбинации с традиционным противоядием в качестве дополнительной терапии). В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения терапевтически активные вещества вводят вместо противоядия в случаях, не представляющих угрозы для жизни или повреждению конечностей (например, в случае изолированного паралича лицевого нерва или паралича черепных нервов). В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения терапевтически активное (-ые) вещество (-а) вводят с помощью трансдермального пластыря или в сочетании с давящим иммобилизирующим устройством, используемым для замедления распространения яда путем уменьшения тока лимфы.

В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения ингибиторы, описанные в настоящей заявке, конъюгированы с другой молекулой, такой как биосовместимая и (или) биоразлагаемая наночастица. Например, ингибитор может быть скомбинирован с другим лекарственным средством,

противодействующим гемотоксическому действию сложных ядов животного происхождения и предотвращающим нарушения свёртываемости крови, противодействуя поглощению фибрина или других факторов коагуляции, отдельно или в комбинациях, таких как смеси или конъюгаты. В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения антидот комбинируют с экстрактами лекарственных трав или другими соединениями, ингибирующими действие фосфолипазы A<sub>2</sub>, предотвращая нарушения свёртываемости крови и деградацию пресинаптических нейронов в нейромышечном соединении. В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения комбинированные антидоты комбинируют с усилителями проницаемости.

Терапевтически активные вещества, используемые в методах и фармацевтических композициях настоящего изобретения, могут быть введены с использованием разнообразных способов введения. Иллюстративные пути введения включают непосредственное введение с использованием инъекционной иглы, безыгольное впрыскивание или другое проталкивающее впрыскивание, внутривенное введение, непосредственные примочки к месту укуса, подвергшимся воздействию яда глазам и пораженным тканям (топикально, трансдермально), ингаляционное, интраназальное введение и сублингвальное, ректальное, вагинальное, пероральное или интраокулярное введение. Методы для создания таких лекарственных форм известны и очевидны специалистам в данной области техники; например, см. Remington's Pharmaceutical Sciences (17th Ed., Mack Pub. Co., 1985). Вводимая композиция содержит определенное количество выбранного соединения в фармацевтически эффективном количестве для использования в терапевтических целях в биологической системе, включая организм пациента или субъекта, в соответствии с настоящим изобретением.

Как правило, ингибитор металлопротеиназы, ингибитор PLA<sub>2</sub> и (или) ингибитор сериновой протеазы и опциональное (-ые) адъювантное (-ые) терапевтическое (-ие) средство (-а) вводят максимально быстро после того, как было обнаружено, что субъект/пациент поражен ядом. Если у субъекта/пациента наблюдаются признаки нейротоксичного отравления, один или более из вышеупомянутых активных ингредиентов вводят незамедлительно. При применении некоторых методов к лечению приступают, если имеются основания полагать, что субъект пострадал от укуса ядовитого животного или укола жалом (например, у субъекта наблюдаются симптомы, такие как боль, затруднение

дыхания, нарушение свертываемости крови, гематома), или если было определено, что змея относится к виду змей, обладающих ядом нейротоксичного действия. Множественное введение лекарств может быть показано с течением времени в зависимости от реакции субъекта или для предотвращения симптомов до профессионального медицинского вмешательства (например, появление или прогрессирование признаков паралича). Например, 1%-10% раствор ингибитора PLA<sub>2</sub>, ингибитора металлопротеиназы и (или) ингибитора сериновой протеазы, предпочтительно ингибитора PLA<sub>2</sub> и ингибитора металлопротеиназы (и опциональное адъювантное терапевтическое средство (например, ингибитор ацетилхолинэстеразы и антагонист mAChR)) могут вводить с интервалом от 15 минут до 12 часов или более. Может возникнуть необходимость в введении активного (-ых) ингредиента (-ов) несколько раз в день или в введении фармацевтического состава с пролонгированным высвобождением.

В одном примере осуществления практическое осуществление настоящего изобретения предусматривает использование фармацевтической композиции, включающей ингибитор sPLA<sub>2</sub> в качестве активного ингредиента и эффективное количество солилизатора в качестве хелатирующего агента, например, предпочтительно, по меньшей мере, одно соединение, выбранное из лимонной кислоты, эдетовой кислоты (например, EDTA, динатриевое соединение, также обладающее свойствами ингибирования металлопротеиназы), полифосфорной кислоты и их солей, более предпочтительно натрия цитрат. Примерами полифосфорной кислоты и их солей являются полифосфат калия, как описано в японских стандартах по пищевым добавкам, 6-е изд., и полифосфат натрия, как описано в японских стандартах по пищевым добавкам, 6-е изд., или в японских стандартах по косметическим ингредиентам, 2-е изд. Цитрат натрия существует в виде безводного трехзамещенного цитрата натрия, двухводного трехзамещенного цитрата натрия и пентагидрата трехзамещенного цитрата натрия, но наиболее удобней и предпочтительней его использование в виде двухводного трехзамещенного цитрата натрия (мол. вес 294.10) .

Количество солилизатора изменяется в зависимости от вида солилизатора и концентрации включенных соединения (-ий) ингибитора, например, и оно может составлять от приблизительно 1% до приблизительно 400% (w/w), предпочтительно от 1 до 200 % (w/w), наиболее предпочтительно от 1 до 100% (w/w) от количества соединения ингибитора. Для фармацевтических композиций, в которых используется цитрат натрия, вес солилизатора

находится в пределах от 10% до 60 весовых %, и наиболее предпочтительно от 25% до 50 весовых % от количества соединения ингибитора.

Предпочтительно, чтобы фармацевтическая композиция также содержала эффективное количество стабилизатора. Стабилизатор представляет собой, по меньшей мере, одно фармацевтически приемлемое соединение, выбранное из твердых сахаров и сахароспиртов, более предпочтительно, по меньшей мере, одно соединение, выбранное из маннитола, ксилитола, сорбитола, глюкозы, фруктозы, лактозы и мальтозы. Маннитол является наиболее предпочтительным ингредиентом стабилизатора.

Количество стабилизатора изменяется в зависимости от вида стабилизатора и концентрации ингибитора sPLA2 и (или) другого включенного ингибитора, и может составлять от 40% до 500 весовых %, предпочтительно от 50% до 300 весовых %, более предпочтительно от 50 до 200% (w/w), наиболее предпочтительно от 100% до 200 весовых % от количества соединения (-й) ингибитора.

В некоторых случаях Полосамер представляют собой неионные триблоксополимеры, состоящие из центральной гидрофобной цепи полиоксипропилена (полипропиленоксида)) с располагающимися по бокам двумя гидрофильными цепями полиоксиэтилена (поли(этиленоксида)). Полосамеры также известны в том числе под торговыми названиями Synperonics, Pluronic и Kolliphor. Поскольку длина полимерных блоков может быть кастомизирована, существуют различающиеся по свойствам разнообразные полосамеры, имеющие несколько различающиеся свойства. Что же касается родового термина "полосамер", то эти сополимеры обычно обозначают буквой "P" (для полосамера), за которой следуют три цифры: первые две цифры x 100 указывают на приблизительное значение молекулярного веса ядра полиоксипропилена, и последняя цифра x 10 - значение процентного содержания полиоксиэтилена (например, P407 = Полосамер с молекулярным весом полиоксипропилена 4000 г/моль и 70% содержанием полиоксиэтилена). Кроме того, они могут быть использованы для повышения растворимости в воде гидрофобных, маслянистых веществ или другим образом могут повысить способность к смешиванию двух веществ с различной степенью гидрофобности. По этой причине указанные полимеры зачастую используют в промышленности, в производстве косметических и фармацевтических средств. Также была проведена их оценка в области применения в качестве средств доставки лекарственных препаратов, и

они являются эффективными как для доставки лекарственных препаратов на основе вареспладиба, так и для достижения терапевтических эффектов, относящихся к профилактике и лечению коагулопатии и цитотоксичных воздействий яда (например, Полоксамер188 и его очищенные производные, обычно вводимые в виде инфузионных растворов). Полоксамеры могут быть введены в организм любым путем: перорально, интраокулярно, топикально, ректально или внутривенно, тем самым повышая гибкость низкомолекулярных терапевтических средств против змеиного яда (например, вареспладиб, метилвареспладиб и их комбинации с ингибиторами MP и SP, противоядием как таковым и их фармацевтически приемлемые комбинации), которые также сами по себе обладают терапевтическим эффектом.

Не выходя за пределы существа и объема настоящего изобретения, другие фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества могут быть опционально добавлены к препаратам, являющимся эффективными для практического осуществления настоящего изобретения. В тех случаях, если раствор в соответствии с настоящим изобретением приготовлен для инъектирования, к нему могут быть добавлены изотонизирующее средство, успокаивающее средство или другие добавки.

Предпочтительно, чтобы вышеописанные фармацевтические композиции являлись бессолевыми, за исключением активного ингредиента, солубилизатора и стабилизатора.

## IX. КОМПОЗИЦИИ

### A. КОМПОЗИЦИИ

Одна или более композиций, включающих, по меньшей мере, одно соединение ингибитора, выбранное из группы, включающей ингибитор металлопротеиназы, ингибитор PLA2 и ингибитор сериновой протеазы и, опционально, адъювантное терапевтическое средство также могут быть введены (совместно), как описано выше, для лечения или снижения вероятности возникновения вызванной нейротоксином респираторной недостаточности вследствие отравления змеиным ядом, введенным ядовитыми членистоногими, например при укусе *Centruroides* spp (древесного скорпиона), улиток конусов и тропических медуз. В предпочтительных аспектах настоящего изобретения

описанная выше композиция включает, по меньшей мере, один ингибитор PLA2, предпочтительно вареспладиб и (или) метилвареспладиб, которые могут быть использованы при отсутствии ингибитора сериновой протеазы.

В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения композиция, включающая по меньшей мере, одно вещество ингибитора, выбранное из группы, включающей ингибитор металлопротеиназы, ингибитор PLA2 и ингибитор сериновой протеазы, вводят непосредственно на участке укуса или пораженных тканей или в ближайшее к укусу место, в то время как другую композицию, включающую, по меньшей мере, одно вещество ингибитора, выбранного из группы, включающей ингибитор металлопротеиназы, ингибитор PLA2 и ингибитор сериновой протеазы, вводят, используя другой способ введения путем инъекции или неинъекционно, и композиция даже может быть введена с применением противоядия или после применения противоядия в качестве вспомогательного лечения или с целью сокращения продолжительности стандартного лечения или интенсивной терапии в стационаре. В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения одну или более композиций, включающих, по меньшей мере, одно вещество ингибитора, выбранного из группы, включающей ингибитор металлопротеиназы, ингибитор PLA2 и ингибитор сериновой протеазы, вводят вместо противоядия в случаях, не ведущих к летальному исходу или не создающих угрозу повреждения конечностей, включая, в частности, изолированный паралич лицевого нерва или паралич черепных нервов. В предпочтительных аспектах настоящего изобретения композиция включает, по меньшей мере, один ингибитор PLA2, более предпочтительно вареспладиб и (или) метилвареспладиб.

#### i) ЛИОФИЛИЗИРОВАННЫЕ КОМПОЗИЦИИ

Предпочтительно, чтобы фармацевтические композиции, описанные в предыдущем Разделе, были лиофилизированы. Наиболее предпочтительно, чтобы лиофилизированную композицию приготавливали с проведением этапа отжига (ренатурации) с учетом использования характеристик коллапсной температуры соединения (-й), используемого (-ых) для практического осуществления изобретения.

Например, лиофилизированная композиция содержит солубилизатор от приблизительно 1 до приблизительно 200 весовых % или более от количества активного соединения в композиции. Относительное содержание солубилизатора

может варьироваться в зависимости от активных соединений и используемого солюбилизатора. В том случае, если солюбилизатор представляет собой динатриевую соль этилендиаминтетрауксусной кислоты (или его кислоту или другие соли) предпочтительно использовать его от приблизительно 1% до приблизительно 15 весовых % от количества активного (-ых) соединения (-й). Специалист в данной области техники без труда определит характеристики и относительное содержание стабилизатора. Маннитол является наиболее часто используемым ингредиентом стабилизатора лиофилизированных композиций настоящего изобретения.

Лиофилизированная фармацевтическая композиция может быть растворена в фармацевтически приемлемом носителе, таком как стерильная вода, при этом стерильная вода опционально содержит соль и (или) стерильная вода содержит сахара. Например, для внутривенных или внутримышечных или подкожных инъекций, композиции настоящего изобретения могут быть растворены при концентрации 2 мг/мл в водном растворе 4% декстрозы/0,5% цитрата натрия.

Способ изготовления лиофилизированных композиций, используемых для практического осуществления настоящего изобретения:

Лиофилизированные композиции, используемые для практического осуществления настоящего изобретения, относятся к препаратам, получаемым путем лиофилизации раствора, содержащего соединение ингибитора sPLA2, например вареспладиб или метилвареспладиб, опционально подвергаемое процессу тепловой обработки и высушиванию под высоким вакуумом для сублимации влаги. Такие лиофилизированные препараты включают лиофилизированные препараты для инъекции, как указывалось выше. Лиофилизированный препарат может быть изготовлен с использованием известных способов, включающих лиофилизацию на противнях, лиофилизацию распылением и лиофилизацию в ампулах. Лиофилизация в ампулах является предпочтительной для приготовления множественных единиц дозирования в соответствии с настоящим изобретением.

Для получения раствора активного соединения с использованием процесса настоящего изобретения, активное (-ые) соединение (-я), солюбилизатор и растворитель смешивают и перемешивают до тех пор, пока смесь не станет прозрачной. Предпочтительно, чтобы растворитель был водным растворителем, таким как вода, очищенная вода, вода для инъекций,

изотонический раствор хлорида натрия или растворы глюкозы для инъекций, как описано в Японской фармакопее, более предпочтительно бессолевым водным раствором, таким как вода, очищенная вода, вода для инъекций или растворы глюкозы для инъекций.

В альтернативном случае приемлемым растворителем для формирования раствора из композиции настоящего изобретения, является любые инъеклируемые растворы, примеры которых будут далее приведены в соответствии с описанием в Фармакопее Соединённых Штатов Америки (1995, ISBN 0195-7996), например, "Стерильная вода для инъекций ", "Инъекции декстрозы и натрий хлорида", "Инъекции декстрозы", "Инъекции маннитола " или "Маннитол в инъекциях натрий хлорида." Указанные вещества хорошо известны в данной области техники.

Для получения лиофилизированного препарата активного соединения, например, с помощью процесса настоящего изобретения, в первую очередь, до процесса лиофилизации приготавливают обрабатывающий раствор. Обрабатывающий раствор до процесса лиофилизации представляет собой раствор, приготовленный путем смешивания и перемешивания активного (-ых) соединения (-ий), солюбилизатора и растворителя, предпочтительно вареспладиба, солюбилизатора, стабилизатора и растворителя до тех пор, пока смесь не станет прозрачной. Что касается последовательности добавления ингредиентов к растворителю, исключительно предпочтительно сначала растворить солюбилизатор и стабилизатор и затем растворить, активное (-ые) соединение (-я). Растворитель предпочтительно является водным растворителем, таким как указано выше и как описано в Японской фармакопее, более предпочтительно бессолевым водным растворителем, таким как вода, очищенная вода, вода для инъекций или растворы глюкозы для инъекций. Обрабатывающий раствор до лиофилизации активного соединения, может содержать активные ингредиенты, например, при концентрации от приблизительно 0,5% до 2% (w/w). При необходимости, обрабатывающий раствор до лиофилизации может быть подвергнут процессу фильтрации. Процесс фильтрации включает, например, в случае инъектирования препаратов, стерилизующую фильтрацию и (или) ультрафильтрацию обрабатывающего раствора до проведения лиофилизации с целью устранения микроорганизмов или других загрязняющих веществ из обрабатывающего раствора.

До проведения процесса лиофилизации обрабатывающий раствор при необходимости может быть подвергнут процессу распределения. Процесс

распределения включает, например, в случае лиофилизации в ампулах процесс распределения необходимого объема обрабатываемого раствора до лиофилизации по ампулам с учетом концентрации соединения ингибитора sPLA2 таким образом, чтобы препараты в ампулах содержали требуемое количество соединений ингибитора sPLA2.

Типовой технологический процесс лиофилизации осуществляют следующим образом: предпочтительно, чтобы лиофилированная композиция была приготовлена путем последовательных процессов нагревания и охлаждения. Процесс приготовления лиофилированной композиции включает следующие последовательные этапы:

(a) растворение ингредиентов лиофилизуемой композиции, включающих ингибитор sPLA2, например вареспладиб, солюбилизатор и стабилизатор в водном растворе;

(b) охлаждение обрабатываемого раствора этапа (a) до температуры ниже  $-33\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;

(c) нагревание продукта этапа (b) до температуры выше  $-33\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;

(d) охлаждение продукта этапа (c) до температуры ниже  $-33\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;

(e) нагревание продукта этапа (d) до температуры выше  $-13\text{ }^{\circ}\text{C}$  при атмосферном давлении в течение периода времени, достаточном для удаления воды из водного растворителя и получения твердого лиофилизованного продукта.

Предпочтительно, чтобы этап (a) проводили путем растворения в водном растворе: ингибитора sPLA2 и (или) других активных веществ; солюбилизатора, выбранного из лимонной кислоты, эдетовой кислоты, полифосфорной кислоты и их солей, количество которого составляет от 1 до 100 весовых % от количества эквивалентной кислоты активного вещества; и стабилизатора, выбранного из маннитола, ксилитола, сорбитола, глюкозы, фруктозы, лактозы и мальтозы, количество которого составляет приблизительно 50 к 200% (w/w) от эквивалентного количества активного соединения. Более того, каждый из этапов (b), (c), (d) и (e) проводят предпочтительно в течение периода времени, составляющего, по меньшей мере, полчаса, и этап (e) проводят при давлении ниже атмосферного, составляющем менее 133 Па (1000 миллиторр). Предпочтительные параметры в процессе лиофилизации представляют собой параметры, при которых соединения (Vb), например, замораживают путем охлаждения от  $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$  до  $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Этот этап охлаждения проводят предпочтительно

в течение 2-4 часов. Указанный процесс называют в дальнейшем "процесс первичного замораживания". При необходимости температуру замороженного раствора, полученного в процессе первичного замораживания, затем повышают до  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$  –  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ , предпочтительно в диапазоне от  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  до  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Указанный процесс нагревания проводят в течение более 3 часов, предпочтительно в течение периода времени от 5 до 10 часов. Указанный процесс называют «процессом тепловой обработки».

Композицию, полученную в процессе тепловой обработки, повторно замораживают, предпочтительно от приблизительно  $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$  до  $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Указанный этап охлаждения проводят предпочтительно в течение 2 - 4 часов. Этот процесс называют "процессом повторного замораживания".

Композицию, полученную в процессе первичного замораживания, в процессе тепловой обработки и в процессе повторного замораживания, высушивают в условиях сильного разрежения путем возгонки воды в соответствии с методами, известными специалистам в данной области техники. В результате это получают лиофилизированный препарат настоящего изобретения. При необходимости, два этапа сушки, при которых температура и степень разрежения различаются, могут проводиться для полного удаления воды. Этот процесс именуют в дальнейшем «процессом сушки». При выполнении двух этапов сушки эти процессы называют процессом «первичной сушки» и процессом «вторичной сушки». В процессе лиофилизации удаляют большую часть первоначально содержащейся в препарате воды, тем не менее, конечный продукт лиофилизированной композиции может содержать некоторое количество свободной воды. Как правило, содержание воды может находиться в диапазоне от 0,5% до 5,0% весовых процентов. Наиболее часто содержание воды находится в диапазоне от 0,8% до 2,0%. По завершению процесса приготовления лиофилизированный порошок может быть использован для изготовления физиологических солевых растворов и включен в состав лекарственной формы для инъекции с помощью иглы или впрыска без иглы (например, с помощью безыгольного инъектора).

Ингаляционная терапия также может оказаться эффективной либо при применении отдельно, либо как процедура, дополняющая другие способы введения препарата. При проведении ингаляционной терапии дозы, без каких-либо сложностей определяют и используют необходимые для достижения ослабления клинических симптомов отравлений, вызванных укусами ядовитых

животных.

Фармацевтические композиции в соответствии с настоящим изобретением, как правило, включают известный фармацевтический носитель или известное вспомогательное вещество, и они могут дополнительно включать другие лекарственные средства, носители, адъюванты, добавки и т.д. Предпочтительно, композиция по весу составляет от приблизительно 0,1% до приблизительно 95%, от приблизительно 0,25% до приблизительно 85%, от приблизительно 0,5% до приблизительно 75%, от приблизительно 0,1% до приблизительно 10% от веса соединения или соединений настоящего изобретения, при этом остальная часть композиции состоит в основном из приемлемых фармацевтических вспомогательных веществ.

В конкретных примерах осуществления фармацевтические композиции настоящего изобретения вводят в виде жидкости, твердого вещества, полутвердого вещества или лиофилизированного порошка (например, в составе растворов, вводимых путем инъекции), в виде состава с немедленным высвобождением или состава с замедленным высвобождением, таблетки, капсулы, порошка, суппозитория, крема, мази, лосьона, аэрозолей, пластыря или тому подобных лекарственных форм, предпочтительно в единичных лекарственных формах, приемлемых для простого введения точных дозировок. На этапе проведения экстренной терапии для достижения быстрого повышения концентрации активного вещества в сыворотке композицию предпочтительно используют в парентеральной лекарственной форме (предпочтительно, вводимой путем внутримышечной инъекции в лекарственной форме с немедленным высвобождением). Затем, для поддержания концентрации активного вещества на эффективных уровнях в сыворотке композиции могут быть введены альтернативными путями для создания поддерживающих доз лекарственного средства.

В конкретных примерах осуществления фармацевтические композиции настоящего изобретения вводят с использованием эмульсии «масло в воде», микроэмульсии или наноэмульсии, эмульсии «вода в масле», микроэмульсии или наноэмульсии, водно-силиконовой эмульсии, микроэмульсии или наноэмульсии, жидкости, геля, масла, пасты, крема, лосьона, мази, суспензии, пены, спрея или носителя сыворотки, суспензии, содержащего липосомы состава, технологии доставки лекарственного средства «Transfersome», эластичной (деформируемой) везикулы, системы доставки лекарств Ethosome, Invasome или везикулы,

улучшающей проникновение вещества, лака, или составов, которые могут включать компонент пластыря, повязки или герметической повязки, или другой пассивной или активной системы для поглощения препарата через кожу или поверхность слизистой оболочки.

Пассивные или активные системы для поглощения через кожу или поверхность слизистой оболочки могут включать "вещества, способствующее проникновению через кожу", такие как алкил (N,N-двузамещенный аминоканоат) сложные эфиры, такие как додецил 2-(N,N-диметиламино) пропионат (DDAIP), диспергируемый в воде полимер кислоты, такой как полимер полиакриловой кислоты, пропионат карбомер (например, Carbopol® или Carbopol 940P® (B. F. Goodrich Co. Akron, Ohio)), сополимеры полиакриловой кислоты (например, Pemulen® (B. F. Goodrich Co.) или Polycarbophil® (A. H. Robbins, Richmond, Va.); полисахаридная камедь (например, агаровая камедь, альгинат, каррагенан, гхатти камедь, камедь карайя, камедь кадайя, рамсановая камедь, ксантановая камедь, игалактоманнановая камедь (например, гуаровая камедь, камедь рожкового дерева и камедь бобов рожкового дерева)), производные целлюлозы (например, этилцеллюлоза, метилцеллюлоза, гидроксипропил целлюлоза), диметилсульфоксид (ДМСО) и диметил ацетамид (DMA), 2-пирролидон, N,N-диэтил-м-толуамид (DEET), 1-додецилазациклогептан-2-он (Azone® Nelson Research), N,N-диметилформамид, N-метил-2-пирролидон, тиогликолят кальция, диоксоланы, циклические кетоны, алкил N,N-2-(двузамещенные аминоканоаты, включая тетрадецил (N,N-диметиламино) ацетат, додецил (N,N-диметиламино) ацетат, децил (N,N-диметиламино) ацетат, октил (N,N-диметиламино) ацетат и додецил (N,N-диэтиламино) ацетат. Одна группа предпочтительного вещества, способствующего проникновению через кожу, включает изопропилмиристит, изопропилпальмитат, диметилсульфоксид, децил метилсульфоксид, диметилаланинамид среднецепочечной жирной кислоты, додецил 2-(N, N-диметиламино) пропионат и его соли (например, соли присоединения соляной, бромистоводородной, серной, фосфорной и азотной кислот) и неорганические соли (например, соли присоединения уксусной, бензойной, салициловой, гликолевой, янтарной, никотиновой, винной, малеиновой, яблочной, памоевой, метаносульфоновой, циклогексансульфаминовой, пикриновой и молочной кислот).

В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения фармацевтическую композицию изобретения вводят с помощью пластыря,

включающего активный ингредиент, содержащий адгезивный матрикс, расположенный между непроницаемой подложкой и слоем удаляемой пленки. См., например, заявки на патенты США № 20140322284 и № 20140335150,

### КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ ПАРЕНТЕРАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ

Инъецируемая композиция для парентерального введения (например, внутривенного, внутримышечного, подкожного или интратекального) обычно содержит соединение в стандартном растворе, приемлемом для внутривенного введения, таком как стерильный физиологический солевой раствор. Композиции могут быть также приготовлены в виде суспензии в водной эмульсии. Композиции могут быть приготовлены в виде конечных композиций, набранных в шприцы или инъекционные устройства для экстренного введения, или в альтернативном варианте, могут быть созданы в виде лиофилизированных или других порошков, которые смешивают с раствором (например, физиологическим или другим раствором) на момент отравления и необходимости их введения.

Инъекционные составы могут быть введены подкожно, внутрикожно, внутривенно, внутримышечно, внутрисуставно, внутрисиновиально, интратерально, (внутригрудинно), интратекально, внутриочагово, внутричерепно или инфузионно. Вспомогательные вещества для инъецируемых растворов включают, в частности, буферные растворы (например, лимонная кислота), подкисляющие средства (например, соль соляной кислоты), подщелачивающие агенты (например, гидроксид натрия), консерванты (например, фенол), соразтворители (например, полиэтиленгликоль 400), регуляторы тоничности (например, маннитол), стабилизаторы (например сурфактант, антиоксиданты, аминокислоты). Активные ингредиенты могут быть введены в инъецируемой форме единичной или множественных доз, например, с помощью шприца-ручки. Фармацевтические композиции могут быть приготовлены вместе с устройством для введения, например вместе со шприцем, шприцем-ручкой или шприцем-тюбиком. Такие устройства могут быть предоставлены отдельно от фармацевтической композиции или могут быть предварительно наполнены фармацевтической композицией. Примеры устройств для инъекций включают устройства внутримышечного введения, такие как EpiPen<sup>®</sup> Auto-Injector - Dey Pharma, DuoDote\* Auto-Injector - Meridian Medical Technologies corp, EVZIO\* Auto-Injector - Kaleo, Inc., устройства подкожного введения, такие как Rasuvo - Medac (подкожного), Otrexup - Antares Pharma Inc., Imitrex STATdose SYSTEM<sup>®</sup> и

STATdose - GlaxoSmithKline, Mini-Ject™ - Valeritas, Inc., Uniject -Becton Dickinson, и безыгольные инъекционные устройства, такие как Vitajet3 - Bioject and Penjet - Penjet Corporation, наряду со многими другими компаниями.

Жидкие композиции могут быть приготовлены путем растворения или диспергирования активного (-ых) ингредиента (-ов) (приблизительно от 0,5% до приблизительно 20% по весу или более) и опциональных фармацевтических адъювантов в носителе, таком как, например, водный соляной раствор, водные растворы декстрозы, глицерола или этанола для создания раствора или суспензии. В целях использования в пероральном жидком препарате композиция может быть приготовлена в виде раствора, суспензии, эмульсии или сиропа, поставляемых либо в жидкой форме, либо в сухой форме, подходящей для гидратации в воде или физиологическом растворе.

#### ii) Лекарственные формы для перорального введения

Для обеспечения перорального введения такие вспомогательные вещества включают следующие вещества фармацевтической степени чистоты: маннитол, лактозу, крахмал, стеарат магния, сахарин натрия, тальк, целлюлоза, глюкозы, желатин, сахарозу, карбонат магния, и т.д. При необходимости, композиция может также включать небольшие количества нетоксичных вспомогательных веществ, таких как смачивающие вещества, эмульгирующие вещества или буферные растворы.

В том случае, если композицию используют в форме твердых препаратов для перорального введения, препараты могут представлять собой таблетки, гранулы, порошки, капсулы или подобные формы. При изготовлении препаратов в таблеточной форме в состав композиции обычно входят добавки, например, вспомогательное вещество, такое как сахарид или препарат целлюлозы, связывающее вещество, такое как крахмальная паста или метилцеллюлоза, наполнитель, разрыхлитель и другие добавки, обычно используемые в производстве медицинских препаратов, и добавки для включения в состав препаратов с пролонгированным высвобождением.

#### Усилитель адсорбции слизистой оболочкой

Инъекционные, аэрозольные и интраназальные лекарственные формы могут содержать усилитель адсорбции слизистой оболочкой, такой как ДМСО, уксусная кислота, цитрат натрия, пропиленгликоль, глицерин, L-аскорбиновая кислота, метабисульфит натрия, динатрия эдетат, бензалконий хлорид, гидроксид натрия, диметилформамид, этанол, пропиленгликоль, 1,3 бутандиол, 2-

пирролидоны и их смеси. В данной области техники известны другие усилители адсорбции слизистыми оболочками, включая усилители, описанные в заявках на патент США № 20070026079 и № 20060003989; Constantino et al., 2008, BMC Neuroscience 9 (Suppl 3): S6; Sghirlanzoni et al., "Efficacy of intranasal administration of neostigmine in myasthenic patients" J Neurol. 239:165-9 (1992). Препараты для интраокулярного введения хорошо известны в данной области техники и могут включать физиологический раствор или фосфатно-солевой буферный раствор, опционально с консервантом.

### iii) НАЗАЛЬНОЕ ВВЕДЕНИЕ И УСТРОЙСТВА

Несмотря на то, что отдается предпочтение пероральным и (или) инъекционным составам, альтернативные эффективные лекарственные формы настоящего изобретения включают назальные капли, назальные спреи, назальные порошки, механически или электронно создаваемые аэрозоли, назальный гель или любые другие интраназальные лекарственные формы. Используемые устройства для интраназальной доставки лекарственного средства включают, в частности, ингаляторы и аэрозольные аппараты. Также могут быть использованы дозирующие ингаляторы, гибридные дозирующие ингаляторы/назальный спрей или пипетки и устройства пульверизации для орошения слизистой оболочки, и дополнительно могут быть использованы такие устройства, как устройства электронных сигарет. Пульверизация для обеспечения абсорбции через слизистую оболочку носа позволяет создавать капли активного ингредиента диаметром приблизительно 2-10 микрон. См. Mygind et al., Rhinology 1978; 16(2): 79-88. Accuspray Nasal Atomizer™, Mucosal Atomization Device™, Optinose™, и ViaNasa Electronic Atomizer™. В других примерах осуществления настоящего изобретения используют пипетку или дозирующий назальный распылитель. Тампон, губка, инсуфлятор или насос также могут быть использованы для интраназальной доставки. Информация об аэрозольных устройствах, используемых для лекарственной доставки ингаляционных аэрозолей, также предоставлена Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19<sup>th</sup> Ed., incorporated herein by reference, at Chapter 95 "Aerosols", and Chapter 41, "Drug Absorption, Action and Disposition." Может быть использовано устройство для введения отмеренных доз. В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения устройство доставляет единичную стандартную дозу лекарства или лекарственных средств. В некоторых примерах осуществления настоящего

изобретения устройство является одноразовым. В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения устройство является многоразовым. Опционально, система доставки может быть одноразовым устройством, обеспечивающим введение одной отмеренной дозы или от 1 до 5 отмеренных доз.

Интраназальные дозы ингибиторов и адъювантных лекарственных средств могут находиться в диапазоне от 100 микрограмм до 10 грамм на дозу, обычно в диапазоне от 0,1 мг до 100 мг, зачастую в диапазоне приблизительно от 1 до 50 мг на дозу, и зачастую в диапазоне от 1,5 до 12 мг на дозу, и ингибиторы и адъювантные лекарственные средства могут быть введены одновременно (например, ингалированы одновременно из двух отделений одного устройства для доставки препаратов) или в виде смеси. В компетенции специалистов в данной области, которые руководствуются данными медицинской и фармакологической литературы, оптимизировать дозирование и интервалы дозирования.

Один или более активных ингредиентов может быть введен интраназально в форме аэрозоля с использованием стандартной распылительной камеры, в которую подается аэрозоль под давлением сжатого кислорода, и аэрозольной маски. Они также могут вводиться непрерывно или в виде отдельных доз. В ряде случаев активный (-ые) ингредиент (-ы) вводят периодически через короткие интервалы времени от 1 до 10 минут или непрерывно от 1 до 30 минут с дополнительной подачей кислорода, стероидов и (или) эпинефрина или без них.

В одном примере осуществления настоящее изобретение предусматривает создание ингалятора для распыления назального спрея, содержащего лекарственную форму в виде аэрозольного спрея, включающего одну или более композиций, выбранных из группы, включающей ингибитор металлопротеиназы, ингибитор фосфолипазы A2 (PLA2), возможно ингибитор сериновой протеазы и фармацевтически приемлемое диспергирующее вещество, при этом устройство отрегулировано на распыление определенного количества аэрозольного состава путем формирования спрея, содержащего дозу одной или более композиций, являющихся эффективным для лечения отравлений, вызванных укусами ядовитых животных. Ингалятор может включать, например, контейнер, содержащий эффективную дозу одной или более композиций, дозатор (например, корпус и сопло) и, опционально, источник воздуха, такой как нагнетательный насос (который может представлять собой шприц). См. например

заявку на патент США № 20140364837.

#### Совместная упаковка

В одном аспекте настоящего изобретения предусматривается создание комплектов для лечения отравлений, вызванных укусами ядовитых животных. Комплекты настоящего изобретения могут включать ингибитор PLA2 с одним или более ингибитором MP, ингибитором SP и противоядием. В комплектах несколько веществ могут содержаться в отдельных контейнерах, упакованных вместе.

#### Иллюстративные примеры осуществления настоящего изобретения

В предпочтительных аспектах в настоящем изобретении используется эффективное количество ингибитора PLA2 (предпочтительно ИH-индол-3-глиоксиамидов, в частности, вареспладиба, метилвареспладиба или их смесей) в качестве отдельного средства или средств для лечения субъекта, страдающего от отравления змеиным ядом. Было обнаружено, что как вареспладиб, так и метилвареспладиб проявляют активное ингибирование PLA2, а также, периодически ингибирование металлопротеиназы и (или) сериновой протеазы, и они могут быть использованы по отдельности или в комбинации для достижения большего эффекта в качестве средств лечения отравления змеиным ядом. В альтернативных примерах осуществления настоящее изобретение может дополнительно включать эффективное количество одного или более дополнительных средств, включая один или более дополнительных ингибиторов PLA2 (как далее описано в настоящей заявке, зачастую при использовании камостата или габексата), одного или более ингибиторов ацетилхолинэстеразы (например, предпочтительно неостигмин или пиридостигмин и (или) атропин или гликопирролат), одного или более ингибиторов металлопротеиназы (например, приномастат, маримастат, вориностат или батимастат), одного или более ингибиторов сериновой протеазы (например, нафамостат, камостат или габексат), по меньшей мере, одного ингибитора фактора распространения и, по меньшей мере, одного антагониста NMDA рецептора, наряду с другими, включая лидокаин и (или) бупивакаин, которые могут быть включены в эффективное количество для улучшения кровотока на пораженном участке, обеспечивая при этом купирование боли, в который введена композиция с целью улучшения биораспределения лекарственного (-ых) средства (средств) по активному участку. В некоторых предпочтительных примерах осуществления настоящего изобретения

низкомолекулярный ингибитор, такой как вареспладиб и (или) метилвареспладиб комбинируют с противоядием для достижения исключительно эффективного лечения при отравлении змеиным ядом.

Настоящее изобретение предусматривает создание методов лечения, фармацевтических композиций, систем и комплектов, в которых используется, по меньшей мере, один активный компонент, в некоторых случаях, по меньшей мере, два активных компонента и в других случаях не более чем два активных компонента, выбранных из группы, включающей селективный секреторный ингибитор PLA2 (sPLA2 или ингибитор PLA2, который также может функционировать как эффективный ингибитор металлопротеиназы), ингибитор металлопротеиназы, ингибитор сериновой протеазы, один или более ингибиторов ацетилхолинэстеразы, антагонист NMDA рецептора, ингибитор L-аминоксидазы, ингибитор гиалуронидазы и ингибитор фактора распространения для лечения субъекта, страдающего от отравлений, вызванных укусами ядовитых животных. Начальное введение может быть проведено в момент отравления, вызванного укусом ядовитого животного, и зачастую в интервале времени от нескольких часов (от 1 минуты до 12 часов) до менее чем приблизительно одного часа после отравления змеиным ядом, в некоторых случаях от не более чем приблизительно 1 минуты до приблизительно 20 минут, в некоторых случаях приблизительно от 1 минуты до приблизительно 10 минут после отравления змеиным ядом, например, змеи или беспозвоночных. В других примерах осуществления настоящего изобретения, в частности, когда одно или более из вышеописанных соединений (предпочтительно, низкомолекулярных) комбинируют с противоядием, указанные композиции могут быть введены через несколько часов после отравления, до или после получения противоядия, но предпочтительно до, например, в качестве первоочередного лечения укуса змеи в больнице или другом лечебном учреждении.

В некоторых примерах осуществления настоящего изобретения, или в дополнение к ним, может быть использовано последовательное введение доз PLA2. В предпочтительных аспектах настоящего изобретения используется эффективное количество ингибитора PLA2 (предпочтительно, 1Н-индол-3-глиоксиамидов, в частности, вареспладиб, метилвареспладиб или их смеси) в качестве отдельного средства или средств для лечения субъекта, страдающего от отравления змеиным ядом.

I. Неожиданно было обнаружено, что как вареспладиб, так и в наибольшей

степени метилвареспладиб, проявляют активное ингибирование PLA2 змеиного яда, но НЕ ингибирование PLA2 сильнодействующего пчелиного яда, а также ингибирование сериновой протеазы и металлопротеиназы в некоторых случаях, и, таким образом они могут быть использованы по отдельности или в комбинации для достижения наибольшего эффекта в качестве средств для лечения отравления змеиным ядом. В альтернативных примерах осуществления настоящего изобретения может дополнительно включать эффективные количества одного или более дополнительных веществ, включая один или более дополнительных ингибиторов PLA2 (как далее описано в настоящей заявке, зачастую индоксам или метил-индоксам), ингибитор SP, который позволяет снизить уровни активности PLA2 в сыворотке крови (при использовании камостата или габексата), одного или более ингибиторов ацетилхолинэстеразы (например, предпочтительно неостигмин, эдрофоний или пиридостигмин с атропином или гликопирролатом), одного или более ингибиторов металлопротеиназы (например, маримастан, приномастан, таномастан, вориностан, батимастан, иломастан, или антибиотики, такие как доксициклин, цефиксим и другие цефалоспорины), одного или более ингибиторов сериновых протеаз (например, нафамостат, также обладающих свойствами ингибирования металлопротеиназы в некоторых ядах животного происхождения, габексат и «Камостат» или камостат), по меньшей мере, одного ингибитора фактора распространения и, по меньшей мере, одного антагониста NMDA рецептора, и кроме того, включать лидокаин и (или) бупивакаин, которые могут быть включены в эффективное количество для улучшения кровотока на участке введения композиции для улучшения биораспределения по активному участку действующего (-их) вещества (веществ). Следует отметить, что было обнаружено, что вареспладиб по отдельности или в сочетании с противоядием обладает IC<sub>50</sub>, специфической для змеиных ядов, более низкой по сравнению с предшествующей информацией в отношении любого змеиного яда или изоформ sPLA2 человека - всего лишь 0,05 нМ при комбинировании с противоядием с указанными низкими диапазонами, как правило, от 3 нМ до 9 нМ для вареспладиба, индоксама и родственных соединений (Dennis, Edward A., et al. "Phospholipase A2 enzymes: physical structure, biological function, disease implication, chemical inhibition, and therapeutic intervention". Chemical reviews 111.10 (2011): 6130-6185).

В одном предпочтительном примере осуществления настоящего изобретения, по меньшей мере, одно вещество, выбранное из группы,

включающей соединения ИИ-индол-3-глиоксиамида, в частности, вареспладиб и (или) метилвареспладиб, и опционально камостат (N,N-диметилкарбамоилметил,4-4-гуанидинобензоилокси-фенилацетат или камостат) и (или) габексат (этил-p[6-гаунидиногексаноилокси]-бензоат метансульфонат), предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб вводится совместно с ингибитором ацетилхолинэстеразы (AChI) (например, неостигмином, эдрофонием или пиридостигмином, каждый предпочтительно с атропином или гликопирролатом) для обеспечения исключительно эффективного универсального антипаралитического действия, и при этом выраженное антигемотоксическое действие вещества обеспечивается вареспладибом и (или) метилвареспладибом, камостатом и (или) габексатом. В некоторых предпочтительных примерах осуществления настоящего изобретения вводимая композиция содержит эффективное количество, по меньшей мере, варисплатиба или метилвареспладиба, который метаболизируется в вареспладиб в качестве его пролекарства для лечения млекопитающих.

В другом примере осуществления настоящего изобретения вареспладиб и (или) метилвареспладиб, опционально в комбинации с одним или более дополнительными ингибиторами PLA2s, но предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб, вводят совместно, по меньшей мере, с одним ингибитором металлопротеиназы (например, приномастатом, маримастатом или батимастатом, предпочтительно приномастатом) и (или) по меньшей мере, с одним ингибитором ацетилхолинэстеразы (AChEI) (например, неостигмином и (или) атропином). В некоторых дополнительных предпочтительных примерах осуществления настоящего изобретения как один, так или более ингибиторов металлопротеиназы, так и один или более ингибиторов ацетилхолинэстеразы скомбинированы с вареспладибом и (или) метилвареспладибом для снижения вероятности гибели отравленного ядом субъекта или возникновения постоянной инвалидности от кровотечения, нарушения свертываемости крови или паралича, вызванных отравлением змеиным ядом.

Следует отметить, что, методы лечения, фармацевтические композиции, системы и комплекты настоящего изобретения позволяют исключить необходимость в противоядии при лечении субъектов, пострадавших от отравления ядом, по меньшей мере, на начальных этапах (например, непосредственно после укуса до приблизительно 24 часов или более после укуса), что позволит субъекту, пострадавшему от отравления, добраться до больницы

или другого лечебного учреждения для дальнейшего установления диагноза и (или) лечения с помощью противоядий или комбинаций низкомолекулярных ингибиторов змеиного яда (зачастую вареспладиба/метил вареспладиб). Противоядия или комбинации низкомолекулярных ингибиторов змеиного яда могут быть введены в комбинации с ингибиторами МР, такими как доксициклин, цефиксим или приномастат. Следует отметить, что вареспладиб и (или) метилвареспладиб по отдельности являются исключительно эффективными при ингибировании действия отравления ядами широкого диапазона ядовитых животных, включая змей и иных рептилий (например, ящериц), амфибий (ядовитых лягушек), скорпионов, пауков, насекомых, стрекающих кишечнорастворимых (так называемые "кишечнорастворимые", в том числе ядовитые медузы и кораллы) и т.д. Также следует отметить, что комбинация вареспладиба и (или) метилвареспладиба с некоторыми ингибиторами металлопротеиназ и без них, оказалась эффективной при лечении укусов, наносимых всеми основными видами змей в Японии. Кроме того, совместное введение вареспладиба и (или) метилвареспладиба с неостигмином или пиридостигмином или без них и опционально с атропином или гликопирролатом или без них позволит эффективно лечить укусы всех арлекиновых коралловых аспидов, обитающих в Северной и Южной Америке, и данное открытие характеризуется выраженным терапевтическим воздействием, поскольку обеспечивается непосредственное лечение угрожающих жизни симптомов, в частности, за счет самовведения пострадавшим терапевтических препаратов в момент отравлений, вызванных укусами ядовитых животных. В других примерах осуществления настоящего изобретения включение вареспладиба и (или) метилвареспладиба и опционально другого ингибитора PLA2 (например, индоксама или метилиндоксама, включая другие прямые или косвенные помимо, например, габексата), и одного или более приномастата, хемостата, батимастата и маримастата и ингибитора ацетилхолинэстеразы (например, неостигмина и (или) атропина) позволит создать композицию, являющуюся исключительно эффективной при лечении субъектов, пострадавших от отравления змеиным ядом на участках тела, на которых яд от укусов ядовитых животных оказывает воздействие, выражающееся в кровотечении/коагуляции и параличе.

Также следует отметить, что, вареспладиб и метилвареспладиб по отдельности ингибируют активность широкого спектра компонентов яда, позволяя предположить, что один из них или оба выполняют непосредственную

регуляторную функцию в отношении PLA2 при действии многих ферментных и неферментных компонентов яда, а также в отношении опосредованных организмом-хозяином реакций, облегчающих поступление неферментных, разрушающих ткани токсинов в клетки организма-хозяина, хоть и не за счет прямого ингибирования ферментов змеиного яда, не относящихся к PLA2, до настоящего времени не описанных в научной литературе. При этом вареспладиб и метилвареспладиб обладают противовоспалительной активностью, снижая сосудистую проницаемость и понижая способность распространения яда, в то время как низкомолекулярные терапевтические средства могут распространяться на участок депонирования ядов. Такая необычная комбинация лечебного воздействия (прямое ингибирование яда вареспладибом и его пролекарством - метилвареспладибом) делают его идеальным «кандидатом» для использования в качестве универсального антидота против яда при укусе змей в отдельности или в комбинации с другими низкомолекулярными терапевтическими средствами и (или) противоядием.

Важно отметить, что в отличие от противоядия, композиции настоящего изобретения способны диффундировать или проникать в ткани нервной системы, кровяные сгустки и (или) отмершую ткань, находящуюся на участках отравления змеиным ядом, тем самым обеспечивая эффективное лечение, в то время как противоядие оказывает пониженное или незначительное действие. Включение лидокаина и (или) бупивакаина может способствовать получению вещества, которое при введении намного быстрее достигает участка, на котором оно проявляет свою активность, потенциально купируя боль от укуса и предотвращая боль от доставки лекарственных средств при использовании любого парентерального механизма, а также для общего обезболивания.

Методы лечения, фармацевтические композиции, системы и комплекты настоящего изобретения могут быть использованы для лечения не только человека, но также и в области ветеринарии для лечения крупного рогатого скота, лошадей или домашних животных, как описано в настоящей заявке.

Изобретение предусматривает создание методов лечения, фармацевтических композиций, систем и комплектов, в которых используется, по меньшей мере, один активный компонент, в некоторых случаях, по меньшей мере, два активных компонента и в других случаях не более двух активных компонентов, выбранных из группы, включающей селективный секреторный ингибитор PLA2 (ингибитор sPLA2 или PLA2), ингибитор металлопротеиназы, ингибитор сериновой

протеазы, один или более ингибиторов ацетилхолинэстеразы или агонист nAChR в сочетании с антагонистом mAChR, антагонист NMDA рецептора и ингибитор фактора распространения для лечения субъекта, страдающего от отравлений, вызванных укусами ядовитых животных, предпочтительно в момент отравления, вызванного укусами ядовитых животных, и зачастую в интервале времени, составляющем менее приблизительно одного часа после отравление змеиным ядом, не более, чем приблизительно от 1 минуты до приблизительно 20 минут, зачастую приблизительно от 1 минуты до приблизительно 10 минут, после отравления, например, при укусе змеи или беспозвоночного. В предпочтительных аспектах в настоящем изобретении используется эффективное количество ингибитора PLA2 (предпочтительно, 1Н-индол-3-глиоксиамиды, в частности, вареспладиб, метилвареспладиб или их смеси) в качестве отдельного средства или средств для лечения субъекта, страдающего от отравления змеиным ядом. Было обнаружено, что как вареспладиб, так и метилвареспладиб обеспечивают активное ингибирование PLA2, а также иногда ингибирование металлопротеиназы и (или) сериновой протеазы, и они могут быть использованы по отдельности или в комбинации для достижения большего эффекта в качестве средств для лечения отравление змеиным ядом. В альтернативных примерах осуществления настоящее изобретение может дополнительно включать эффективное количество одного или более дополнительных средств, включая один или более дополнительных ингибиторов PLA2 (как далее описано в настоящей заявке, зачастую при использовании камостата или габексата), одного или более ингибиторов ацетилхолинэстеразы (например, предпочтительно неостигмин и (или) атропин), одного или более ингибиторов металлопротеиназы (например, маримастан, нафамостат, приномастан), одного или более ингибиторов сериновых протеазы (например, нафамостат), по меньшей мере, одного ингибитора фактора распространения и, по меньшей мере, одного антагониста NMDA рецептора, наряду с другими, включая лидокаин и (или) бупивакаин, которые могут быть включены в эффективное количество для улучшения кровотока на пораженном участке, обеспечивая при этом купирование боли, в который введена композиция с целью улучшения биораспределения лекарственного (-ых) средства (средств) по активному участку. В некоторых предпочтительных примерах осуществления настоящего изобретения низкомолекулярный ингибитор, такой как вареспладиб и (или) метилвареспладиб, комбинируют с противоядием для достижения исключительно эффективного лечения при отравлении змеиным ядом.

Настоящее изобретение предусматривает создание методов лечения, фармацевтических композиций, систем и комплектов, в которых используется, по меньшей мере, один активный компонент, в некоторых случаях, по меньшей мере, два активных компонента и в других случаях не более двух активных компонентов, выбранных из группы, включающей селективный секреторный ингибитор PLA2 (который также может функционировать как эффективный ингибитор металлопротеиназы), ингибитор металлопротеиназы, ингибитор сериновой протеазы, один или более ингибиторов ацетилхолинэстеразы, антагонист NMDA рецептора, ингибитор L-аминоксидазы, ингибитор гиалуронидазы и ингибитор фактора распространения для лечения субъекта, страдающего от отравления, предпочтительно в момент отравления, и зачастую в интервале времени от нескольких часов до менее, чем приблизительно одного часа после отравления змеиным ядом, зачастую не более чем приблизительно от 1 минуты до приблизительно 20 минут, приблизительно от 1 минуты до приблизительно 10 минут после укуса или укола жалом, например, змеей или беспозвоночным. В других примерах осуществления настоящего изобретения, в частности, когда одно или более из вышеописанных соединений (предпочтительно, низкомолекулярных) комбинируют с противоядием, указанные композиции могут быть введены через несколько часов после отравления, например, в качестве первоочередного лечения укуса змеи в больнице или другом лечебном учреждении.

Неожиданно было обнаружено, что как вареспладиб, так и в наибольшей степени метилвареспладиб, проявляют активное ингибирование PLA2 змеиного яда, но НЕ ингибирование PLA2 сильнодействующего пчелиного яда, а также в некоторых случаях ингибирование сериновой протеазы и металлопротеиназы, и, таким образом они могут быть использованы по отдельности или в комбинации для достижения наибольшего эффекта в качестве средств для лечения отравлений змеиным ядом. В альтернативных примерах осуществления настоящего изобретения может дополнительно включать эффективные количества одного или более дополнительных веществ, включая один или более дополнительных ингибиторов PLA2 (как далее описано в настоящей заявке, зачастую при использовании камостата или габексата), одного или более ингибиторов ацетилхолинэстеразы (например, предпочтительно неостигмин, эдрофоний или пиридостигмин с атропином или гликопирролатом), одного или более ингибиторов металлопротеиназы (например, маримастан, приномастан, таномастан, вориностан, батимастан, иломастан, или антибиотики, такие как

доксциклин, цефиксим и другие цефалоспорины), одного или более ингибиторов сериновой протеазы (например, нафамостат, также обладающий свойствами ингибирования металлопротеиназы в некоторых ядах животного происхождения), по меньшей мере, одного ингибитора фактора распространения и, по меньшей мере, одного антагониста NMDA рецептора, и кроме того, может включать лидокаин и (или) бупивакаин, которые могут быть включены в эффективное количество для улучшения кровотока на участке введения композиции для улучшения биораспределения по активному участку действующего (-их) вещества (веществ). Следует отметить, что было обнаружено, что вареспладиб по отдельности или в сочетании с противоядием обладает IC50, специфической для змеиных ядов, более низкой по сравнению с предшествующей информацией в отношении любого змеиного яда или изоформ sPLA2 человека - всего лишь 0,05 нМ при комбинировании с противоядием (по сравнению с диапазоном 3-9 нМ).

В одном предпочтительном примере осуществления настоящего изобретения, по меньшей мере, одно вещество, выбранное из группы, включающей соединения ИH-индол-3-глиоксиамида, в частности, вареспладиб и (или) метилвареспладиб, и опционально ингибитор SP, такой как камостат (N,N-диметилкарбамоилметил,4-4-гуанидинобензоилокси-фенилацетат или камостат) и (или) габексат (этил-p[6-гаунидиногексаноилокси]-бензоат метансульфонат), предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб вводится совместно с ингибитором ацетилхолинэстеразы (AChE) (например, неостигмином, эдрофонием или пиридостигмином, каждый предпочтительно с атропином или гликопирролатом) для обеспечения исключительно эффективного универсального антипаралитического действия, и при этом выраженное антигемотоксическое действие вещества обеспечивается вареспладибом и (или) метилвареспладибом, камостатом и (или) габексатом. В некоторых предпочтительных примерах осуществления настоящего изобретения вводимая композиция содержит эффективное количество, по меньшей мере, вареспладиба или метилвареспладиба, который метаболизируется в вареспладиб в качестве его пролекарства для лечения млекопитающих.

В другом примере осуществления настоящего изобретения вареспладиб и (или) метилвареспладиб, опционально в комбинации с одним или более дополнительными ингибиторами PLA2, но предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб вводят совместно, по меньшей мере, с одним ингибитором металлопротеиназы (например, приномастатом, маримастатом или батимастатом,

предпочтительно приномастатом) и (или) по меньшей мере, с одним ингибитором ацетилхолинэстеразы (AChEI) (например, неостигмином и (или) атропином). В некоторых дополнительных предпочтительных примерах осуществления настоящего изобретения как один, так и более ингибиторов металлопротеиназы, так и один или более ингибиторов ацетилхолинэстеразы скомбинированы с вареспладибом и (или) метилвареспладибом для снижения вероятности гибели отравленного ядом субъекта или возникновения постоянной инвалидности от кровотечения, нарушения свертываемости крови или паралича, вызванных отравлением змеиным ядом.

Следует отметить, что, методы лечения, фармацевтические композиции, системы и комплекты настоящего изобретения позволяют исключить необходимость в противоядии при лечении субъектов, пострадавших от отравления ядом, по меньшей мере, на начальных этапах (например, непосредственно после укуса до приблизительно 24 часов или более после укуса), что позволит субъекту, пострадавшему от отравления, добраться до больницы или другого лечебного учреждения для дальнейшего установления диагноза и (или) лечения с помощью противоядий или комбинаций низкомолекулярных ингибиторов змеиного яда (зачастую вареспладиба/метилвареспладиба). Противоядия и или комбинации низкомолекулярных ингибиторов антидота могут быть введены в комбинации с ингибиторами МР, такими как доксициклин или маримастат. Следует отметить, что вареспладиб и (или) метилвареспладиб по отдельности являются исключительно эффективными при ингибировании действия отравления ядами широкого диапазона ядовитых животных, включая змей и иных рептилий (например, ящериц), амфибий (ядовитых лягушек), скорпионов, пауков, насекомых, стрекающих кишечнополостных (ядовитые медузы) и т.д. Также следует отметить, что комбинация вареспладиба и (или) метилвареспладиба с некоторыми ингибиторами металлопротеиназы и без них, оказались эффективными при лечении укусов, наносимых всеми основными видами змей в Японии. Кроме того, совместное введение вареспладиба и (или) метилвареспладиба с неостигмином или пиридостигмином или без них и опционально с атропином или гликопирролатом или без них позволит эффективно лечить укусы всех арлекиновых коралловых аспидов, обитающих в Северной Америке и Южной Америке, и данное открытие характеризуется выраженным терапевтическим воздействием, поскольку обеспечивается непосредственное

лечение угрожающих жизни симптомов, в частности, за счет самовведения пострадавшим терапевтических препаратов в момент отравлений, вызванных укусами ядовитых животных. В других примерах осуществления настоящего изобретения включение вареспладиба и (или) метилвареспладиба и опционально другого ингибитора PLA2 (например, камостат и (или) габексата и др.), и одного или более ингибиторов (приномастата, хемостата, батимастата и маримастата) и ингибитора ацетилхолинэстеразы (например, неостигмина и (или) атропина) позволит создать композицию, являющуюся исключительно эффективной при лечении субъектов, пострадавших от отравления змеиным ядом на участках тела, на которых яд от укусов ядовитых животных оказывает воздействие, выражающееся в кровотечении/коагуляции и параличе.

Также следует отметить, что, вареспладиб и метилвареспладиб по отдельности ингибируют активность широкого спектра компонентов яда, позволяя предположить, что один из них или оба выполняют непосредственную регуляторную функцию в отношении PLA2 при действии многих ферментных и неферментных компонентов яда, а также в отношении опосредованных организмом-хозяином реакций, облегчающих поступление неферментных, разрушающих ткани токсинов в клетки организма-хозяина, хоть и не за счет прямого ингибирования ферментов змеиного яда, не относящихся к PLA2, до настоящего времени не описанных в научной литературе. При этом вареспладиб и метилвареспладиб обладают противовоспалительной активностью, снижая сосудистую проницаемость и понижая способность распространения яда, в то время как низкомолекулярные терапевтические средства могут распространяться на участок депонирования ядов. Такая необычная комбинация лечебного воздействия (прямое ингибирование яда вареспладибом и его пролекарством - метилвареспладибом) делают его идеальным «кандидатом» для использования в качестве универсального антидота против яда при укусе змей в отдельности или в комбинации с другими низкомолекулярными терапевтическими средствами и (или) противоядием.

Важно отметить, что в отличие от противоядия композиции настоящего изобретения способны диффундировать или проникать в ткани нервной системы, кровяные сгустки и (или) отмершую ткань, находящуюся на участках отравления змеиным ядом, тем самым обеспечивая эффективное лечение, в то время как противоядие оказывает пониженное или незначительное действие. Включение лидокаина и (или) бупивакаина может способствовать получению вещества,

которое при введении намного быстрее достигает участка, на котором оно проявляет свою активность, потенциально купируя боль от укуса и предотвращая боль от доставки лекарственных средств при использовании любого парентерального механизма, а также для общего обезболивания.

Методы лечения, фармацевтические композиции, системы и комплекты настоящего изобретения могут быть использованы для лечения не только человека, но также и в области ветеринарии для лечения крупного рогатого скота, лошадей или домашних животных, как описано в настоящей заявке.

Далее настоящее изобретение проиллюстрировано на нижеприведенных неограничивающих примерах.

#### ПРИМЕР 1: ЭКСПЕРИМЕНТЫ *IN VITRO*

Обзор: Первоначальные эксперименты были проведены с целью оценки активности sPLA2 с использованием аналога 1,2-дифосфатидилхолина, и они не были оптимизированы, однако они позволили получить исключительно надежные результаты, подтверждающие идею изобретателя о необходимости проведения более тщательных испытаний вареспладиба и метилвареспладиба. Предпосылки. Фосфолипаза A2 (PLA2) катализирует гидролиз фосфолипидов в позиции sn-2, в результате которого получают свободную жирную кислоту и лизофосфолипид. Считается, что высвобождение арахидоновой кислоты из мембранных фосфолипидов с помощью PLA2 является ключевой стадией контроля выработки эйкозаноида внутри клетки. Контроль PLA2 пчелиного яда представлял собой раствор PLA2 пчелиного яда в количестве 100 мкг/мл, поставляемый в качестве положительного контроля в комплекте Каталог комплектов Abeam номер ab133089). В качестве субстрата для MP использовали DQ-желатин, и анализ проводили в соответствии с инструкциями производителя по проведению анализа желатиназы EnzChek. Активность MP яда не была оптимизирована при проведении начального эксперимента, однако были оптимизированы скорости реакции в ходе экспериментов, проводимых лабораторией по независимому подрядному контракту. Анализ SP был проведен с использованием Ncst-Бензоил-L-аргинин-7-амидо-4-метилкумарин гидрохлорида. Указанные комплекты хранили в соответствии с указанными требованиями при -20°C. Если не указано иное, при проведении моих экспериментов был использован только неочищенный, нефракционированный лиофилизированный яд, закупленный у компании Sigma

или Miami Serpentarium. Установка планшета: Следовали инструкциям производителей (перефразированы в данном контексте), если не указано иное. Анализ данных: xcel в соответствии с рекомендациями производителей. Аналитические образцы MP и SP были подготовлены и размещали в планшете таким же образом, как и аналитические образцы PLA2, за тем исключением, что были использованы другие субстраты и флуорофоры. Фосфатно-солевой буфер (PSB) использовали в качестве буфера в случае с аналитическими образцами MP и SP, и поглощаемость была определена при 495 нМ. Субстратом для MP служил DQ желатин, и анализ проводили в соответствии с инструкциями производителями по проведению анализа желатиназы EnzChek, за тем исключением, что эксперименты проводили нестандартно при 37° С для определения температуры тела человека, и начальные эксперименты по активности PLA2, MP и активности SP не были оптимизированы для скрининга (например, использовали исключительно большие дозы яда – 10 мг/мл маточного раствора во всех случаях, т.к. качество яда не было известно при конечной концентрации 0,444 мг/мл в тестовых лунках). Анализ SP был выполнен с использованием Na-бензоил-L-аргинин-7-амидо-4-метилкумарин гидрохлорида (Sigma). Особенности метода контрактной лаборатории отличаются от методов начальных экспериментов, проводимых изобретателем настоящего изобретения в плане оптимизации яда и субстрата, размера планшета (384 лунок вместо 96), объема и температуры и других факторов, включая различных операторов, таких как описаны непосредственно ниже, выполненных в соответствии с первыми пилотными экспериментами и в дальнейшем продолженными контрактной лабораторией.

#### ПРИМЕР 2: НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЙ СКРИНИНГ И ЭКСПЕРИМЕНТЫ ЗАВИСИМОСТИ ДОЗА-ОТВЕТ

Низкомолекулярный скрининг и эксперимент зависимости доза-ответ проводили в Йельском центре по молекулярным открытиям (Yale Center for Molecular Discovery). Используемая аппаратура при наличии показаний включала автоматическую пипетирующую станцию Tecan EVO (2), жидкостный манипулятор Tecan Aquarius, автоматическую пипетирующую систему Matrix PlateMatePlus (2), роботов для переноса жидкости Matrix PlateMate2X2 и дозаторов жидкости Titertek и Thermo Multidrop (7). Сканирующие планшеты-ридеры PerkinElmer EnVision (3) и Tecan infinite M1000 (2) обеспечивают точное измерение поглощающей способности, флуоресценции, поляризации флуоресценции и люминесценции в

форматах 96- и 384-луночных планшетов. Система визуализации GE InCell Analyzer 2200 позволяет получить многоцветные флюоресцентные изображения проходящего света с планшетов. Тестируемые коллекции, используемые в первой фазе скрининга, были выбраны изобретателем или отобраны из библиотек известных соединений и природных продуктов, имеющихся на момент проведения экспериментов по отобраным ядам, в том числе: библиотеки NCC, GenPlus, Pharmakon, Bioactive Lipids, Protease Inhibitors, Procured Drugs и одобренные FDA лекарственные средства. Библиотека GenPlus (NINDS Custom Collection) из MicroSource Discovery Systems содержит 960 соединений. Этот уникальный подбор известных биоактивных соединений обеспечивает проведение одновременной оценки сотен реализуемых на рынке лекарственных средств и биохимических стандартов. Коллекция библиотеки Pharmakon 1600 (MicroSource) включает известные лекарственные средства, используемые во всем мире или исследуемые при проведении клинических испытаний. Библиотека Enzo включает комплект 640 соединений лекарственных средств, одобренных Федеральным управлением по лекарственным средствам, и содержит информацию о биоактивности, безопасности и биодоступности в отношении каждого репрезентативного соединения.

Каждый анализ был охарактеризован аналогичным образом с использованием хорошо отработанной в Центре методики. Анализы, как правило, выполняют в 384-луночных микротитрационных планшетах. В соответствии со стандартной процедурой три популяции образцов добавляли к каждому планшету; две контрольные популяции (32 лунки на контроль в 384-луночном планшете) и испытываемая популяция (320 лунок), в которые помещают соединения. Лунки с положительным контролем (с+) были обработаны с целью моделирования результата анализа активных низкомолекулярных соединений. В лунки отрицательного контроля (с-) добавляли раствор ДМСО (в который вводят соединения). Сигналы из лунок повторного положительного и отрицательного контроля использовали для оценки эффективности аналитического образца, в частности, его чувствительности и воспроизводимости, а также его приемлемости для высокопроизводительного скрининга. Статистическое значение - Z'-фактор – математически представляет разделение сигналов между двумя популяциями контроля и возможности анализа, позволяющие отличать активные соединения с высокой вероятностью от пассивных соединений (J-H Zhang, TDY Chung, KR Oldenburg, (1999), A simple statistical parameter for use in evaluation and validation of

high throughput screening assays, *J Biomol. Screen*, 4, 67-73.). Был подсчитан Z'-фактор по средним сигналам положительного и отрицательного контроля и их стандартные отклонения по каждому планшету с использованием формулы:  $Z' = 1 - [3(\sigma_{c+} + \sigma_{c-}) / (\mu_{c+} - \mu_{c-})]$ . Глубокий анализ по скринингу единичных соединений позволил неизменно определять Z'-факторы со значением более 0,5. Обычно высокопроизводительный скрининг образцов с высокой дискриминационной способностью также позволяет получить отношения сигнал/фон (средние сигналы положительного контроля, деленные на отрицательный контроль) более пяти и коэффициенты вариации (средне скорректированные стандартные отклонения) для положительного и отрицательного контроля ниже 15% (Y Sui, Z Qu, (2007), Alternative statistical parameter for high-throughput screening assay quality assessment, *J Biomol Screen*, 12, 229-34).

В каждом случае проводилась оценка целого ряда общих экспериментальных параметров, включающих тип планшета, количество разведений реактивов, протоколы аликвотирования, референсные стандарты, комплекты спектроскопических фильтров, параметры обнаружения, и чувствительность к диметилсульфоксиду (ДМСО). В общем протоколе реагенты добавляли последовательно для достижения заполнения всего объема лунок в размере 20 мкл в 384-луночных планшетах с использованием жидкостного манипулятора Aquarius (Tecan) или роботизированной пипетирующей станции PlateMatePlus (Matrix) дозаторов жидкости Multidrop (TiterTek или Thermo). Соединения из химических лабораторий доводили до конечной концентрации, составлявшей приблизительно 10 мкМ/лунку, с использованием комплекта головок игольчатого микродозатора с наконечниками на 384 лунки (V&P Scientific, Inc.) на Aquarius или PlateMatePlus. Количественное определение сигналов проводится на планшет-ридерах или на системе визуализации с использованием алгоритмов комплексного анализа изображений или программного обеспечения CellProfiler. Данные первичного скрининга анализируют с использованием коммерческого программного обеспечения и пакета баз данных (ActivityBase (IDBS)) с целью мониторинга проведения анализа и определения порогов на основе сигналов аналитических образцов для определения соединений, проявляющих высокую активность, и обоснования дальнейшей характеристики. После оценки, проведенной медицинскими химиками, соединения-лидеры (проявляющие физиологическую активность) могут быть размещены в планшетах в любом количестве форматов с целью подтверждения, обнаружения артефактов,

проведения испытаний на клеточных линиях млекопитающих или анализа зависимости «доза-эффект». Как указывалось, данные были нанесены на графики и подогнаны к моделям, таким как значения концентрации полумаксимального ингибирования (IC50) или полумаксимальной эффективной концентрация вещества (EC50).

### ПРИМЕР 3: АНАЛИЗ ИНГИБИРОВАНИЯ АКТИВНОСТИ sPLA2

Был проведен скрининг ингибиторов sPLA2, MP и SP яда. Маточные растворы яда при концентрации 10 мг/мл использовали без стандартного разведения для проведения анализа различных ингибиторов sPLA2, MP и SP. Конечная концентрация яда в аналитических образцах была исключительно высокой и составляла 0,444 мг/мл. Следует отметить, что несмотря на избыточное поглощение субстрата в контрольных лунках, ряд ингибиторов проявил выраженную способность ингибировать поглощение субстрата. Наиболее значимыми из указанных ингибиторов явились вареспладиб и метилвареспладиб, проявлявшие эффект даже при концентрациях яда, превышающих в 100000 раз оптимальные концентрации (см. например, Фиг. 4 концентрации яда для сравнения, используя те же комплекты и методы). Выводы в результате обзора данных, полученных при проведении трех анализов маточных растворов яда, заключались в том, что в отношении ряда ядов животного происхождения вареспладиб и метилвареспладиб проявили ингибирование MP и SP в некоторых случаях, позволяя предположить, что они могли бы явиться высокоценным универсальным антидотом и ключевым элементом широкого спектра антидотов яда змей и беспозвоночных.

На Фиг. 1 проиллюстрирован период действия PLA2 змеиного яда в присутствии вареспладиба (100 мкМ) или метилвареспладиба (100 мкМ). Несмотря на использование избыточного количества яда (при конечной концентрации 0,444 мг/мл), вареспладиб ингибировал активность PLA2 во всех протестированных змеиных ядах, и следует отметить, что ингибирование также в ряде случаев проявило его пролекарство - метилвареспладиб (это, в частности касается яда песчаной эфы (*Echis carinatus*)). Стрелка указывает на вареспладиб, и направленный вниз треугольник обозначает случаи, при которых пролекарство - метилвареспладиб ('Met-Вареспладиб'), проявили выраженное и существенное ингибирование PLA2 змеиного яда.

### ПРИМЕР 4. АНАЛИЗ ИНГИБИРОВАНИЯ АКТИВНОСТИ MP

На Фиг. 2А-2В проиллюстрировано ингибирование активности металлопротеиназы при комбинировании яда (0,444 мг/мл) с ингибитором. На Фиг. 2А показан период действия активности металлопротеиназы при комбинировании яда (0,444 мг/мл) с ингибитором (100 мкМ). Ингибиторы МР батимастат и маримастат наиболее последовательно проявляют выраженное ингибирование протестированных ядов животного происхождения. Ацетилцистеин (NAC), диметилэйкозадиеновая кислота (DEDA) и дигидроксibenзойная кислота (DBA) также проявили различные уровни ингибирования МР. Следует отметить, что вареспладиб проявил ингибирование активности МР в ряде змеиных ядов, при этом отдельно следует отметить яд гадюки Рассела. На Фиг. 2В на гистограмме показано, что с течением времени (ось х) маримастат, батимастат и вареспладиб продемонстрировали сравнительное ингибирование яда гадюки Рассела (*Daboia russelli*) при 100 мкМ.

Насколько известно изобретателю, ранее не было никаких данных об ингибиторной активности вареспладиба против яда МР. Указанные результаты предполагают либо прямое ингибирование МР, либо регуляторную роль PLA2 в активности указанных ключевых компонентов яда, либо как первое, так и второе. Это дает основания предположить, что одно средство или комбинация всего лишь из двух или трех лекарственных средств обеспечивают успешное лечение укусов ряда опасных, смертоносных змей без необходимости введения или приема противоядия, и идея была испытана, как описано в Примере 8.

#### ПРИМЕР 5. АНАЛИЗ ИНГИБИРОВАНИЯ АКТИВНОСТИ SP

На Фиг. 3 приведены данные из той же самой серии, в которой использовали высокие концентрации яда (конечная концентрация 0,444мг/мл) для проведения анализа ингибирования активности sPLA2, МР и SP, используя методы, описанные в Примере 1. Даже при исключительно высоких концентрациях яда вареспладиб и метилвареспладиб оказывали сильное ингибиторное действие на змеиный яд сериновых протеаз по сравнению с маримастатом и батимастатом при одинаковых концентрациях (100 мкМ) *in vitro*.

#### ПРИМЕР 6: АНАЛИЗ ИНГИБИРОВАНИЯ АКТИВНОСТИ SPLA2

Для подтверждения результатов предшествующих экспериментов, в которых использовались только растворы ядов с высокой концентрацией для анализа воздействия на sPLA2, и было проведено поглощение субстрата, выбранные ингибиторы PLA2, такие как вареспладиб и дарапладиб с более низкими концентрациями, были использованы при в большей степени

оптимизированных условиях проведения анализа и в соответствии с рекомендациями производителя. Другое отличие указанного анализа от анализа, описание которого приведено со ссылкой на Фиг. 1, 2А и 3, заключается в том, что анализы проводили при 25°C. Ингибирование PLA2 змеиного яда было очевидно в отношении всех змей так называемой «Большой 4» Индии: (индийская кобра) (*naja naja*), индийский крайт (*B. Caeruleus*) (и ленточный крайт (*B. fasciatus*)), а также песчаная эфа (*E. carinatus*) и гадюка Рассела (*D. Russellii*). Следует отметить, что активность PLA2 пчелиного яда не была ингибирована ни вареспладибом, ни дарапладибом.

На Фиг. 4 проиллюстрировано, что вареспладиб, но не дарапладиб (ингибитор Lp- PLA2) ингибировал PLA2 змеиного яда *in vitro*. Стоит отметить, что PLA2 пчелиного яда не была ингибирована ни вареспладибом, ни дарапладибом. Отсутствовал явный синергетический эффект между дарапладибом и вареспладибом при проведении испытаний двух средств в комбинации (данные не приведены). Данные были нормализованы к контролю яда. Анализы были проведены как и в Примере 1, за тем исключением, что активность яда была оптимизирована до испытания лекарственного средства, и были проведены испытания при значительно более низких концентрациях вареспладиба, тем не менее, пришли к тому же заключению: сильное ингибирование активности фермента PLA2 змеиного яда.

На Фиг. 5A-5R проиллюстрировано, что вареспладиб и метилвареспладиб ингибировали измеренную активность sPLA2 ряда важных с медицинской точки зрения ядов животного происхождения *in vitro* (методы доза-ответ в Примере 2). На Фиг. 5A) индийская кобра (*Naja naja naja*) 5B) крайт (*Bungarus caeruleus*) 5C) гадюка Рассела (*Daboia russelli*) 5D) песчаная эфа (*Echis carinatus*) 5E) тайпан (*Oxyuranus scutellatus*) и 5F) арлекиновый коралловый аспид (*Micrurus fulvius*) показано, что вареспладиб и метилвареспладиб являются менее активными ингибиторами sPLA2 пчелиного яда 5G) при концентрации вплоть до 1 мкМ, и только слабый эффект при концентрациях до 100 мкМ, Фиг. 5H) черная мамба (*Dendroaspis polylepis*) 5I) гадюкообразная смертельная змея (*Acanthophis antarcticus*) 5J) гадюка обыкновенная 5K) короткохвостый щитомордник (*A. blomhoffii brevicaudus*) 5L) ромбический гремучник (*Crotalus adamanteus*) 5M) медноголовый щитомордник (*Agkistrodon contortrix*) 5N) тexasский гремучник (*Crotalus atrox*) 5O) мойавский ромбический гремучник (*Crotalus scutulatus scutulatus*) 5P) водяной щитомордник (*Agkistrodon piscivorus*) 5Q) тexasский

гремучник (*Crotalus atrox*) 5R) мойавский ромбический гремучник (*Crotalus scutalatus*), позволяет повторить эксперимент. Широкий диапазон действия и высокая активность вареспладиба (V) и метилвареспладиба (V-m) против PLA2 репрезентативного змеиного яда по всему миру являются глубоко впечатляющими.

**ПРИМЕР 7: ВАРЕСПЛАДИБ ОБЛАДАЕТ ЗАЩИТНЫМИ И ТЕРАПЕВТИЧЕСКИ ЭФФЕКТИВНЫМИ СВОЙСТВАМИ ПРОТИВ ЯДА АРЛЕКИНОВОГО КОРАЛЛОВОГО АСПИДА (*M. FULVIUS*) У МЫШЕЙ И КРЫС.**

Указанный пример демонстрирует, что введение вареспладиба (4 мг/кг, если не указано иное) позволило защитить мышей, отравленных ядом арлекинового кораллового аспида (4 мг/кг).

Мышам был подкожно введен яд арлекинового кораллового аспида, приблизительно в 4 раза превышающий LD50 (обычно оцениваемую в размере 1,3 мг/кг, подкожно) (0,1 мг яда арлекинового кораллового аспида/довитого животного для приблизительной дозы ~4 мг/кг). До инъекирования яда животным вводили подкожно либо полную дозу в размере 0,1 мг вспомогательного вещества вареспладиба (имитация лечения), либо расчетную концентрацию вареспладиба в размере 4 мг/кг за ~10-15 минут до введения яда. Выжившие животные были умерщвлены при вдыхании CO<sub>2</sub> по завершению эксперимента и периодов наблюдения в пределах от ~12 часов до 30 часов (при этом предел выживания устанавливался на 24 часа). Стоит отметить, что введение только однократных доз вареспладиба обеспечило выживание многих животных при, а не лишь продление их период выживания. Также следует отметить фактическое отсутствие геморрагических осложнений и острого гемолиза у контрольной группы животных. Фактически отсутствовал острый гемолиз у животных, получивших лечение (например, 6G), а также обнаружилось незначительное или полное отсутствие лёгочного кровотечения при вскрытии. Вызванное ядом повышение уровня PLA2 было подавлено вареспладибом и соответствовало как клиническим описаниям животных, так и острому гемолизу (или его отсутствию). Обычно отмечалось, что животные были бодрыми, активными и реагирующими на терапию с использованием терапевтически эффективных доз вареспладиба. Лечение мышей метилвареспладибом до введения высоких доз яда обеспечило полную защиту от действия яда и дало основания полагать, что незамедлительное лечение в полевых условиях укусов за счет приема перорального состава является вполне реальным путем блокирования важных

компонентов яда до того, как они распространились по организму, как это обычно случается к моменту времени, когда пациентам будет предоставлена медицинская помощь. Один важный результат указанных экспериментов (при пероральном и парентеральном введении) заключается в том, что один антидот для одного или более важных с медицинской точки зрения змеиных ядов, позволяет частично нейтрализовать действие как нейротоксичных, так и гемотоксичных компонентов змеиного яда, обеспечивая при этом спасение жизни. Поскольку несколько мышей погибло только при лечении однократной дозой (при отсутствии исследований по определению доз), предполагается, что ингибитор PLA2 (например, вареспладиб) может быть введен многократно в некоторых лечебных схемах, и (или) после лечения вареспладибом может последовать вспомогательное лечение с использованием других лекарственных средств. На Фиг. 6А-Н показано действие вареспладиба у мышей или крыс, отравленных ядом арлекинового кораллового аспида при различных концентрациях, обычно при 4-8 мг/кг, и прохождение предварительного лечения или лечения обычно с одноразовым приемом вареспладиба создает большие преимущества выживания по сравнению с животными, получавшими при лечении плацебо (вспомогательное вещество). У мышей: вареспладиб 4-8 мг/кг подкожно или перорально с метилвареспладибом, по усмотрению. У крыс, вареспладиб или вспомогательное вещество вводили внутривенно на 30 секунде или 5 минуте после подкожного введения яда при 4 мг/кг или 8 мг/кг. Проводили отбор проб крови и анализ на активность sPLA2, при этом образцы брали через хирургически имплантированный в яремную вену катетер через точные промежутки времени (исходное время, 30 минут, 1 час и 4 часа). Именно на основании такого отбора проб впервые было сделано наблюдение о создании защиты от гемолиза (6G). Указанное неожиданное действие вареспладиба — защита от гемолиза — дает основания полагать без привязки к нескольким механизмам, что основанные на вареспладибе лекарственные средства позволяют предотвратить или ослабить коагулопатию и уменьшить повреждение тканей.

ФИГ.: На Фиг. 6А показан исход лечения 5 из 5 (100%) мышей, которым подкожно ввели 4 мг/кг яда арлекинового кораллового аспида. Контрольные мыши быстро погибли от паралитических и геморрагических осложнений. 0 из 5 (0%) мышей, которым ввели предварительно вареспладиб (4 мг/кг) за несколько минут до инъекирования яда, погибло в течение 8 часов. Только у одной мыши появились слабые симптомы геморрагии, однако они были в меньшей степени

выражены, чем у контрольных мышей. У выживших мышей не было обнаружено ярко выраженных симптомов коагулопатии или геморрагии на момент смерти (2 из 5). Две мыши выжило, и у одной на 30-й час проявился лишь незначительный блефароптоз, который практически исчез в интервале времени от 24 до 30 часов после введения яда. На графике выживаемости Каплана-Мейера показана высокая результативность выживаемости при лечении вареспладибом. На Фиг. 6B мышам, которым скормили галеты с метилвареспладибом или вспомогательным веществом в неограниченном количестве, была введена высокая доза яда арлекинового кораллового аспида приблизительно 5 часов спустя после скармливания галет (N=2 в каждой группе). Ни у одной из получивших противоядие мышей, не проявились какие-либо признаки или симптомы отравлений, и в течение всего времени мыши оставались бодрыми, активными и реагирующими на терапию и возобновляли свой бег в колесе несколько минут спустя после введения яда. На Фиг. 6C яд и вареспладиб (4 мг/кг) или яд и вспомогательное вещество смешивали непосредственно до введения и инъецировали подкожно. На 5-й час (300 минут, указывающая вниз стрелка) выжившим животным повторно вводили  $\frac{1}{2}$  дозы вареспладиба (2 мг/кг) или вспомогательного вещества. 5 из 5 получивших ингибитор мышей выжили до конечной временной точки, составлявшей 24 часа (1440 минут), и 4 из 5 контрольных мышей в конечном счете погибли. На Фиг. 6D приведены результаты двух экспериментов с использованием одного и того же протокола. Мышам либо вводили яд и плацебо/вспомогательное вещество (N=7), метилвареспладиб (N=3) или вареспладиб (N=7) приблизительно в интервале времени от 30 секунд до 1,5 минут после введения яда. Это первая демонстрация того, что вареспладиб может быть введен в терапевтическом режиме в качестве единичного однокомпонентного терапевтического средства лечения отравления змеиным ядом. Подтверждающие эксперименты и результаты, приведенные на Фиг. 6E-H, были проведены на крысах контрактной лабораторией для оценки возросшего объема информации об активности вареспладиба действовать в терапевтическом режиме и определения того, что степень его воздействия при внутривенном введении была такой же как и при подкожном введении. На Фиг. 6E и 6F яд арлекинового кораллового аспида вводили подкожно (4 мг/кг или 8 мг/кг) и затем вводили вспомогательное вещество или вареспладиб в количестве 8 мг/кг через 30 секунд или 5 минут после отравление змеиным ядом. 12 из 12 животных, которым были введены указанные вещества, выжили в течение периода времени,

составившего 24 часа, при этом 10 из 12 крыс оставались "бодрыми, активными и отвечающими на лечение", в то время как 6 из 6 контрольных животных погибли приблизительно через 500 минут. Образцы сыворотки всех контрольных животных показали острый гемолиз, в то время как у животных, получивших препарат, не наблюдалось гемолиза или же он наблюдался в исключительно слабовыраженной форме (Фиг. 6G — образец справа, 4-часовой контрольный момент времени, T=5 минут). После умерщвления обнаружилось, что у животных, получивших препарат, либо не наблюдалось легочного кровотечения, либо оно имело слабо выраженную форму, в то время как у всех исследованных контрольных животных имелись острые симптомы легочного кровотечения. На Фиг. 6H показано существенное подавление активности PLA2, несмотря на высокие дозы яда арлекинового кораллового аспида, введенного подкожно, в результате чего летальность составила 100% в течение 8 часов (яд/вспомогательное вещество), и 100% выживших животных, получивших ингибиторы (4 мг/кг яда N=6; 8 мг/кг яда N=6). 12 из 12 выжившим животным был внутривенно введен вареспладиб либо на 30 секунде, либо на 5 минуте после введения яда.

#### ПРИМЕР 8 (ФИГ. 7): ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ ВАРЕСПЛАДИБА ОБЕСПЕЧИВАЮТ ЗАЩИТУ ОТ ЛЕТАЛЬНОГО ИСХОДА ПРИ ОТРАВЛЕНИИ ЗМЕИНЫМ ЯДОМ ЯМКГОЛОВЫХ

Как показано на Фиг. 7, вареспладиб и метил-вареспладиб служат основой для успешного медикаментозного лечения при отравлении змеиным ядом гадюки по отдельности или в сочетании с таким ингибитором MP, как, например, приномастат, или ингибитором SP, принимаемым парентерально или перорально. Фиг. 7A. Мыши, которым вводили совместно яд мойавского ромбического гремучника (*C. scutulotus*) и однократную дозу вареспладиба, пережили мышей контрольной группы, которым вводили только яд (яд только контрольной группе, подкожно N=4; яд + вареспладиб подкожно N=4). Фиг. 7B. Мыши, получавшие метил-вареспладиб + маримастат в неограниченном количестве до отравление змеиным ядом, пережили мышей контрольной группы, которым инъецировали только яд (только яд подкожно N=4; яд + перорально вареспладиб/маримастат N=4). Фиг. 7C. Мыши, которым вводили совместно яд и однократную дозу вареспладиба + смесь маримастата/батимастата), пережили мышей контрольной группы (только яд, подкожно, N=3; смесь яд + вареспладиб/ингибитор MP, N=3). Фиг. 7D. Мыши, получавшие в неограниченном количестве галеты, обработанные метил-вареспладибом и приномастатом, были защищены от летального исхода от

яда техасского гремучника (*C. Atrox*), который вводили им подкожно спустя 3 часа после того, как галеты были положены в клетку, и в результате наблюдения было непосредственно установлено, что каждая мышь, по меньшей мере, один раз кормилась указанными галетами (N=4 в каждой группе).

**ПРИМЕР 9 (ФИГ. 8): ВАРЕСПЛАДИБ ОБЕСПЕЧИВАЕТ ЗАЩИТУ МЫШЕЙ ОТ ЛЕТАЛЬНОГО ИСХОДА ПРИ ОТРАВЛЕНИИ ЯДОМ ГАДЮКИ РАССЕЛЛА (*DABOIA RUSSELLU*).**

Гадюка Рассела (*Daboia russelli*) является основной змеей-убийцей среди «змей Большой 4» в Индии. Катастрофические гематологические и неврологические нарушения являются обычными проявлениями, характеризующимися исключительно изменчивой картиной нарушения свертываемости крови и параличом, что приводит к угрозе катастрофы неврологической, почечной и двигательной функций конечностей. Вареспладиб в данном сценарии выполняет защитную функцию против инсульта периферической и центральной нервных систем, почечной недостаточности и серьезных нарушений свертываемости крови. Мыши, которым предварительно подкожно ввели вареспладиб (4 мг/кг) за 60 - 90 минут до введения им смертельной дозы яда гадюки Рассела, пережили контрольную группу мышей, как показано на Фиг. 8 (N=3 в каждой группе). У всех мышей наблюдалась локальная гематома в месте инъекции, но контрольная группа мышей погибла исключительно от паралича. Все получавшие препарат животные прожили 24 часа, но на 30-й час ослабели и погибли по неизвестной причине, возможно связанной с действием яда - прямым или косвенным.

**ПРИМЕР 10 (ФИГ. 9): ВАРЕСПЛАДИБ ОБЕСПЕЧИВАЕТ ЗАЩИТУ И ЯВЛЯЕТСЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИ ЭФФЕКТИВНЫМ СРЕДСТВОМ ПРОТИВ ЯДА ГАДЮКИ ОБЫКНОВЕННОЙ IN VIVO У МЫШЕЙ**

Как показано на Фиг. 9, мыши, которым инъецировали смертельные дозы яда гадюки обыкновенной, пережили или были полностью защищены от гибели при подкожном введении вареспладиба (4 или 8 мг/кг, если не указано иное) при одновременном введении яда или после его введения. Все мыши, которым внутривенно вводили вареспладиб после введения яда, прожили 24 часа. Обыкновенная гадюка (*V. Verus*) является наиболее распространенной гадюкой в мире, обитающей по всей Европе и Евразии вплоть до Северного полярного круга. Она вырабатывает как гемо, так и нейротоксины, особенно опасные для детей, домашних животных и крупных животных, таких как лошади. Фиг. 9А. Мыши,

которым инъецировали яд и вареспладиб одновременно в подкожное пространство, пережили контрольную группу мышей (яд + вспомогательное вещество) (N=7 в каждой группе). Фиг. 9B Мыши, которым инъецировали летальные дозы яда непосредственно до подкожного введения вареспладиба, пережили контрольную группу мышей (N=7 в каждой группе). У мышей, инъецированных только одним вареспладибом, не проявилось никаких признаков токсического воздействия (N=2). 9C Вареспладиб, вводимый подкожно или внутривенно (8 мг/кг) в латеральную хвостовую вену после введения яда, обеспечил значительный уровень выживаемости: 5 из 5 животных, прошедших лечение внутривенным введением вареспладиба, прожили в течение 24 часов в некомфортных условиях, в то время как 0 из 5 животных контрольной группы прожили не более 7 часов. 4 из 5 животных, прошедших лечение после введения яда (после подкожного введения яда им был подкожно введен вареспладиб), пережили контрольную группу мышей.

#### ПРИМЕР 11: КОМБИНАЦИЯ ПРОТИВОЯДИЯ И ВАРЕСПЛАДИБА

Целью настоящего эксперимента является определение того, каким образом вареспладиб и противоядие, CroFab<sup>®</sup> (поливалентный иммунный FAb-антитоксин против яда семейства ямкоголовых (овечий); BTG Pic.) взаимодействуют для блокирования PLA2 - основного компонента яда. Используя процедуру анализа, описание которой приведено в Примере 2, была определена IC50% отдельно для CroFab<sup>®</sup>, отдельно для вареспладиба и в сочетании вареспладиба с CroFab<sup>®</sup>. Невозможно было предсказать, будут ли две композиции несовместимы или будут оказывать аддитивное действие. Следует отметить, что наблюдался синергетический эффект.

Расчет независимости по Блиссу (Анализ проводят с использованием метода регрессии, разработанного и описанного в работе Cokol et al. (2011) Systematic exploration of synergistic drug pairs. Molecular System Biology. 7: 544). В первом уравнении основным количеством является «бета». Значение бета менее 1 указывает на синергизм, в то время как значение бета более 1 дает основание предполагать антагонизм. Результаты анализа заключаются в следующем: "p-значение" – уровень значимости значения бета. Значения бета (в круглых скобках), указывающие на синергизм между вареспладибом и поливалентным противоядием "CroFab<sup>®</sup>" яда ямкоголовых были следующими: медноголовый щитомордник (A. Contortrix) (0,86), техасский гремучник (C. Atrox) (0,848), ромбический гремучник (C. Adamanteus) (0,855) и гадюкообразная смертельная

змея (*A. antarcticus*) австралийский аспид, относимый к кобрам (0,725). Для каждого из этих четырех примеров р-значение < 0,0001. Значения концентраций IC50 для указанного эксперимента приведены в Таблице 1 ниже.

Таблица 1. Синергетическая активность противоядия (CroFab®) плюс низкомолекулярный ингибитор sPLA2 (Вареспладиб)

	Вареспладиб IC50 (нМ) с CroFab®	Вареспладиб (IC50 нМ)	CroFab® (IC50 мг/мл)
Водяной щитомордник	0.05	0.28	2.86
Медноголовый щитомордник	0.045	0.22	5.51
Мойавский ромбический гремучник	0.82	1.51	16.2
Техасский гремучник	0.07	0.32	4.85
Ромбический гремучник	0.05	0.25	3.96
Гадюкообразная смертельная змея	0.43	0.74	190.6

Вышеуказанная экспериментальная процедура была проведена для отобранных ингибиторов МР, используемых по отдельности и в комбинации только с CroFab® и с вареспладибом (Таблица 2), ниже. В Таблице 2 представлено действие различных ингибиторов в сочетании с противоядием.

В этом примере с CroFab\* была определена концентрация, при которой CroFab\* ингибировал 50% активности МР змеиного яда, и затем добавляли ингибиторы с целью определения того, будет ли обеспечиваться эффективная нейтрализация остальных 50% МР. Приведены данные по комбинациям в тех случаях, когда добавляли вареспладиб (1 мкМ), с целью нейтрализации фоновой активности PLA2. Были выбраны приномастат, маримастат и батимастат исходя из их способности нейтрализовать МР змеиного яда, как определено в экспериментах в Таблице 1. Восточный щитомордник (*A. Blomhoffi*) был включен для определения того, возможно ли будет более эффективно проводиться лечение в условиях, при которых противоядие не показано для конкретного вида змеи, путем добавления одного или более низкомолекулярных ингибиторов.

Таблица 2. Действие различных ингибиторов в сочетании с противоядием. Иллюстрация воздействия различных ингибиторов на металлопротеазу змеиного яда. Короткохвостый подвид восточного щитомордника (*A. blomhoffi brevicaudis*) не является змеей, против яда которой показана терапия с использованием противоядия CroFab®, но добавление приномастата к противоядию или комбинация приномастат + вареспладиб без противоядия иллюстрирует два новых метода, с помощью которых может быть повышена эффективность специфического поливалентного противоядия или параспецифического

противоядия (низкомолекулярный ингибитор + противоядие или низкомолекулярный ингибитор, такой как приномастат + молекула на основе вареспладиба).

Яд	Комбинация ингибиторов	R-квадрат	IC50 для ингибитора (мкМ) CroFab® (мг/мл)
Короткохвостый подвид восточного щитомордника	Только один CroFab®	0.995	0.37
	CroFab® + Приномастат	0.997	0.02
	Приномастат+Вареспладиб	0.993	~ 0.02
Техасский гремучник	Только один CroFab®	0.996	0.18
	CroFab® + Приномастат	0.980	0.02
	Приномастат+Вареспладиб	0.975	0.04
Каскавелла, подвид <i>terrificus</i>	Только один CroFab®	0.998	0.09
	CroFab® + Приномастат	0.929	~ 0.01
	Приномастат+Вареспладиб	0.987	~ 0.01
Мойавский ромбический гремучник	Только один CroFab®	0.998	0.02
	CroFab® + Приномастат	0.638	~ 0.01
	Приномастат+Вареспладиб	0.920	0.002

Были использованы методы, используемые в Примере 2 выше, с целью получения значений концентрации полумаксимального ингибирования (IC50) для вареспладиба, метилвареспладиба (для ингибирования PLA<sub>2</sub>) и для приномастата, маримастата, батимастата, вориностата, иломастата, габексата и нафамостата по различным ядам в соответствии с данными, приведенными в Таблицах 3-8, Фиг. 15-20 и Фиг. 10-14. Результаты указанных экспериментов были табулированы и представлены в таблицах и на рисунках. Результаты подтверждают, что во многих случаях значения концентрации полумаксимального ингибирования (IC50) вареспладиба и метилвареспладиба для ингибирования PLA<sub>2</sub> являются исключительно низкими для широкого спектра змеиных ядов. Это же справедливо в отношении значений концентрации полумаксимального ингибирования (IC50) приномастата, маримастата и батимистата для ингибирования металлопротеиназы. Как указано, вориностат, габексат и нафамостат были несколько менее эффективными, в целом при IC50 микромолекулярном диапазоне. Ранее не было известно, что приномастат обладает таким широким диапазоном подавляющего действия на змеиный яд.

**ПРИМЕР 13. МЕТОД ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СКРИНИНГА. РАЗРАБОТКА ЭФФЕКТИВНЫХ ИНГИБИТОРОВ МР ЯДА ТЕХАССКОГО**

### ГРЕМУЧНИКА (С. АТРОХ) (ПРЕДСТАВЛЯЮЩЕГО ГАДЮК НОВОГО СВЕТА)

Высокопроизводительный скрининг (HTS), в соответствии с описанием в Примере 2, проводили для определения ингибиторов МР яда техасского гремучника (*C. Atrox*), являющихся эффективными в комбинации с вареспладибом или метилвареспладибом, для лечения отравления, вызванного ядом *C. Atrox* и ядом других гадюк Нового света. Результаты приведены в виде процентного (%) снижения активности МР. Прошедшие скрининг вещества включали одобренные Федеральным управлением по лекарственным средствам США лекарственные средства, биоактивные липиды и ингибиторы протеаз библиотеки (YCMD библиотеки: GenPlus, лекарственные средства, одобренные Федеральным управлением по лекарственным средствам США, NCC, Pharmakon 1600, Bioactive lipid and Protease). Нижеприведенные вещества ингибировали, по меньшей мере, 1% активности МР. Следует отметить, что наблюдалось ингибирование МР при использовании габексата. Габексат является одобренным и зарегистрированным для продажи препаратом, обладающим широким диапазоном действия на воспалительные пути и являющимся ингибитором сериновой протеазы. Не предполагалось, что ингибитор SP будет также ингибировать цинковую протеазу, также как и семейство МР. CGS 27023 позволял достичь эффект >95%. Актинонин обладает 92% активностью и может считаться эффективным в экстренных случаях. Примечательно то, что вориносат обладает 42% активностью. Аспартам при 6,31% и другие искусственные подсластители могут быть эффективными в качестве парциальных ингибиторов, служащих для улучшения вкуса вареспладиба и метилвареспладиба, которые имеют слегка горьковатый вкус, а вареспладиб слегка солоноватый вкус при смешивании с бикарбонатом и 10% декстрозой (личное наблюдение).

### ПРИМЕР 14. (МЕТОД ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СКРИНИНГА) РАЗРАБОТКА ИНГИБИТОРОВ МР ПРОТИВ УКУСА ПЕСЧАНОЙ ЭФЫ *E. CARINATUS* (ПРЕДСТАВЛЯЮЩЕЙ ГАДЮК СТАРОГО СВЕТА)

Высокопроизводительный скрининг (HTS), в соответствии с описанием в Примере 2, проводили для определения ингибитора МР яда песчаной эфы (*E. carinatus*), являющимся эффективным в комбинации с вареспладибом или метилвареспладибом, для лечения отравления ядом песчаной эфы (*E. carinatus*) и ядом других гадюк Старого света.

Высокопроизводительный скрининг, включающий одобренные Федеральным управлением по лекарственным средствам США лекарственные

средства, биоактивные липиды и библиотеки ингибиторов протеаз (YCMD библиотеки: GenPlus, Одобренные Федеральным управлением по лекарственным средствам США лекарственные средства, NCC, Pharmakon 1600, Bioactive lipid and Protease): С 67% эффектом. Цефиксим и другие цефалоспорины проявили поразительно активное действие против МР яда песчаной эфы (*E. carinatus*) и являются эффективными для профилактики проявлений отравления змеиным ядом, инфекций и воспаления, в частности, в комбинации с вареспладибом или метилвареспладибом и их сочетаниями с одним или более из следующих средств: с 28% эффектом - неожиданно эффективными оказались норэпинефрин и другие симпатомиметические средства и допаминергические средства, которые, как известно, используют при лечении при болезни Паркинсона, ингибиторы одобрены Федеральным управлением по лекарственным средствам США и легко доступны там, где обитают песчаные эфы (*E. carinatus*). С 28% эффектом - нафамостат и одобренный Федеральным управлением по лекарственным средствам США ингибитор сериновой протеазы проявили неожиданную активность против сериновой протеазы яда тайпана, при этом он имеет структуру аналогичную структуре габексата, который проявил 23% эффект. Аспартам проявил 6% эффект, аналогичный эффекту, наблюдаемому в отношении техасского гремучника (*C. Atrox*), и он может быть включен в составы препаратов для перорального применения на основе вареспладиба для улучшения вкуса (наблюдение изобретателя). Инъекционное введение препарата на основе вареспладиба в сочетании с бупивакаином (>10% эффект) снижает боль при инъекции и парализует гладкие мышцы лимфатических сосудов, тем самым замедляя распространение яда.

#### ПРИМЕР 15. РАЗРАБОТКА С ПОМОЩЬЮ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СКРИНИНГА ИНГИБИТОРОВ PLA2 АСПИДОВЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЯДА АРЛЕКИНОВОГО КОРАЛЛОВОГО АСПИДА

Высокопроизводительный скрининг (HTS), в соответствии описанием, приведенным в Примере 1, проводили для определения ингибиторов PLA2 яда арлекинового кораллового аспида, являющихся эффективными в комбинации с вареспладибом или метилвареспладибом, для лечения отравлений, вызванных ядом аспидовых. (YCMD библиотеки: GenPlus, Одобренные Федеральным управлением по лекарственным средствам США лекарственные средства, NCC, Pharmakon 1600, библиотеки биоактивных липидов и протеазы: Керамид

(Керамин) проявлял 43% эффект (% ингибирование). Было обнаружено, что другие ингибиторы проявили эффективность, а также сурамин и его другие смеси и композиции в комбинации с вареспладибом, метилвареспладибом, В-витаминами, антибиотиками, индоксамом и другими указанными ниже средствами, некоторые из которых также обладают свойствами эффективного ингибирования MP и SP. Сурамин - антипаразитарное действие 21%, лидокаин - 11%, тропикамид >15% и атропин - эффект >20%, могут быть включены в парентеральные, пероральные, назальные и интраокулярные лекарственные формы терапевтических стратегий на основе вареспладиба, в частности, в сочетании с неостигмином, ривастигмином и физостигмином, все из которых проявляют эффект ингибирования sPLA2 яда аспиды в диапазоне от 15% до 20%, при этом достигается значительная полезность и действенность по дополнительной нейтрализации постсинаптических альфа-токсинов змеиного яда, вызывающих слабость.

#### ПРИМЕР 16: ПРИМЕР СОСТАВОВ - ДОЗИРОВКИ И ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ФОРМЫ

##### А. Иллюстративные инъекционные составы

Иллюстративные инъекционные составы настоящего изобретения включают следующее (вспомогательные вещества, проиллюстрированные в заявке на патент США № 20120232031):

1. Водный инъекционный раствор, включающий ингибитор PLA2 в 10% бета-гидроксипропилциклодекстрине (BHPC) в воде;

2. Водный инъекционный раствор, включающий ингибитор PLA2 (1,0 г), этиловый спирт (0,5 мл), аскорбиновую кислоту (0,5 г), хлорбутанол (0,1 мл), гиалуронат натрия (10 г) и хлорид натрия (0,9%) в необходимом количестве до 100 мл;

3. Водный инъекционный раствор, включающий ингибитор PLA2 (2,0 г), поли(молочную кислоту) (PLA) (1,0 г), натрия цитрат (1 мл), раствор Рингера в необходимом количестве до 100 мл;

4. Водный инъекционный раствор, включающий ингибитор PLA2 (1,5 г), сополимеры молочной и гликолевой кислот (PLGA) (1,5 г), бензиловый спирт в необходимом количестве до 1 мл 2% витамина E, кукурузное масло в необходимом количестве до 100 мл; и

5. Водный инъекционный раствор, включающий ингибитор PLA2 (2,5 г), сополимеры молочной и гликолевой кислот (PLGA) (1,5 г), бензиловый спирт в

необходимом количестве до 1 мл 2%, витамин Е, кукурузное масло в необходимом количестве до 100 мл.

#### В. Назальный аэрозольный ингалятор

Иллюстративный назальный аэрозольный ингалятор содержит состав композиции спрей-аэрозоль, включающий:

(а) ингибитор металлопротеиназы, такой как батимастат или ингибитор сериновой протеазы;

(b) ингибитор фосфолипазы A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) например, выбранный из группы, включающей эфипладиб, Lilly 315920 (вареспладиб), LY 311727, BMS 181162, YM 26567, вариабалин, SB 203347, рекомбинантную ацетилгидролазу фактора активации тромбоцитов (PAF-AH), дарапладиб, в том числе и композиции, включающие, по меньшей мере, один фосфолипид, выбранный из группы, включающей фосфатидилэтаноламин (PE), фосфатидилсерин (PS), фосфатидилхолин (PC), фосфатидилхинозитол (PI) и фосфатидилглицерол (PG) и их смеси, конъюгированные, по меньшей мере, с одним соединением, выбранным из группы, включающей карбоксиметилцеллюлозу (CMPE, CMC-Peog CME), гиалуроновую кислоту (HYPE, HyPE, и Hyal-PE), гепарин (HEPPE, HePE, HePPE, Нера-PE), хондроитин сульфат А (CSAPE, CsaPE, CsAPE), Полигелин (гемацелл) (HemPE, HEMPE), гидроксиэтилкрахмал (HesPE, HESPE) и их смеси; и

(d) фармацевтически приемлемое диспергирующее вещество;

при котором назальный аэрозольный ингалятор распыляет дозированное количество аэрозольного состава путем формирования спрея, содержащего дозу ингибитора металлопротеиназы или ингибитора сериновой протеазы и ингибитора фосфолипазы A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>), являющуюся эффективной для лечения отравлений, вызванных укусами ядовитых животных.

Одна иллюстративная доза ингибитора металлопротеиназы и ингибитора фосфолипазы A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>), являющаяся эффективной для лечения отравлений, вызванных укусами ядовитых животных, включает приблизительно 0,01, 0,1, 1, 10, 100 и 1000 мг ингибитора металлопротеиназы и ингибитора фосфолипазы A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>), или в количестве в пределах от приблизительно 0,001, 0,01, 0,1, 1, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 до приблизительно 100 г каждого ингибитора металлопротеиназы и ингибитора PLA<sub>2</sub>, диспергированных, растворенных или разбавленных в фармацевтически приемлемом носителе (вспомогательном веществе)) для достижения концентрации ингибитора 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 230, 140,

150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 370, 380, 390, 400, 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490, 500, 525, 550, 575, 600, 625, 650, 675, 700, 725 до приблизительно 750 мкМ или максимально до 800, 850, 900, 950 или 1000 мкМ.

#### ПРИМЕР 17: РЕАКЦИЯ НА ЗМЕИНЫЙ УКУС

Субъект, который был однозначно укушен змеей или с подозрением на змеиный укус, который не проявляет или проявляет незначительные, если таковые имеются, в отдельных случаях, первые признаки слабости в виде ретракции верхнего века или другого бульбарного паралича, боли в месте укуса или нарушения свертываемости крови, и при этом ядовитый или неядовитый тип змеи известен или неизвестен. Находящийся рядом человек, врач-терапевт или сам пациент вводит интраназально, перорально или путем инъекции, аэрозольного распыления или при сочетании таких путей доставки, включая непосредственное введение пасты, содержащей ингибитор, терапевтически эффективное количество композиции, включающей, по меньшей мере, один ингибитор PLA2, который предпочтительно является вареспладибом и (или) метилвареспладибом, и опционально, по меньшей мере, один дополнительный активный ингредиент, выбранный из группы, включающей ингибитор металлопротеиназы, ингибитор сериновой протеазы, ингибитор ацетилхолинэстеразы агонист nAChR, (например, никотин или котинин) (вводимый предпочтительно путем инъекции), антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR) (например, гликопирролат или атропин в соответствующем соотношении с отобранным ингибитором ацетилхолинэстеразы), антагонист NMDA рецептора (например, дизоцилпин (МК-801)), ингибитор фактора распространения и опционально, лидокаин и (или) бупивакаин. У субъекта с течением времени проявляется клиническое улучшение в виде повышенной функции мышц (определенное субъективным улучшением активности, мобильности и легкости дыхания, или путем количественной оценки, с использованием таких методов, как электромиография, и других стандартизованных показателей стабильности состояния здоровья. Если состояние пациента ухудшается, то дополнительные дозы вышеупомянутых терапевтических средств вводят через соответствующие интервалы времени до тех пор, пока пациент не поправится, либо не потребуются наиболее распространенные методы реанимации. В отличие от известных методов преимущество метода настоящего изобретения заключается в том, что

вышеупомянутая схема лечения может быть проведена лицом с минимальным медицинским образованием или без медицинского образования (например, субъектом, не имеющим медицинского образования, который должен самостоятельно ввести препарат или принять лекарство в полевых условиях), в том числе самими отравленными ядом пациентами или субъектами.

#### ССЫЛОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ В АЛФАВИТНОМ ПОРЯДКЕ

2. Abhijit Dey and Jitendra Nath De, 2012. *Phytopharmacology of Antiophidian Botanicals: A Review*," (Фитофармакология противозмеиных растительных препаратов: Обзор,) *International Journal of Pharmacology*, 8: 62-79

3. Alirol et al., 2010, "Snakebite in South Asia: A Review" ("Отравления при змеиных укусах змеи в Южной Азии: Обзор") *PLoS Negl Trop Dis*. 4(1): e603

4. Anil, A., S. Singh, A. Bhalla, N. Sharma, R. Agarwal, and I. D. Simpson. 2010, Role of neostigmine and polyvalent antivenom in Indian common krait (*Bungarus caeruleus*) bite. (Роль неостигмина и поливалентного противоядия при укусе индийского крайта (*Bungarus caeruleus*)). *J. Infect. Prev.* 3:83-87.

5. Arora, P., S. Sharma, and S. Garg. 2002. Permeability issues in nasal drug delivery. (Проблемы проницаемости при назальной доставке лекарства.) *Drug Discov. Today* 7:967-975.

6. Brogгинi, M., C. Benvenuti, V. Botta, A. Fossati, and . Valenti. 1991. Bioavailability of intranasal neostigmine: comparison with intravenous route. (Биодоступность интраназального неостигмина: сравнение с внутривенным путем доставки). *Методы Find. Exp. Clin. Pharmacol.* 13:193-198.

7. Casewell, et al., "Medically important differences in snake venom composition are dictated by distinct postgenomic mechanisms" ("Важные отличия с медицинской точки зрения состава змеиного яда обусловлены четкими постгеномными механизмами"), *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111.25 (2014): 9205-9210

8. Chipaux, J. P. 2008. Estimating the global burden of snakebite can help to improve management. (Оценка глобального бремени укуса змей может помочь улучшить лечение от укусов). *PLoS Med.* 5:e221.

Cokol et al. (2011) Systematic exploration of synergistic drug pairs. *Molecular System Biology*. (Систематическое исследование пар лекарственных средств синергетического действия. *Molecular System Biology*). 7: 544)

Costantino et al., 2008, "Intranasal administration of acetylcholinesterase inhibitors," ("Интраназальное введение ингибиторов ацетилхолинэстеразы"), *BMC Neuroscience* 2008, 9(Suppl 3):S6;

Currie et al., 1988, "Resolution of neurotoxicity with anticholinesterase therapy in death-adder envenomation". («Снижение нейротоксичности с помощью ингибитора антихолинэстеразы при отравлении ядом гадюкообразной смертельной змеи»). *Med. J. Aust.* 148:522-525)

Dennis, Edward A., et al. "Phospholipase A2 enzymes: physical structure, biological function, disease implication, chemical inhibition, and therapeutic intervention". ("Ферменты фосфолипазы A2: физическая структура, биологические функции, осложнения болезни, химическое ингибирование и терапевтическое вмешательство"). *Chemical reviews* 111.10 (2011): 6130-6185

Di Costanzo, A., A. Toriello, C. Mannara, C. Benvenuti, and G. Tedeschi. 1993. Intranasal versus intravenous neostigmine in myasthenia gravis: assessment by computer analysis of saccadic eye movements. (Сравнение интраназального и внутривенного введения неостигмина при тяжелой миастении: оценка путем проведения компьютерного анализа саккадированных движений глаз). *Clin. Neuropharmacol.* 16:511-517.

Dooley, J. M., K. J. Goulden, J. G. Gatién, E. J. Gibson, and B. S. Brown. 1986. Topical therapy for oropharyngeal symptoms of myasthenia gravis. (Местная терапия орофарингеальных симптомов тяжелой миастении). *Ann. Neurol.* 19:192-194

Fossati, A., M. G. Vimercati, G. L. Bandi, and A. Formenti. 1990, Pharmacokinetic study of neostigmine after intranasal and intravenous administration in the guinea pig. (Фармакокинетическое исследование неостигмина после интраназального и внутривенного введения морским свинкам). *Drugs Exp. Clin. Res.* 16:575-579.

Girish, K. S., and K. Kemparaju. 2011. Overlooked issues of snakebite management: time for strategic approach. (Недооцененные проблемы, связанные с лечением укусов змей: время для разработки стратегического подхода). *Curr. Top. Med. Chem.* 11:2494-2508.

Gore et al., 1998, "Comparative biomembrane permeation of tacrine using Yucatan minipigs and domestic pigs as the animal model" ("Сравнительная проницаемость такрина через биомембраны с использованием юкатанских мини-свиней и домашних свиней в качестве животной модели") *J Pharm Sci* 87:441-447;

Kasturiratne et al., 2008, "The global burden of snakebite: a literature analysis

and modeling based on regional estimates of envenoming and deaths," ("Глобальное бремя змеиных укусов: анализ литературы и моделирование на основе региональных оценок отравлений и смертей") PLoS Med. 5:e218.

LS Guimaraes, Cesar, et al. "Biodiversity as a Source of Bioactive Compounds Against Snakebites." ("Биоразнообразие как источник биоактивных соединений против змеиных укусов "). Current medicinal chemistry 21.2S (2014): 2952-2979.

Magrioti, Victoria, and George Kokotos. "Phospholipase A2 inhibitors as potential therapeutic agents for the treatment of inflammatory diseases." ("Ингибиторы фосфолипазы A2 как возможные терапевтические средства для лечения воспалительных заболеваний"). Expert opinion on therapeutic patents 20,1 (2010): 1-18),

Mebis, D. 2002. Venomous and Poisonous Animals. (Ядовитые и вызывающие отравления животные). CRC Press, Boca Raton, Florida. 339 pages.

Marcussi, Silvana, et al. "Snake venom phospholipase A2 inhibitors: medicinal chemistry and therapeutic potential." ("Ингибиторы фосфолипазы A2 змеиного яда: медицинская химия и возможности применения в терапии"). Current Topics in Medicinal Chemistry 7.8 (2007): 743-756).

Medecins Sans Frontieres: Snakebite how a public health emergency went under the radar. (Змеиный укус; как чрезвычайная ситуация в области здравоохранения остается без внимания). <http://www.doctorswithoutborders.org/article/snakebite-how-public-health-emergency-went-under-radar>

Ray, et al., "Phospholipase A<sub>2</sub> in Airway Disease: Target for Drug Discovery," ("Фосфолипаза A<sub>2</sub> при заболевании дыхательных путей: Цель по разработке новых лекарственных средств"), Journal of Drug Discovery and Therapeutics 1 (8) 2013, 28-40

Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19<sup>th</sup> Ed., incorporated herein by reference, at Chapter 95 "Aerosols", and Chapter 41, "Drug Absorption, Action and Disposition." (The Science and Practice of Pharmacy, 19<sup>th</sup> Ed., incorporated herein by reference, at Chapter 95 "Аэрозоли", and Chapter 41, "Абсорбция лекарственного средства, действие и фармакокинетика").

Ricciardi, R., B. Rossi, M. Nicora, A. Sghirlanzoni, and A. Muratorio. 1991. Acute treatment of myasthenia gravis with intranasal neostigmine: clinical and electromyographic evaluation. (Неотложное лечение тяжелой миастении с помощью интраназального неостигмина: клинико-электромиографическая оценка). J. Neurol.

Neurosurg. Psychiatry 54:1061-1062.

Sghirlanzoni et al., "Efficacy of intranasal administration of neostigmine in myasthenic patients." ("Эффективность интраназального введения неостигмина у пациентов с миастенией") J Neurol. 239:165-9 (1992).

Sharma, S. K., P. Bovier, N. Jha, E. Alirol, L. Loutan, and F. Chappuis. 2013. Effectiveness of Rapid Transport of Victims and Community Health Education on Snakebite Fatalities in Rural Nepal. (Эффективность быстрой доставки жертв змеиных укусов и медико-санитарное просвещение общин по вопросам летального исхода при змеиных укусах в сельских районах Непала). Am. J. Trop. Med. Hyg. 00,

Sghirlanzoni, A., D. Pareyson, C. Benvenuti, G. Cei, V. Cosi, M. Lombardi, et al. 1992.

Efficacy of intranasal administration of neostigmine in myasthenic patients. (Эффективность интраназального введения неостигмина у пациентов с миастенией). J. Neurol. 239:165-169.

Sui Y, Qu Z, (2007), Alternative statistical parameter for high-throughput screening assay quality assessment, (Альтернативный статистический параметр для качественной оценки высокопроизводительного скринингового анализа), J Biomol Screen, 12, 229-34.

"Varespladib" ("Вареспладиб"), American Journal of Cardiovascular Drugs. 11 (2): 137-43. 2011.

Villaltaomero et al. ACS Med Chem Lett 2012, 3, 540-543

Warrell et al., 1983, "Severe neurotoxic envenoming by the Malayan krait *Bungarus candidus* (Linnaeus): response to antivenom and anticholinesterase.," ("Тяжелое нейротоксическое отравление при укусе малайского крайта (*Bungarus candidus*) (Linnaeus): реакция на противоядие и антихолинэстеразу"), Br Med J (Clin Res Ed) 286(6366):678-80;

Warrell, D. A., S. Looareesuwan, N. J. White, R. D. Theakston, M. J. Warrell, W. Kosakarn, et al. 1983. Severe neurotoxic envenoming by the Malayan krait *Bungarus candidus* (Linnaeus): response to antivenom and anticholinesterase. (Тяжелое нейротоксическое отравление при укусе малайского крайта (*Bungarus candidus*) (Linnaeus): Реакция на противоядие и антихолинэстеразу). BMJ 286:678-680,

Warrell, D. A. 2012. Snakebite: a neglected problem in twenty-first century India (Змеиные укусы: Игнорируемая проблема в Индии двадцать первого века). Natl

Med. J. India 24:321-324.

ВОЗ. 2010, Guidelines for the Prevention and Clinical Management of Snakebite in Africa (Руководство по профилактике и оказанию клинической медицинской помощи при змеиных укусах в Африке). World Health Organization, Brazzaville, Congo, Pp. 87-88.

Watt, G., R. D. Theakston, C. G. Hayes, M. L. Yambao, R. Sangalang, C. P. Ranoa, et al. 1986. Положительная реакция на эдрофоний у пациентов с нейротоксическим отравлением при укусе филиппинской кобры (*Naja naja philippinensis*). Плацебо-контролируемое исследование. N. Engl. J. Med. 315:1444-1448

Watt et al., Positive response to edrophonium in patients with neurotoxic envenoming by cobras (*Naja naja philippinensis*). A placebo-controlled study. (Положительная реакция на эдрофоний у пациентов с нейротоксическим отравлением при укусе филиппинской кобры (*Naja naja philippinensis*). Плацебо-контролируемое исследование"). N Engl J Med. 1986 315(23):1444-8

(J-H Zhang, TDY Chung, KR Oldenburg, (1999), A simple statistical parameter for use in evaluation and validation of high throughput screening assays, (Простой статистический параметр для использования при оценке и валидации высокопроизводительных скрининговых анализов), J Biomol. Screen, 4, 67-73.).

---

**ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Метод лечения субъекта, страдающего от отравлений, вызванных укусами ядовитых животных, при этом метод включает введение субъекту композиции, содержащей терапевтически эффективное количество, по меньшей мере, одного ингибитора PLA2.

2. Метод по п. 1, в котором отравление ядом вызвано укусом змеи, рептилии, артропода, амфибии, моллюска или стрекающего кишечнорастворимого (также называемые "кишечнорастворимые").

3. Метод по п. 1 или п. 2, дополнительно включающий введение терапевтически эффективного количества, по меньшей мере, одного вещества, выбранного из группы, включающей ингибитор металлопротеиназы, ингибитор сериновой протеазы или их смесь, при котором ингибитор PLA2 и вещество (-а) вводят субъекту по отдельности или в виде смеси.

4. Метод по любому из пп. 1-3, дополнительно включающий введение терапевтически эффективного количества противоядия.

5. Метод по любому из пп. 1-4, дополнительно включающий введение терапевтически эффективного количества, по меньшей мере, одного вещества, выбранного из группы, включающей ингибитор фактора распространения, антагонист NMDA рецептора, ингибитор ацетилхолинэстеразы, ингибитор L-аминоксидазы, ингибитор гиалуронидазы, при котором ингибитор PLA2 и вещество (-а) вводят по отдельности или в смеси.

6. Метод по любому из пп. 1-5, в котором ингибитор PLA2 представляет собой вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам, их фармацевтически приемлемую соль или их смесь.

7. Метод по любому из пп. 1-4, при котором ингибитор металлопротеиназы, ингибитор или ингибиторы PLA2 и (или) ингибитор сериновой протеазы вводят субъекту путем инъекции, интраназально, интраокулярно, перорально или путем ингаляции, и субъекту опционально совместно или последовательно вводят ингибитор ацетилхолинэстеразы или комбинацию AChEI/mAChR.

8. Метод по п. 6, при котором вареспладиб вводят субъекту совместно с ингибитором ацетилхолинэстеразы или комбинацию AChEI/mAChR.

9. Метод по п. 7, при котором ингибитор PLA2 представляет собой вареспладиб, который вводят субъекту совместно с ингибитором

ацетилхолинэстеразы или комбинацию AChEI/AChR.

10. Метод по п. 1, при котором ингибитор PLA2 представляет собой вареспладиб, и вареспладиб вводят субъекту совместно с, по меньшей мере, одним веществом, выбранным из группы, включающей приномастат, маримастат, нафамостат, цефиксим, доксициклин или батимастат и ингибитор ацетилхолинэстеразы или комбинацию ингибитора AChEI/mAChR.

11. Метод по п. 1, при котором ингибитор PLA2 представляет собой вареспладиб, и вареспладиб вводят субъекту совместно с неостигмином, дополнительно в комбинации с ингибитором mAChR.

12. Метод по п. 11, при котором вареспладиб, неостигмин и ингибитор mAChR вводят субъекту совместно в виде отдельных активных веществ.

13. Метод по п. 3, при котором ингибитор металлопротеиназы, ингибитор PLA2 и (или) ингибитор сериновой протеазы вводят субъекту путем инъекции, интраназально, интраокулярно, перорально, топикально или путем ингаляции.

14. Метод по п. 13, при котором инъекцию делают внутримышечно.

15. Метод по любому из пп. 3, 7 или 13, при котором ингибитор металлопротеиназы выбран из группы, содержащей приномастат, ВВ-94 (маримастат), ВВ-2516 (батимастат), нафамостат, иломастат, доксициклин, таномастат, вареспладиб, метилвареспладиб и их смеси, по отдельности или в сочетании с ТАPI-2, ТАPI-1, EGTA, EDTA, фосфорамидон, ТАPI-0, Лютеолин, алендронат, таномастат, ингибитор 1 коллагеназы 1, Ro-32-3555, лактобионовую кислоту, о-фенантролин, экотин, 4-эпи-хлотетрациклин, тетрациклин, доксициклин или родственный антибиотик с дополнительным лечебным противомикробным эффектом, n-дансил-d-фенилаланин, 20[R]гинсенозидRh2, про-лей-гли-гидроксимат, gm6001, актинонин, agr-100, Ингибитор I MMP9, Ингибитор I MMP2, SB-3CT, Тиорфан (DL), 4-эпи-демеклоциклин, метакрилат цинка, фуналенон, полученный естественным способом или синтетический коротко-пептидный ингибитор металлопротеиназы змеиного яда и их фармацевтически приемлемые соли, энантиомеры, диастереомеры, сольваты и полиморфы и смеси.

16. Метод по любому из пп. 3, 7, 13 или 15, при котором ингибитор металлопротеиназы представляет собой приномастат или маримастат, вводимый субъекту перорально, путем инъекции или интраназально при концентрации в пределах от приблизительно 1 до приблизительно 500 мкМ; и (или) (2) в количестве в пределах от приблизительно 0,0001 до приблизительно 100 г.

17. Метод по любому из пп. 1-5, 7 и пп. 13-16, при котором ингибитор PLA2 выбран из группы, содержащей вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам, N,N-диметилкарбамоилметил,4-4-гуанидинобензоилокси-фенилацетат (камостат), Сурамин, этил-р[6-гуанидиногексаноилокси]-бензоат метансульфонат (габексат), APLAI (ингибитор PLA2 *Azadirachta indica*), BMS-181162, LY311727, ARL-67974, FPL67047, SB-203347, Ro-23-9358, YM-26734, YM 26567, IS-741, MJ33, флуниксин, Эфипладиб, Way 196025, Экопиадиб, Гирипладиб, Варабилин, SB 203347, PAF-AN, дарапладиб, фосфатидилэтанолламин (PE), фосфатидилсерин (PS), фосфатидилхолин (PC), фосфатидилхинозитол (PI), фосфатидилглицерол (PG), их смеси и их фармацевтически приемлемые соли или альтернативные соли.

18. Метод по п. 17, при котором ингибитор PLA2 связан (конъюгирован), по меньшей мере, с одним соединением, выбранным из группы, включающей карбоксиметилцеллюлозу (CMPE, CMC-Peog CME), гиалуроновую кислоту (HYPE, HyPE, and Hyal-PE), гепарин (HEPPE, HepPE, HePPE, Hepar-PE), хондроитин сульфат А (CSAPE, CsaPE, CsAPE), Полигелин (гемацелл) (HemPE, HEMPE), гидроксиэтилкрахмал (HesPE, HESPE) (предпочтительно фосфатидилэтанолламин, связанный гиалуроновой кислотой (HyPE)) и их смеси, фармацевтически приемлемые соли, энантиомеры, диастереомеры, сольваты и полиморфы.

19. Метод по п. 6 и пп. 8-12, при котором вареспладиб вводят путем инъекции или метилвареспладиб вводят перорально или интраназально субъекту (1) при концентрации в пределах приблизительно от 0,1, 1, 10, 100, 110, 120, 230, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 370, 380, 390, 400, 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490, 500 до приблизительно 1250, от 750 до приблизительно 1250, от приблизительно 801 до приблизительно 1000 мкМ; и (или) (2) в количестве в пределах от приблизительно 0,0001, 0,001, 0,01, 0,1, 1, 10, 100 до 1000 мг, или в количестве от приблизительно 1, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 до приблизительно 100 г.

20. Метод по любому из пп. 3, 7 или 13, при котором ингибитор сериновой протеазы выбран из группы, содержащей габексат, камостат, нафамостат, апротинин, лейпептин, антитромбин (АТ), альфа-1 антитрипсин (а антитрипсин (А1АТ)), АЕBSF (4-(2-аминоэтил) бензолсульфонил фторид гидрохлорид), PMSF

(фенилметансульфонилфторид или фенилметилсульфонил фторид), ингибитор протеина С (PCI, SERPINA5), протеин Z-зависимый ингибитор протеазы, метоксиарахидонил фторфосфонат (MAFP), миелоидный и эритроидный ядерный терминальный стадиеспецифический белок (MENT), ингибитор-1 активатора плазминогена (PAI-1), ингибитор-2 активатора плазминогена (плацентарный PAI), протеолитический нексин-1 (PN-1), коллигин антитромбина III, фосфатидилэтаноламин-связывающий белок, нейросерпин,  $\alpha_2$ -антиплазмин, ингибитор сериновой протеазы 3, муриноглобин I, полученный естественным способом или синтетический коротко-пептидный ингибитор сериновой протеазы змеиного яда, рибозимы и низкомолекулярные агенты, снижающие транскрипцию или трансляцию полинуклеотида сериновой протеазы, как описано в заявке на патент США №. 20090318534, ингибиторы сериновой протеазы, описанные в заявке на патент США № 20140341881, или на которые дается ссылка, и их смеси, фармацевтически приемлемые соли, энантиомеры, диастереомеры, сольваты и полиморфы.

21. Метод лечения субъекта от проявлений отравлений, вызванных укусами ядовитых животных, при этом метод предусматривает в основном введение субъекту не более двух активных ингредиентов, выбранных из группы, включающей ингибитор металлопротеиназы, ингибитор PLA2, ингибитор сериновой протеазы, ингибитор фактора распространения и антагонист NMDA рецептора, при котором активный (-е) ингредиент (-ы) может (могут) быть введен (-ы) в смеси или по отдельности, и лечение субъекта опционально проводят с использованием ингибитора ацетилхолинэстеразы или комбинации ингибиторов (комбинация антагонистов AChEI/mAChR).

22. Метод по п. 21, при котором композиция в основном состоит из ингибитора металлопротеиназы и ингибитора PLA2, которые вводят путем инъекции, интраназально, интраокулярно, перорально, топикально или путем ингаляции.

23. Метод по п. 22, при котором инъекцию делают внутримышечно.

24. Метод по п. 21 или п. 22, при котором:

(а) ингибитор металлопротеиназы выбран из группы, содержащей приномастат, воринонат, ВВ-94 (маримастат), ВВ-2516 (батимастат), нафамостат, иломастат, доксициклин, цефиксим или иной цефалоспорин, таномастат или вареспладиб или только один метил вареспладиб против змеиных укусов, при

этом вареспладиб или метилвареспладиб являются эффективными ингибиторами МР (например, яда гадюки Рассела), ТАPI-2, ТАPI-1, EGTA, EDTA, фосфорамадон, ТАPI-0, Лютеолин, алендронат, таномастат, ингибитор 1 коллагеназы 1, Ro-32-3555, лактобионовую кислоту, о-фенантролин, экотин, 4-эпи-хлотетрациклин, тетрациклин, доксициклин или родственный антибиотик с дополнительным лечебным противомикробным эффектом, n-дансил-d-фенилаланин, 20[R]гинсенозидRh2, про-лей-гли-гидроксимат, gm6001, актинонин, agr-100, ингибитор I MMP9, ингибитор I MMP2, SB-3CT, Тиорфан (DL), 4-эпидемеклоциклин, метакрилат цинка, фуналенон, полученный естественным способом или синтетический коротко-пептидный ингибитор металлопротеиназы змеиного яда и их фармацевтически приемлемые соли, энантиомеры, диастереомеры, сольваты и полиморфы и смеси; и

(b) ингибитор PLA2 выбран из группы, содержащей вареспладиб (Lilly 315920), метилированный вареспладиб (пролекарство вареспладиба), N,N-диметилкарбамоилметил,4-4-гуанидинобензоилокси-фенилацетат («Камостат», камостат), этил-p[6-гаунидиногексаноилокси]-бензоат метансульфонат (габексат), индоксам, метилиндоксам, APLAI (ингибитор PLA2 *Azadirochta indica*), BMS-181162, LY311727, ARL-67974, FPL67047, SB-203347, Ro-23-9358, YM-26734, YM 26567, IS-741, J33, флуниксин, Эфипладиб, Way 196025, Экопладиб, Гирипладиб, Варабилин, SB 203347, PAF-AH, дарапладиб, фосфатидилэтаноламин (PE), фосфатидилсерин (PS), фосфатидилхолин (PC), фосфатидилхинозитол (PI), и фосфатидилглицерол (PG) и их смеси.

25. Метод по п. 24, при котором ингибитор PLA2 выбран из группы, содержащей фосфатидилэтаноламин (PE), фосфатидилсерин (PS), фосфатидилхолин (PC), фосфатидилхинозитол (PI), и фосфатидилглицерол (PG) и их смеси, конъюгированные, по меньшей мере, с одним соединением, выбранным из группы, включающей карбоксиметилцеллюлозу (CMPE, CMC-Peog CME), гиалуроновую кислоту (HYPE, HyPE, and Hyal-PE), гепарин (HEPPE, HepPE, HePPE, Hера-PE), хондроитин сульфат А (CSAPE, CsaPE, CsAPE), Полигелин (гемацелл) (HemPE, HEMPE), гидроксиэтилкрахмал (HesPE, HESPE) (предпочтительно фосфатидил этаноламин, связанный гиалуроновой кислотой (HyPE)) и их смеси, фармацевтически приемлемые соли, энантиомеры, диастереомеры, сольваты и полиморфы.

26. Метод по любому из пп. 21, 22 или 24, при котором ингибитор

металлопротеиназы и ингибитор PLA2 вводят субъекту (1) внутривенно, внутримышечно или перорально при концентрации в пределах от приблизительно 0,1 до приблизительно 1200 мкМ; и (или) (2) в количестве в пределах от приблизительно 0,001 до 1000 мг, или в количестве в пределах от приблизительно 1 до приблизительно 100 г, и, при котором концентрация ингибитора металлопротеиназы и ингибитора PLA2 может быть одинаковой или различной.

27. Метод по п. 21 или п. 22, при котором ингибитор металлопротеиназы представляет собой приномастат, вориностат, ВВ-94 (маримастат), ВВ-2516 (батимастат), в некоторых случаях нафамостат, иломастат, доксициклин, таномастат, и ингибитор PLA2 выбран из группы, содержащей вареспладиб, в некоторых случаях N,N-диметилкарбамоилметил,4-4-гуанидинобензоилокси-фенилацетат (камостат), и в некоторых случаях этил-р[6-гуанидиногексаноилокси-бензоат метансульфонат (габексат).

28. Метод по п. 3, при котором ингибитор металлопротеиназы, ингибитор PLA2 и (или) ингибитор сериновой протеазы вводят субъекту топикально или трансдермально в месте укуса с использованием дополнительного давящего иммобилизирующего устройства или без него.

29. Метод по п. 5, при котором ингибитор металлопротеиназы, ингибитор PLA2, ингибитор сериновой протеазы, ингибитор ацетилхолинэстеразы, и (или) антибиотик, ингибитор фактора распространения и антагонист NMDA рецептора вводят субъекту в форме пасты или геля.

30. Метод по любому из пп. 1-29, при котором субъект страдает от отравлений, вызванных укусами ядовитых животных, предположительно вызванных укусом змеи.

31. Метод по любому из пп. 1-29, при котором отравление субъекта змеиным ядом вызвано укусом змеи.

32. Фармацевтическая композиция, являющаяся эффективной при лечении отравлений, вызванных укусами ядовитых животных, включающая в основном терапевтически эффективное количество, по меньшей мере, двух активных ингредиентов, выбранных из группы, включающей ингибитор металлопротеиназы, ингибитор PLA2, ингибитор сериновой протеазы, ингибитор фактора распространения и антагонист NMDA рецептора и, опционально, один или более фармацевтически приемлемых носителей, добавок и (или) вспомогательных веществ.

33. Фармацевтическая композиция по п. 32, в которой композицию вводят парентерально, интраназально, интраокулярно, перорально, топикально или путем ингаляции.

34. Композиция по п. 32 в парентеральной, топикальной или пероральной лекарственной форме, в которой ингибитор металлопротеиназы представляет собой приномастат, вориностат, ВВ-94 (маримастат), ВВ-2516 (батимастат), нафамостат, иломастат, доксициклин, цефалоспорин, таномастат или метилвареспладиб, и ингибитор PLA2 представляет собой вареспладиб.

35. Ингалятор для распыления назального спрея, содержащий состав аэрозольного спрея, включающего в основном

(a) терапевтически эффективное количество, по меньшей мере, одного активного ингредиента, выбранного из группы, включающей ингибитор металлопротеиназы, ингибитор PLA2, ингибитор сериновой протеазы, ингибитор фактора распространения, антагонист NMDA рецептора, ингибитор L-аминоксидазы, ингибитор гиалуронидазы; и

(b) фармацевтически приемлемое диспергирующее вещество;

при этом устройство дозировано подает диспергированное количество аэрозольного состава путем формирования спрея, содержащего дозу, по меньшей мере, одного активного ингредиента, являющегося эффективным для лечения отравлений, вызванных укусами ядовитых животных.

36. Система, включающая:

(a) устройство, выбранное из группы, включающей устройство для интраназальной доставки лекарственного средства и ручное или автоинъекционное устройство; и

(b) фармацевтическую композицию, загруженную в устройство, являющуюся эффективной при лечении отравлений, вызванных укусами ядовитых животных, и содержащую терапевтически эффективное количество, по меньшей мере, одного активного ингредиента, выбранного из группы, включающей ингибитор металлопротеиназы, ингибитор PLA2, ингибитор сериновой протеазы, ингибитор фактора распространения и антагонист NMDA рецептора, ингибитор L-аминоксидазы, ингибитор гиалуронидазы, и, опционально, одно или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ, в которой активный ингредиент предпочтительно включает ингибитор PLA2, который представляет собой вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам, их

фармацевтически приемлемую соль или их смесь.

37. Система по п. 36, в которой ингибитор металлопротеиназы представляет собой приномастат, ВВ-94 (маримастат), ВВ-2516 (батимастат), нафамостат, иломастат, цефалоспорин, доксициклин, таномастат или метилвареспладиб или их смесь, и ингибитор PLA2 представляет собой вареспладиб.

38. Комплект, включающий:

(a) устройство, выбранное из группы, включающей устройство для интраназальной доставки лекарственного средства и ручное или автоинъекционное устройство;

(b) фармацевтическую композицию, загружаемую в устройство, являющуюся эффективной при лечении отравлений, вызванных укусами ядовитых животных, и содержащую терапевтически эффективное количество, по меньшей мере, одного активного ингредиента, выбранного из группы, включающей ингибитор металлопротеиназы, ингибитор PLA2, ингибитор сериновой протеазы, ингибитор фактора распространения и антагонист NMDA рецептора, ингибитор L-аминоксидазы, ингибитор гиалуронидазы, и, опционально одно или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ; и

(c) опционально, инструкции по введению фармацевтической композиции с использованием устройства.

39. Комплект по п. 38, в котором ингибитор металлопротеиназы представляет собой приномастат, ВВ-94 (маримастат), ВВ-2516 (батимастат), нафамостат, иломастат, цефалоспорин, доксициклин, таномастат или метилвареспладиб, и ингибитор PLA2 представляет собой вареспладиб.

40. Метод лечения субъекта, страдающего от отравлений, вызванных укусами змей, при этом метод в основном включает этап введения субъекту терапевтически эффективного количества:

(a) по меньшей мере, двух активных ингредиентов, выбранных из группы, включающей ингибитор металлопротеиназы, ингибитор PLA2, ингибитор сериновой протеазы, ингибитор фактора распространения и антагонист NMDA рецептора;

(b) ингибитора ацетилхолинэстеразы; и

(c) опционально, одного или более дополнительных терапевтических средств, выбранных из группы, включающей противоядие, ингибитор

ацетилхолинэстеразы (вводимый предпочтительно путем инъекции), антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), ингибитор L-аминоксидазы, ингибитор гиалуронидазы и антибиотик;

при котором два активных ингредиента и опциональные дополнительные терапевтические средства вводят путем инъекции, и ингибитор ацетилхолинэстеразы вводят путем инъекции, перорально или топикально.

41. Метод по п. 40, при котором ингибитор PLA2 представляет собой вареспладиб, который вводят субъекту совместно с ингибитором ацетилхолинэстеразы (комбинация антагонистов AChEI/mAChR).

42. Метод по п. 41, при котором вареспладиб и ингибитор ацетилхолинэстеразы вводят субъекту последовательно.

43. Метод по п. 41, при котором ингибитор PLA2 представляет собой вареспладиб, который вводят субъекту совместно с приномастатом, ВВ-94 (маримастатом), ВВ-2516 (батимастатом), нафамостатом, иломастатом, цефалоспорином доксициклином, таномастатом или вареспладибом или метилвареспладибом и ингибитором ацетилхолинэстеразы (AChEI).

44. Метод по п. 42 или п. 43, при котором вареспладиб и неостигмин вводят субъекту совместно.

45. Устойчивая при хранении, инъеклируемая, аэрозолируемая, диспергируемая или перорально доступная фармацевтическая композиция, включающая фармацевтически приемлемые носитель, добавку и (или) вспомогательное вещество и терапевтически эффективное количество либо:

(a) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам, их фармацевтически приемлемую соль и опционально, по меньшей мере, одно дополнительное терапевтическое средство, выбранное из группы, включающей ингибитор металлопротеиназы, ингибитор сериновой протеазы, ингибитор ацетилхолинэстеразы, антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), ингибитор фактора распространения, антагонист NMDA рецептора, противоядие и антибиотик; или

(b) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемую соль, и, по меньшей мере, одного ингибитора металлопротеиназы, и опционально одного или более дополнительных

терапевтических средств, выбранных из группы, включающей ингибитор сериновой протеазы, ингибитор ацетилхолинэстеразы (вводимый предпочтительно путем инъекции), антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), ингибитор фактора распространения, антагонист NMDA рецептора, противоядие и антибиотик; или

(с) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемую соль и, по меньшей мере, одного ингибитора сериновой протеазы и, опционально, одного или более дополнительных терапевтических средств, выбранных из группы, включающей ингибитор металлопротеиназы, ингибитор ацетилхолинэстеразы (вводимый предпочтительно путем инъекции), антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), ингибитор фактора распространения, антагонист NMDA рецептора, противоядие и антибиотик; или

(d) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемую соль и, по меньшей мере, одного ингибитора металлопротеиназы и, по меньшей мере, одного ингибитора сериновой протеазы и, опционально, одного или более дополнительных терапевтических средств, выбранных из группы, включающей ингибитор ацетилхолинэстеразы, антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), ингибитор фактора распространения, антагонист NMDA рецептора, противоядие и антибиотик; или

(e) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемую соль и, по меньшей мере, одного ингибитора ацетилхолинэстеразы (зачастую вводимой путем инъекции с антагонистом ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), таким как атропин или гликопирролат, и опционально, одного или более дополнительных терапевтических средств, выбранных из группы, включающей, по меньшей мере, один ингибитор металлопротеиназы, по меньшей мере, один ингибитор сериновой протеазы, антагонист NMDA рецептора, ингибитор фактора распространения, противоядие и антибиотик; или

(f) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или

их фармацевтически приемлемую соль и одного или более ингибиторов фактора распространения и, опционально, одного или более дополнительных терапевтических средств, выбранных из группы, включающей, по меньшей мере, один ингибитор металлопротеиназы, по меньшей мере, один ингибитор сериновой протеазы, ингибитор ацетилхолинэстеразы, антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), антагонист NMDA рецептора, противоядие и антибиотик; или

(g) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемую соль, антагонист NMDA рецептора и, опционально, одного или более дополнительных терапевтических средств, выбранных из группы, включающей, по меньшей мере, один ингибитор металлопротеиназы, по меньшей мере, один ингибитор сериновой протеазы, ингибитор ацетилхолинэстеразы, антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), ингибитор фактора распространения, антагонист NMDA рецептора, противоядие и антибиотик; или

(h) приномастат, маримастат, нафамостат, иломастат, цефалоспорин, доксициклин, таномастат, батимастат, вареспладиб или метил вареспладиб или их смеси, при этом вареспладиб или метил вареспладиб являются эффективными ингибиторами МР.

46. Восстанавливаемая фармацевтическая композиция, включающая лиофилизированную или сублимированную смесь одного или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ и терапевтически эффективное количество либо:

(a) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, как приведено в настоящей заявке, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиба, метилвареспладиба, индоксама, метилиндоксама или их фармацевтически приемлемую соль и опционально, по меньшей мере, одного дополнительного терапевтического средства, выбранного из группы, включающей ингибитор металлопротеиназы, ингибитор сериновой протеазы, ингибитор ацетилхолинэстеразы (вводимый предпочтительно путем инъекции), антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), ингибитор фактора распространения, антагонист NMDA рецептора, противоядие и антибиотик; или

(b) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, предпочтительно, по

меньшей мере, вареспладиба, метилвареспладиба, индоксама, метилиндоксама или их фармацевтически приемлемую соль и, по меньшей мере, одного ингибитора металлопротеиназы, и опционально одного или более дополнительных терапевтических средств, выбранных из группы, включающей ингибитор сериновой протеазы, ингибитор ацетилхолинэстеразы (вводимый предпочтительно путем инъекции), антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), ингибитор фактора распространения, антагонист NMDA рецептора, противоядие и антибиотик; или

(с) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиба, метилвареспладиба, индоксама, метилиндоксама или их фармацевтически приемлемую соль и, по меньшей мере, одного ингибитора сериновой протеазы и, опционально, одного или более дополнительных терапевтических средств, выбранных из группы, включающей ингибитор металлопротеиназы, ингибитор ацетилхолинэстеразы (вводимый предпочтительно путем инъекции), антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), ингибитор фактора распространения, антагонист NMDA рецептора, противоядие и антибиотик; или

(d) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиба, метилвареспладиба, индоксама, метилиндоксама или их фармацевтически приемлемую соль и, по меньшей мере, одного ингибитора металлопротеиназы и, по меньшей мере, одного ингибитора сериновой протеазы и, опционально, одного или более дополнительных терапевтических средств, выбранных из группы, включающей ингибитор ацетилхолинэстеразы, антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), ингибитор фактора распространения, антагонист NMDA рецептора, противоядие и антибиотик; или

(e) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиба, метилвареспладиба, индоксама, метилиндоксама или их фармацевтически приемлемую соль и, по меньшей мере, одного ингибитора ацетилхолинэстеразы (зачастую вводимого путем инъекции с антагонистом ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR)), таким как атропин или гликопирролат, и опционально, одного или более дополнительных терапевтических средств, выбранных из группы, включающей, по меньшей мере, один ингибитор металлопротеиназы, по меньшей мере, один ингибитор сериновой

протеазы, антагонист NMDA рецептора, ингибитор фактора распространения, противоядие, и антибиотик; или

(f) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиба, метилвареспладиба, индоксама, метилиндоксама или их фармацевтически приемлемую соль и одного или более ингибиторов фактора распространения и, опционально, одного или более дополнительных терапевтических средств, выбранных из группы, включающей, по меньшей мере, один ингибитор металлопротеиназы, по меньшей мере, один ингибитор сериновой протеазы, ингибитор ацетилхолинэстеразы, антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), антагонист NMDA рецептора, противоядие и антибиотик; или

(g) по меньшей мере, одного ингибитора PLA2, предпочтительно, по меньшей мере, вареспладиба, метилвареспладиба, индоксама, метилиндоксама или их фармацевтически приемлемую соль, антагониста NMDA рецептора и, опционально, одного или более дополнительных терапевтических средств, выбранных из группы, включающей, по меньшей мере, один ингибитор металлопротеиназы, по меньшей мере, один ингибитор сериновой протеазы, ингибитор ацетилхолинэстеразы, антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), ингибитор фактора распространения, антагонист NMDA рецептора, противоядие и антибиотик; или

(h) маримастан, нафамостат, иломастан, приномастан, доксициклин, таномастан, батимастан или вареспладиб или только один метилвареспладиб против укусов змей, при этом вареспладиб или метилвареспладиб являются эффективными ингибиторами MP (например, яда гадюки Рассела).

47. Композиция по п. 46, которая была восстановлена.

48. Система, включающая:

(a) устройство, выбранное из группы, включающей устройство для интраназальной доставки лекарственного средства, ручное и (или) автоинъекционное устройство; и

(b) фармацевтическую композицию, загруженную в устройство, являющуюся эффективной при лечении отравлений, вызванных укусами ядовитых животных, и содержащую терапевтически эффективное количество состава по п. 45, 46 или п. 47.

49. Система по п. 48, дополнительно включающая отдельные дозы

фармацевтической композиции в пероральной лекарственной форме.

50, Система, включающая:

(a) устройство, выбранное из группы, включающей устройство для интраназальной доставки лекарственного средства, распылитель, дозирующий ингалятор, дозирующий распылитель и ручное или автоинъекционное устройство, содержащее быстровсасываемый эликсир, сублингвальный или водный;

(b) фармацевтическую композицию, загруженную в устройство, являющуюся эффективной при лечении отравлений, вызванных укусами ядовитых животных, и содержащую терапевтически эффективное количество состава по п. 45 или п. 46; и

(b) фармацевтически приемлемый инъецируемый разбавитель для восстановления фармацевтической композиции.

51. Система по п. 48, в которой:

(a) ингибитор металлопротеиназы представляет собой вареспладиб или аналогичное производное, фармацевтически приемлемую соль, энантиомер, диастереомер, сольват или их полиморф, ингибитор PLA2 представляет собой приномастат, батимастат и (или) маримастат или аналогичное производное, фармацевтически приемлемую соль, энантиомер, диастереомер, сольват или их полиморф, и ингибитор сериновой протеазы представляет собой 4-(2-Аминоэтил) бензолсульфонил фторид или аналогичное производное, фармацевтически приемлемую соль, энантиомер, диастереомер, сольват или их полиморф; и

(b) терапевтически эффективное количество ингибитора металлопротеиназы, ингибитора PLA2 и ингибитора сериновой протеазы является эффективным при лечении укуса змей.

52. Система по п. 49, в которой:

(a) ингибитор металлопротеиназы представляет собой вареспладиб или аналогичное производное, фармацевтически приемлемую соль, энантиомер, диастереомер, сольват или их полиморф, ингибитор PLA2 представляет собой приномастат, батимастат и (или) маримастат или аналогичное производное, фармацевтически приемлемую соль, энантиомер, диастереомер, сольват или их полиморф, и ингибитор сериновой протеазы представляет собой 4-(2-Аминоэтил) бензолсульфонил фторид или аналогичное производное, фармацевтически приемлемую соль, энантиомер, диастереомер, сольват или их полиморф; и

(b) терапевтически эффективное количество ингибитора

металлопротеиназы, ингибитора PLA2 и ингибитора сериновой протеазы является эффективным при лечении укуса змей.

53. Комплект, включающий систему по п. 48 или п. 50 и инструкции по введению фармацевтической композиции при лечении укуса змей.

54. Композиция, включающая эффективное количество, по меньшей мере, одного противоядия и, по меньшей мере, одного ингибитора PLA2 и опционально, по меньшей мере, одного дополнительного терапевтического средства, выбранного из группы, включающей ингибитор металлопротеиназы, ингибитор сериновой протеазы, ингибитор ацетилхолинэстеразы, антагонист ацетилхолинового мускаринового рецептора (mAChR), ингибитор фактора распространения, антагонист NMDA рецептора, ингибитор L-аминоксидазы, ингибитор гиалуронидазы и антибиотик.

55. Композиция по п. 54, в которой ингибитор PLA2 представляет собой вареспладиб, метилвареспладиб или их смесь.

56. Композиция по п. 54 или п. 55, в которой противоядие является неэффективным или не соответствует яду, против которого его вводят.

57. Композиция по любому из пп. 54-56 состоит, по меньшей мере, из двух частей, при этом первая часть композиции включает ингибитор PLA2 в парентеральной, интраназальной, интраокулярной, пероральной, топикальной или ингаляционной лекарственной форме, и вторая часть композиции включает противоядие в парентеральной, интраназальной, интраокулярной, пероральной, топикальной или ингаляционной лекарственной форме.

58. Композиция по п. 57, в которой первая часть композиции является парентеральной, интраназальной, пероральной или ингаляционной лекарственной формой, и вторая часть композиции является парентеральной или интраназальной лекарственной формой.

59. Композиция для лечения отравления субъекта змеиным ядом, включающая эффективное количество противоядия в сочетании с эффективным количеством вареспладиба и (или) метилвареспладиба.

60. Композиция по п. 59 в фармацевтической лекарственной форме.

61. Композиция по п. 60 в парентеральной лекарственной форме.

62. Композиция по п. 60 во внутримышечной лекарственной форме.

63. Метод повышения эффективности противоядия для лечения отравлений, вызванных укусами ядовитых животных субъекта, нуждающегося в

таким лечением, включающий совместное введение субъекту противоядия в комбинации, по меньшей мере, с одним ингибитором PLA2.

64. Метод по п. 63, при котором отравление ядом вызвано укусом змеи, рептилий, артроподов, амфибий, рыб, моллюсков, стрекающих кишечнорастворимых или кишечнорастворимых животных.

65. Метод по п. 63 или п. 64, при котором ингибитор PLA2, по меньшей мере, представляет собой вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемую соль.

66. Метод лечения субъекта, страдающего от отравлений, вызванных укусами змей, при этом метод включает этап введения субъекту терапевтически эффективного количества композиции по любому из пп. 54-62.

67. Метод по п. 65, при котором после проведения начального курса лечения следует, по меньшей мере, один дополнительный курс лечения с использованием той же самой композиции.

68. Метод по п. 65, предусматривающий лечение субъекта в соответствии с методом по любому из пп. 1-31 или пп. 40-44.

69. Композиция, включающая эффективное количество противоядия Crofab<sup>®</sup> (препарат из фрагментов овечьих иммуноглобулинов против яда ямкоголовых змей в качестве активного ингредиента) и (или) Anavip\* - F(ab')<sub>2</sub> противоядие из лошадиного иммуноглобулина против яда ямкоголовых змей (гремучая змея) в комбинации с эффективным количеством, по меньшей мере, вареспладиба, метилвареспладиба, индоксама, метилиндоксама или их фармацевтически приемлемой соли.

70. Композиция по п. 69, состоящая из двух частей, при этом первая часть композиции включает, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемую соль в парентеральной, интраназальной, интраокулярной, пероральной, топикальной или ингаляционной лекарственной форме, и вторая часть композиции включает противоядие в парентеральной, интраназальной, интраокулярной, пероральной, топикальной или ингаляционной лекарственной форме.

71. Метод лечения субъекта, страдающего от отравлений, вызванных укусами змей, при этом метод включает этап введения субъекту терапевтически эффективного количества композиции по п. 68 или п. 69.

72. Метод по п. 70, предусматривающий лечение субъекта в соответствии

с методом по любому из пп. 1-31 или пп. 30-44.

73. Метод лечения субъекта, страдающего от отравлений, вызванных укусами змей, при этом метод включает этап совместного введения противоядия в комбинации с композицией по п. 32 или п. 47.

74. Метод по п. 62, при котором противоядие и композицию вводят одновременно.

75. Метод по п. 62, при котором противоядие и композицию вводят одновременно.

76. Метод по п. 62, при котором противоядие и композицию вводят последовательно.

77. Метод лечения вызванных укусами ядовитых животных отравлений пациента или субъекта, нуждающегося в таком лечении, включающий введение пациенту или субъекту эффективной дозы ингибитора PLA2, при котором предотвращение, купирование и ослабление признаков и симптомов отравлений, вызванных укусами ядовитых животных у пациента или субъекта, проявляются в течение приблизительно от 5 минут до не более чем 1440 минут после начального введения ингибитора PLA2.

78. Метод по п. 77, при котором ингибитор PLA2 вводят в комбинации, по меньшей мере, с одним дополнительным средством, выбранным из группы, включающей ингибитор металлопротеиназы, ингибитор сериновой протеазы или их смесь, при котором ингибитор PLA2 и дополнительное (-ые) средство (-а) вводят пациенту или субъекту по отдельности или в смеси.

79. Применение ингибитора PLA2 в производстве лекарственного препарата для лечения субъекта, страдающего от отравления, вызванного укусом ядовитого животного, при этом метод включает введение субъекту композиции, содержащей терапевтически эффективное количество, по меньшей мере, одного ингибитора PLA2.

80. Применение по п. 79, при котором отравление ядом вызвано укусом змеи, рептилий, артроподов, амфибий, моллюсков или стрекающих кишечнополостных (так называемых "кишечнополостных").

81. Применение по п. 79 или п. 80, дополнительно включающее введение терапевтически эффективного количества, по меньшей мере, одного вещества, выбранного из группы, включающей ингибитор металлопротеиназы, ингибитор сериновой протеазы или их смесь, при котором ингибитор PLA2 и вещество (-а)

вводят субъекту по отдельности или в виде смеси.

82. Применение по любому из пп. 79-81, дополнительно включающее введение терапевтически эффективного количества противоядия.

83. Применение по любому из пп. 79-82, дополнительно включающее введение терапевтически эффективного количества, по меньшей мере, одного вещества, выбранного из группы, включающей ингибитор фактора распространения, антагонист NMDA рецептора, ингибитор ацетилхолинэстеразы, ингибитор L-аминоксидазы, ингибитор гиалуронидазы, при котором ингибитор PLA2 и вещество (-а) вводят по отдельности или в смеси.

84. Применение по любому из пп. 79-83, при котором ингибитор PLA2, по меньшей мере, представляет собой вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемую соль.

85. Применение по любому из пп. 79-82, при котором ингибитор металлопротеиназы, ингибитор PLA2 или ингибиторы и (или) ингибитор сериновой протеазы вводят субъекту путем инъекции, интраназально, интраокулярно, перорально или путем ингаляции, и субъекту совместно или последовательно вводят ингибитор ацетилхолинэстеразы или комбинацию AChEI/mAChR.

86. Применение по п. 84, при котором вареспладиб вводят субъекту совместно с ингибитором ацетилхолинэстеразы или комбинацию AChEI/mAChR.

87. Применение по п. 86, при котором ингибитор PLA2 представляет собой вареспладиб, который вводят субъекту совместно с ингибитором ацетилхолинэстеразы или комбинацию AChEI/AChR.

88. Применение по п. 79, при котором ингибитор PLA2 представляет собой вареспладиб, и вареспладиб вводят субъекту совместно, по меньшей мере, с одним веществом, выбранным из группы, включающей приномастат, маримастат, нафамостат, цефиксим, доксициклин или батимастат и ингибитор ацетилхолинэстеразы или комбинацию ингибиторов AChEI/mAChR.

89. Применение по п. 79, при котором ингибитор PLA2 представляет собой вареспладиб, и вареспладиб вводят субъекту совместно с неостигмином, дополнительно в комбинации с ингибитором mAChR.

90. Применение по п. 89, при котором вареспладиб, неостигмин и ингибитор mAChR вводят субъекту совместно в виде отдельных активных веществ.

91. Применение по п. 81, при котором ингибитор металлопротеиназы,

ингибитор PLA2 и (или) ингибитор сериновой протеазы вводят субъекту инъекционно, интраназально, интраокулярно, перорально, топикально или путем ингаляции.

92. Применение по п. 91, при котором инъекцию делают внутримышечно.

93. Применение по любому из пп. 81, 85, 91 или п. 92, при котором ингибитор металлопротеиназы выбран из группы, содержащей приномастат, ВВ-94 (маримастат), ВВ-2516 (батимастат), нафамостат, иломастат, доксициклин, таномастат, вареспладиб, метилвареспладиб и их смеси, по отдельности или в сочетании с ТАPI-2, ТАPI-1, EGTA, EDTA, фосфорамидон, ТАPI-0, Лютеолин, алендронат, таномастат, ингибитор 1 коллагеназы 1, Ro-32-3555, лактобионовую кислоту, о-фенантролин, экотин, 4-эпи-хлотетрациклин, тетрациклин, доксициклин или родственный антибиотик с дополнительным лечебным противомикробным эффектом, п-дансил-d-фенилаланин, 20[R]гинсенозидRh2, про-лей-гли-гидроксимат, gm6001, актинонин, agr-100, ингибитор I MMP9, ингибитор I MMP2, SB-3CT, Тиорфан (DL), 4-эпи-демеклоциклин, метакрилат цинка, фуналенон, полученный естественным способом или синтетически коротко-пептидный ингибитор металлопротеиназы змеиного яда и фармацевтически приемлемые соли, энантиомеры, диастереомеры, сольваты, полиморфы и их смеси.

94. Применение по любому из пп. 81, 85, 91 или п. 93, при котором ингибитор металлопротеиназы представляет собой приномастат или маримастат, вводимый субъекту перорально, путем инъекции или интраназально, при концентрации в пределах от приблизительно 1 до приблизительно 500 мкМ; и (или) (2) в количестве в пределах от приблизительно 0,0001 до приблизительно 100 г.

95. Применение по любому из пп. 79-83, 85 или пп. 81-84, при котором ингибитор PLA2 выбран из группы, содержащей вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам, N,N-диметилкарбамоилметил,4-4-гуанидинобензоилокси-фенилацетат (камостат), Сурамин, этил-р[6-гаунидиногексаноилокси]-бензоат метансульфонат (габексат), AIPLAI (ингибитор PLA2 *Azadirachta indica*), BMS-181162, LY311727, ARL-67974, FPL67047, SB-203347, Ro-23-9358, YM-26734, YM 26567, IS-741, MJ33, флуниксин, Эфипладиб, Way 196025, Экопладиб, Гирипладиб, Вариабиллин, SB 203347, PAF-АН, дарапладиб, фосфатидилэтаноламин (PE), фосфатидилсерин (PS), фосфатидилхолин (PC), фосфатидилхинозитол (PI), фосфатидилглицерол (PG),

их смеси и их фармацевтически приемлемые соли или альтернативные соли.

96. Применение по п. 95, при котором ингибитор PLA2 связан (конъюгирован), по меньшей мере, с одним соединением, выбранным из группы, включающей карбоксиметилцеллюлозу (CMPE, CMC-Peog CME), гиалуроновую кислоту (HYPE, HyPE, и Hyal-PE), гепарин (HEPPE, HepPE, HePPE, Hера-PE), хондроитин сульфат А (CSAPE, CsaPE, CsAPE), Полигелин (гемацелл) (HemPE, HEMPE), гидроксиэтилкрахмал (HesPE, HESPE) (предпочтительно, фосфатидил этаноламин, связанный гиалуроновой кислотой (HyPE)) и смеси, фармацевтически приемлемые соли, энантиомеры, диастереомеры и их сольваты и полиморфы.

97. Применение по любому из пп. 84 и 86-90, при котором вареспладиб вводят субъекту (1) инъекционно или метилвареспладиб перорально или интраназально при концентрации в пределах от приблизительно 0,1, 1, 10, 100, 110, 120, 230, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 370, 380, 390, 400, 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490, 500 до приблизительно 1250, от 750 до приблизительно 1250, от приблизительно 801 до приблизительно 1000 мкМ; и (или) (2) в количестве в пределах от приблизительно 0,001, 0,01, 0,1, 1, 10, 100 до 1,000 мг, или в количестве от приблизительно 1, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 до приблизительно 100 г.

98. Применение по любому из пп. 81, 85 или 91, при котором ингибитор сериновой протеазы выбран из группы, содержащей габексат, камостат, нафамостат, апротинин, антитромбин (АТ), альфа-1 антитрипсин (а антитрипсин (A1AT)), AEBSF (4-(2-аминоэтил) бензолсульфонил фторид гидрохлорид), PMSF (фенилметансульфонилфторид или фенилметилсульфонил фторид), ингибитор протеина С (PCI, SERPIIIM5), протеин Z-зависимый ингибитор протеазы, метокси арахидонил фторфосфонат (MAFP), миелоидный и эритроидный ядерный терминальный стадиеспецифический белок (MENT), ингибитор-1 активатора плазминогена (PAI-1), ингибитор-2 активатора плазминогена (плацентарный PAI), протеолитический нексин-1 (PN-1), коллигин антитромбина III, фосфатидилэтанолламин-связывающий белок, нейросерпин, а<sub>2</sub>-антиплазмин, ингибитор сериновой протеазы 3, муриноглобин I, полученный естественным способом или синтетический коротко-пептидный ингибитор сериновой протеазы змеиного яда, рибозимы и низкомолекулярные вещества, снижающие

транскрипцию или трансляцию полинуклеотида сериновой протеазы, как описано в заявке на патент США № 20090318534, ингибиторы сериновой протеазы, описанные в заявке на патент США № 20140341881, на которые дается ссылка их смеси, фармацевтически приемлемые соли, энантиомеры, диастереомеры, сольваты и полиморфы.

99. Применение не более двух активных ингредиентов, выбранных из группы, включающей ингибитор металлопротеиназы, ингибитор PLA2, ингибитор сериновой протеазы, ингибитор фактора распространения и антагонист NMDA рецептора, при производстве, по меньшей мере, одного лекарственного средства для лечения отравлений у пациентов, вызванных укусами ядовитых животных, при котором лекарственное (-ые) средство (-а) вводят вместе с одним лекарственным средством или отдельно, и лечение субъекта опционально проводят с применением ингибитора ацетилхолинэстеразы или при комбинации ингибиторов (комбинация антагонистов AChEI/mAChR).

100. Применение по п. 99, при котором лекарственное (-ые) средство (-а) включают в основном ингибитор металлопротеиназы и ингибитор PLA2, которые вводят инъекционно, интраназально, интраокулярно, перорально, топикально или путем ингаляции.

101. Применение по п. 100, при котором инъекция представляет собой внутримышечный путь введения лекарственного средства.

102. Применение по любому из пп. 99-101, при котором:

(а) ингибитор металлопротеиназы выбран из группы, содержащей приномастат, воринонат, ВВ-94 (маримастат), ВВ-2516 (батимастат), нафамостат, иломастат, доксициклин, цефиксим или иной цефалоспорин, таномастат или вареспладиб или только один метилвареспладиб против укусов змей, при этом вареспладиб или метилвареспладиб являются эффективными ингибиторами МР (например, яда гадюки Рассела), ТАPI-2, ТАPI-1, EGTA, EDTA, фосфорамидон, ТАPI-0, Лютеолин, алендронат, таномастат, ингибитор 1 коллагеназы 1, Ro-32-3555, лактобионовую кислоту, о-фенантролин, экотин, 4-эпи-хлотетрациклин, тетрациклин, доксициклин или родственный антибиотик с дополнительным лечебным противомикробным эффектом, п-дансил-d-фенилаланин, 20[R]гинсенозидRh2, про-лей-гли-гидроксимат, gm6001, актинонин, agr-100, ингибитор I MMP9, ингибитор I MMP2, SB-3CT, Тиорфан (DL), 4-эпидемеклоциклин, метакрилат цинка, фуналенон, полученный естественным

способом или синтетический коротко-пептидный ингибитор металлопротеиназы змеиного яда и их фармацевтически приемлемые соли, энантиомеры, диастереомеры, сольваты и полиморфы и их смеси; и

(b) ингибитор PLA2 выбран из группы, содержащей вареспладиб (Lilly 315920), метилированный вареспладиб (пролекарство вареспладиба), индоксам, метилиндоксам, N,N-диметилкарбамоилметил,4-4-гуанидинобензоилокси-фенилацетат (Камостат), этил-р[6-гуанидиногексаноилокси]-бензоат метансульфонат (габексат), индоксам, метил индоксам, AIPLAI (ингибитор PLA2 *Azadirachta indica*), BMS-181162, LY311727, ARL-67974, FPL67047, SB-203347, Ro-23-9358, YM-26734, YM 26567, IS-741, MJ33, флуниксин, Эфипладиб, Way 196025, Экопладиб, Гирипладиб, Варабилин, SB 203347, PAF-AN, дарапладиб, фосфатидилэтанолламин (PE), фосфатидилсерин (PS), фосфатидилхолин (PC), фосфатидилхинозитол (PI), и фосфатидилглицерол (PG) и их смеси.

102. Применение по п. 101, при котором ингибитор PLA2 выбран из группы, содержащей фосфатидилэтанолламин (PE), фосфатидилсерин (PS), фосфатидилхолин (PC), фосфатидилхинозитол (PI) и фосфатидилглицерол (PG) и их смеси, конъюгированные, по меньшей мере, с одним соединением, выбранным из группы, включающей карбоксиметилцеллюлозу (CMPE, CMC-Peog CME), гиалуроновую кислоту (HYPE, HyPE и Hyal-PE), гепарин (HEPPE, HepPE, HePPE, Hepar-PE), хондроитин сульфат А (CSAPE, CsaPE, CsAPE), Полигелин (гемацелл) (HemPE, HEMPE), гидроксиэтилкрахмал (HesPE, HESPE) (предпочтительно, фосфатидил этанолламин, связанный гиалуроновой кислотой(HyPE)) и их смеси, фармацевтически приемлемые соли, энантиомеры, диастереомеры, сольваты и полиморфы.

103. Применение по любому из пп. 99-102, при котором ингибитор металлопротеиназы и ингибитор PLA2 вводят внутривенно, внутримышечно или перорально субъекту (1) при концентрации в пределах от приблизительно 1 до приблизительно 1200 мкМ; и (или) (2) в количестве в пределах от приблизительно 0,001 до 1000 мг, или в количестве в пределах от приблизительно 1 до приблизительно 100 г, и, при котором концентрация ингибитора металлопротеиназы и ингибитора PLA2 может быть одинаковой или различной.

104. Применение по любому из пп. 99-103, при котором ингибитор металлопротеиназы представляет собой приномастат, вориностат, BB-94 (маримастат), BB-2516 (батимастат), нафамостат, иломастат, доксициклин,

таномастат, и ингибитор PLA2 выбран из группы, содержащей вареспладиб, N,N-диметилкарбамоилметил,4-4-гуанидинобензоилокси-фенилацетат (камостат) и этил-p[6-гаунидиногексаноилокси]-бензоат метансульфонат (габексат).

105. Применение по п. 101, при котором ингибитор металлопротеиназы, ингибитор PLA2 и (или) ингибитор сериновой протеазы вводят субъекту топикально или трансдермально в месте укуса.

106. Применение по п. 103, при котором ингибитор металлопротеиназы, ингибитор PLA2, ингибитор сериновой протеазы, ингибитор ацетилхолинэстеразы, и (или) антибиотик, ингибитор фактора распространения и антагонист NMDA вводят субъекту в форме пасты или геля.

107. Применение по любому из пп. 79-106, при котором субъект страдает от отравления змеиным ядом, предположительно вызванного укусом змеи.

108. Применение по любому из пп. 79-106, при котором отравление субъекта змеиным ядом вызвано укусом змеи.

109. Применение эффективной дозы ингибитора PLA2 при производстве лекарственного вещества для лечения отравлений пациента или субъекта, нуждающегося в таком лечении, при котором купирование, ослабление признаков и симптомов отравлений, вызванных укусами ядовитых животных у пациента или субъекта проявляется в течение от приблизительно 5 минут до не более чем 30 минут после введения ингибитора PLA2.

110. Применение по п. 110, при котором ингибитор PLA2 вводят в комбинации по меньшей мере, с одним дополнительным веществом, выбранном из группы, включающей ингибитор металлопротеиназы, ингибитор сериновой протеазы или их смесь, при котором ингибитор PLA2 и дополнительный (-ые) веществ (-а) вводят пациенту или субъекту отдельно или в виде смеси в одном лекарственном средстве.

111. Композиция, включающая эффективное количество, по меньшей мере, одного противоядия в комбинации с эффективным количеством, по меньшей мере, одного соединения, выбранного из группы, включающей ингибитор PLA2, ингибитор металлопротеиназы и ингибитор сериновой протеиназы.

112. Композиция по п. 111, в которой, по меньшей мере, одно противоядие комбинируется, по меньшей мере, с одним соединением, выбранным из группы, включающей вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам, приномастат, маримастат, батимастат, воринонстат, камостат и габексат или их

фармацевтически приемлемую соль.

113. Композиция по п. 112 включающая, по меньшей мере, одно противоядие и, по меньшей мере, вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам или их фармацевтически приемлемую соль.

114. Композиция по п. 112, в которой, по меньшей мере, одно противоядие комбинируется с вареспладибом и (или) метилвареспладибом или их фармацевтически приемлемыми солями.

115. Композиция по любому из пп. 111-114, в которой противоядие представляет собой CroFab<sup>®</sup> и (или) Anavip<sup>1</sup> Crotalinae.

116. Композиция по любому из пп. 111-115, состоящая из двух частей, при этом первая часть композиции включает, по меньшей мере, одно соединение в парентеральной, интраназальной, интраокулярной, пероральной, топикальной или ингаляционной лекарственной форме, и вторая часть композиции включает противоядие в парентеральной, интраназальной, интраокулярной, пероральной, топикальной или ингаляционной лекарственной форме.

117. Композиция по любому из пп. 111-115, изготовленная согласно рецептуре в виде одной целой части в парентеральной, интраназальной, интраокулярной, пероральной, топикальной или ингаляционной лекарственной форме.

118. Метод лечения вызванных укусами ядовитых животных отравлений пациента или субъекта, нуждающегося в таком лечении, включающий совместное введение пациенту или субъекту эффективного количества, по меньшей мере, одного противоядия в комбинации с эффективным количеством, по меньшей мере, одного соединения, выбранного из группы, включающей ингибитор PLA2, ингибитор металлопротеиназы и ингибитор сериновой протеиназы.

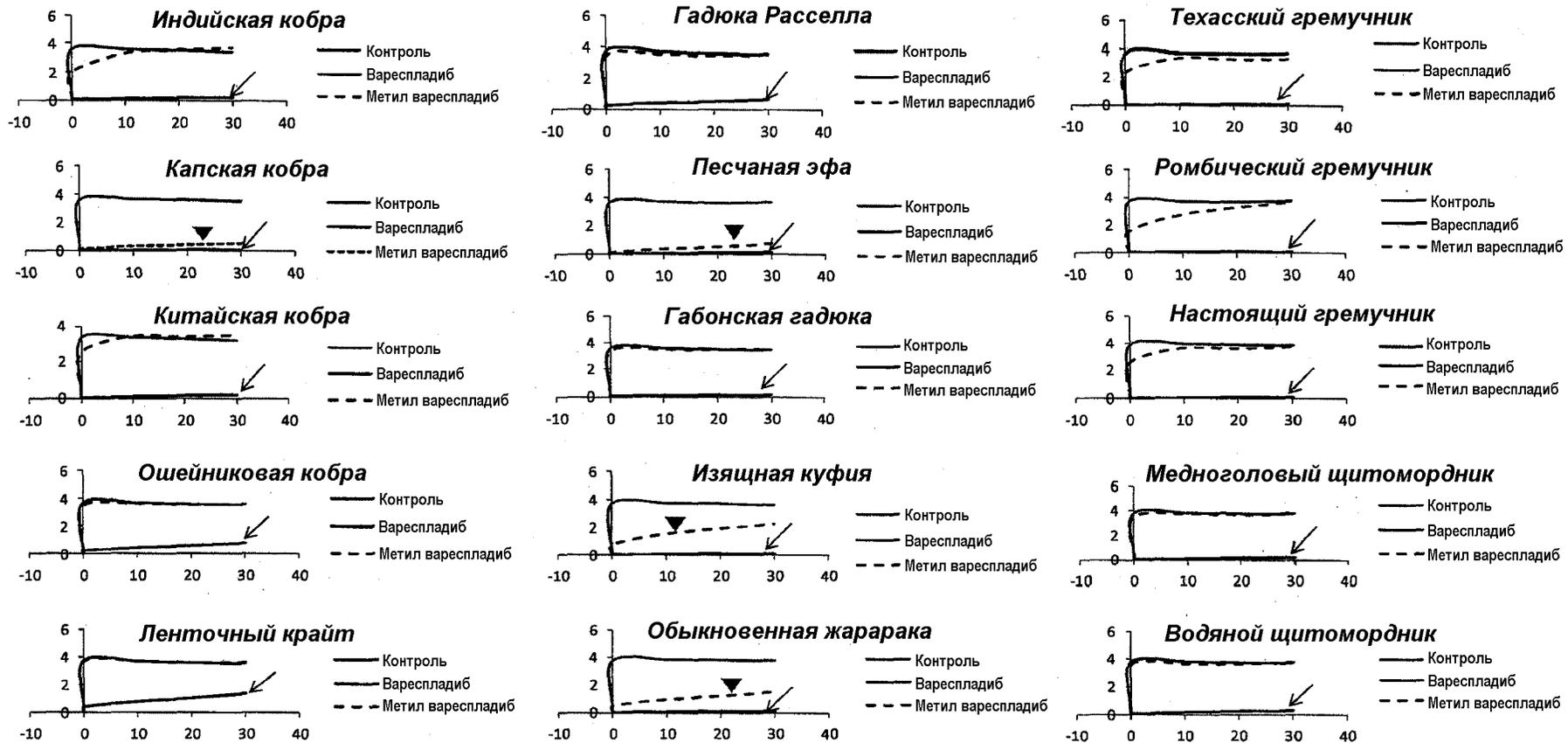
119. Метод по п. 118, при котором по меньшей мере, одно противоядие совместно введено, по меньшей мере, с одним соединением, выбранным из группы, включающей вареспладиб, метилвареспладиб, индоксам, метилиндоксам, приномастат, маримастат, батимастат, воринонат, камостат и габексат или их фармацевтически приемлемую соль.

120. Метод по п. 119, включающий совместное введение, по меньшей мере, одного противоядия и, по меньшей мере, вареспладиба, метилвареспладиба, индоксама, метилиндоксама или их фармацевтически приемлемой соли.

121. Метод по п. 120, включающий совместное введение, по меньшей мере, одного противоядия с вареспладибом или их фармацевтически приемлемой солью.

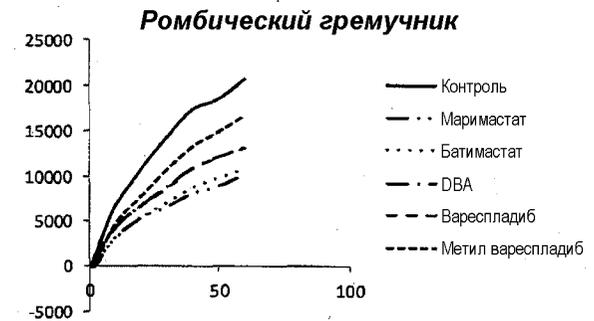
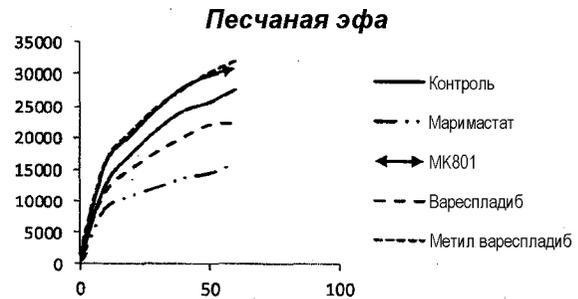
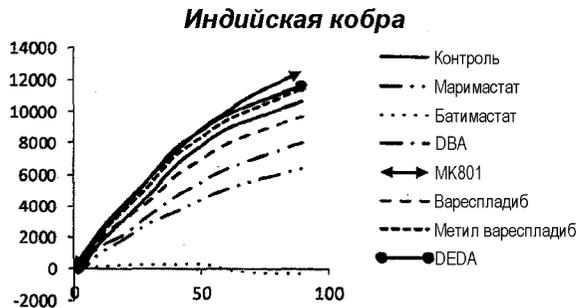
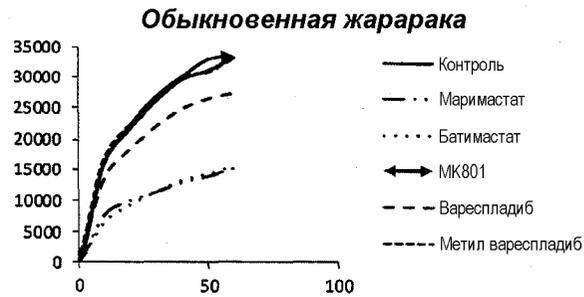
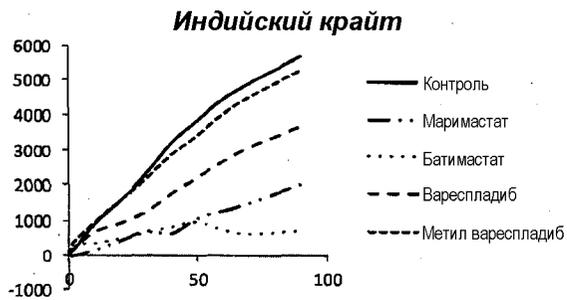
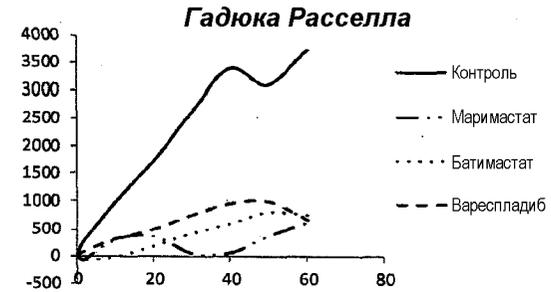
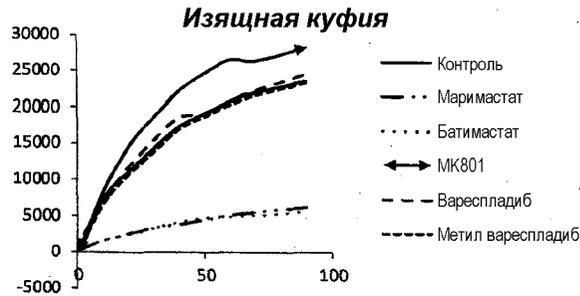
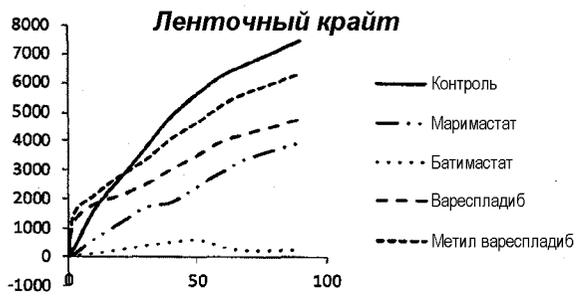
122. Метод по любому из пп. 118-121, при котором противоядие включает, по меньшей мере, CroFab<sup>®</sup>.

123. Метод по любому из пп. 118-121, при котором противоядие представляет собой CroFab<sup>®</sup> и (или) Anavip Crotalinae.



X-ось = время (минуты); Y-ось = поглотительная способность

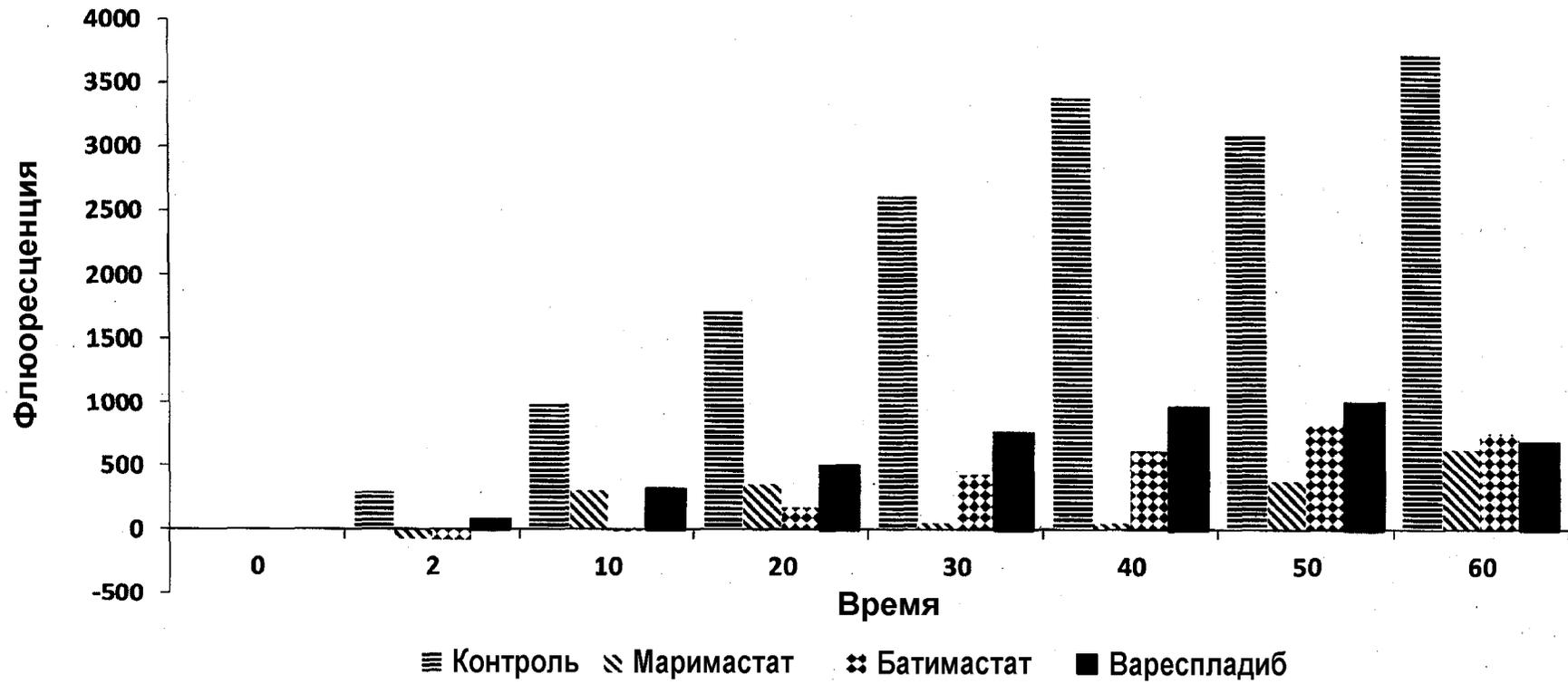
Фиг. 1



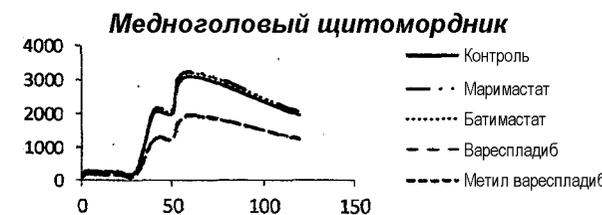
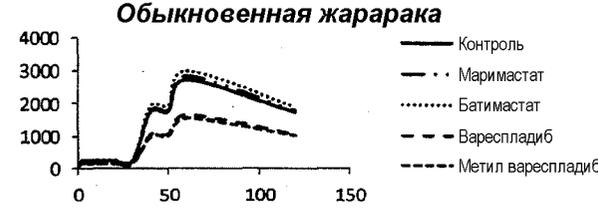
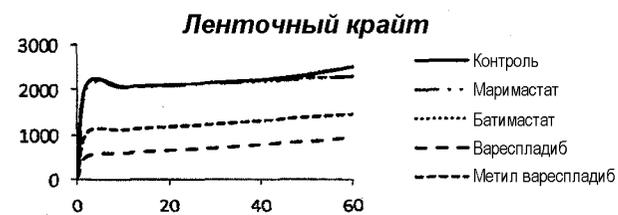
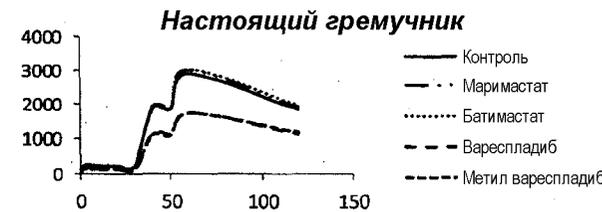
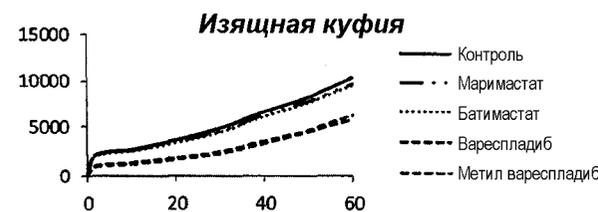
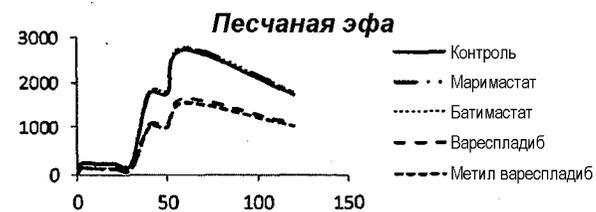
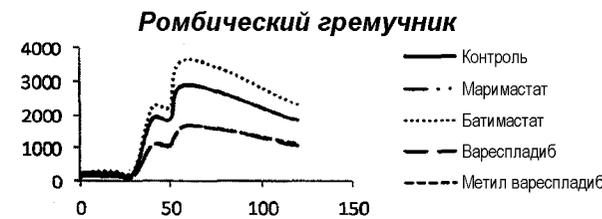
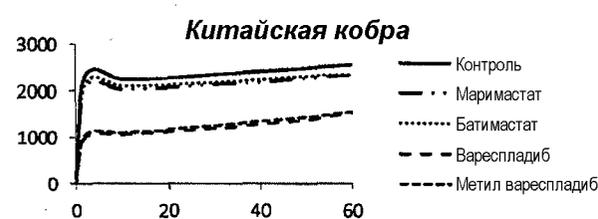
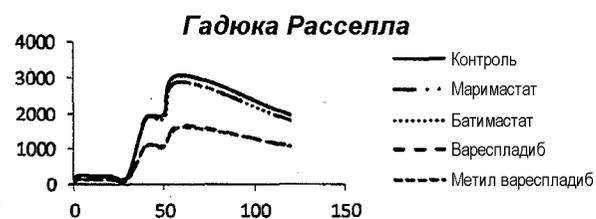
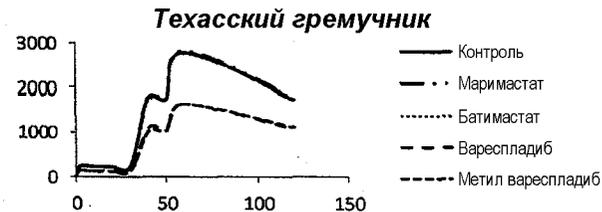
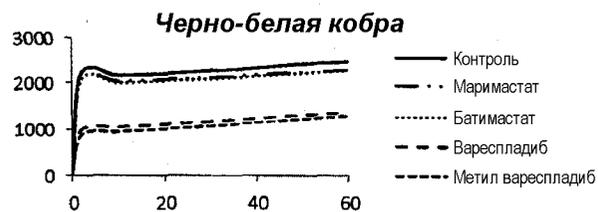
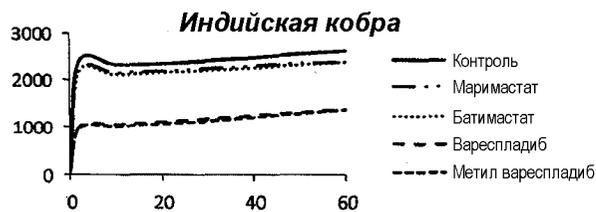
Х-ось = время (минуты); Y-ось = флюоресценция

Фиг. 2А

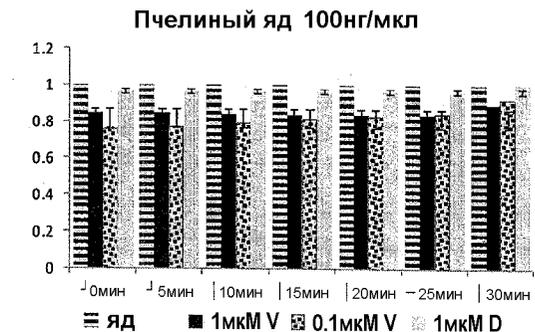
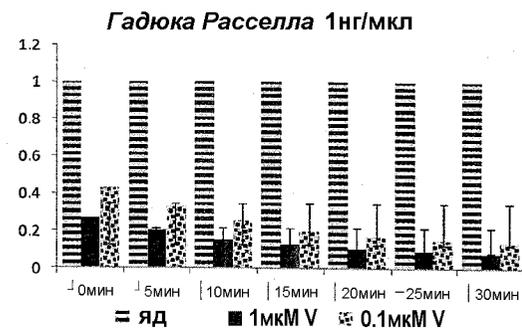
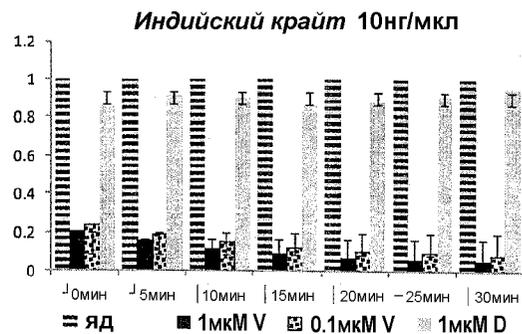
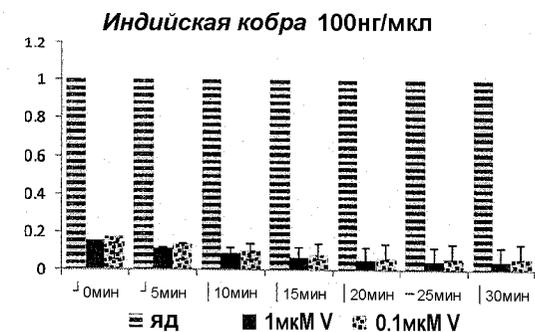
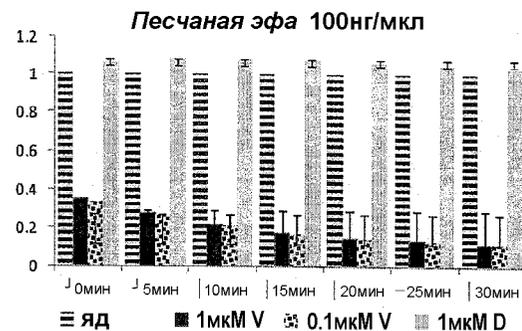
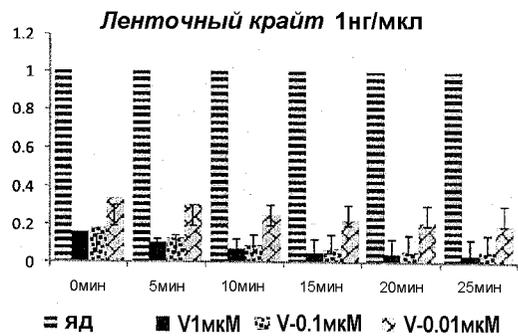
*Гадюка Расселла*



Фиг. 2В

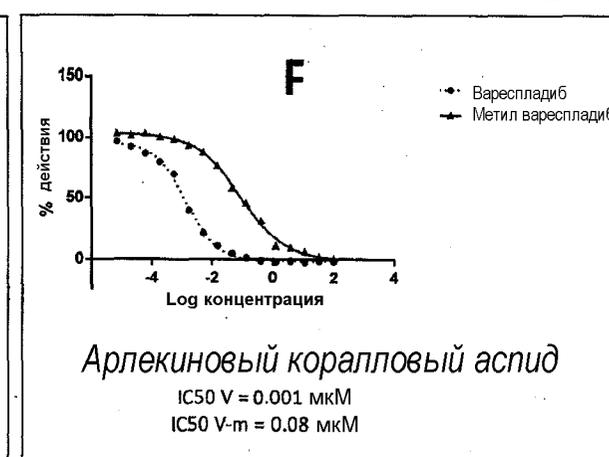
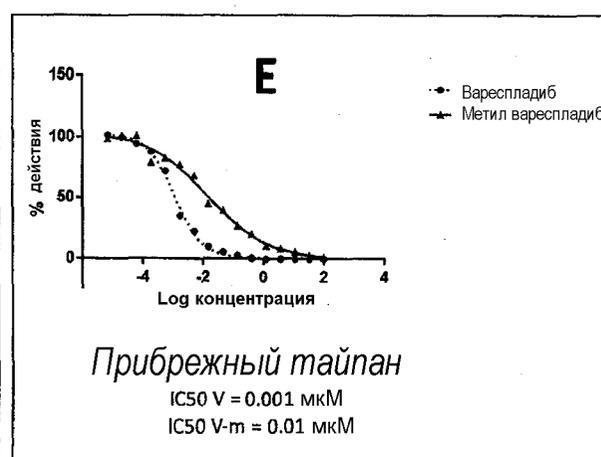
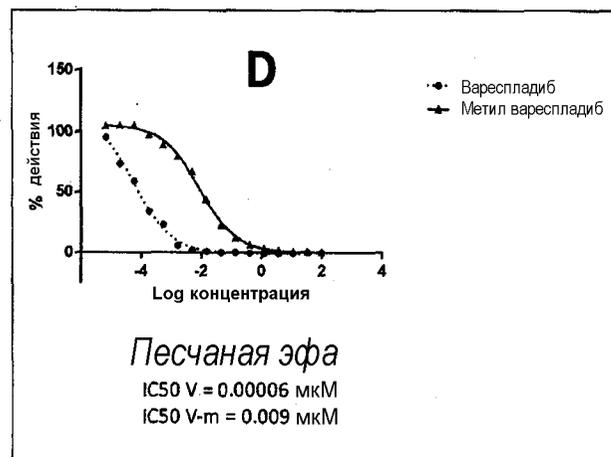
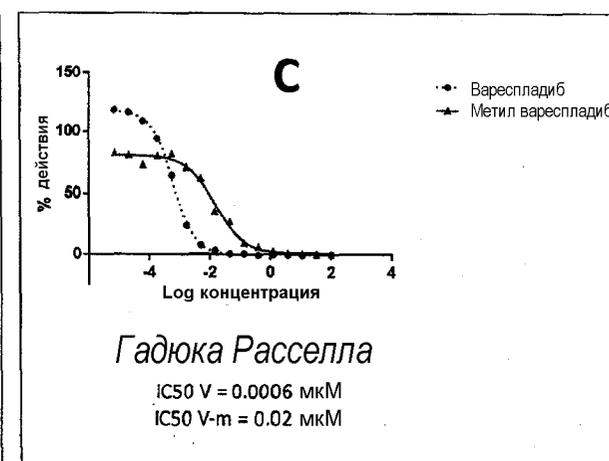
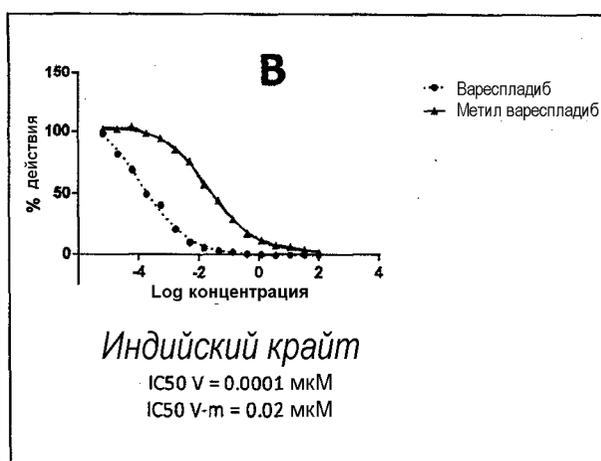
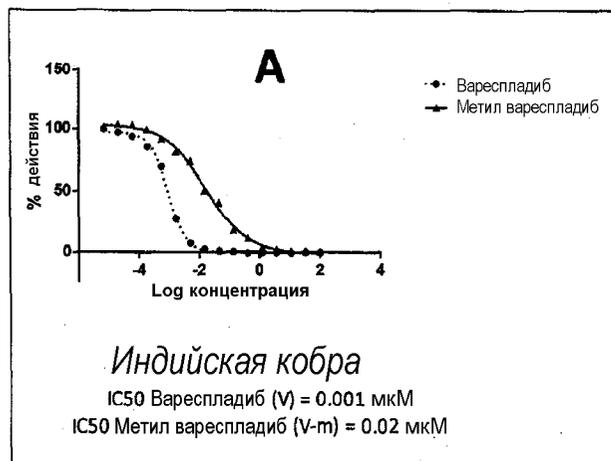


**Фиг. 3**

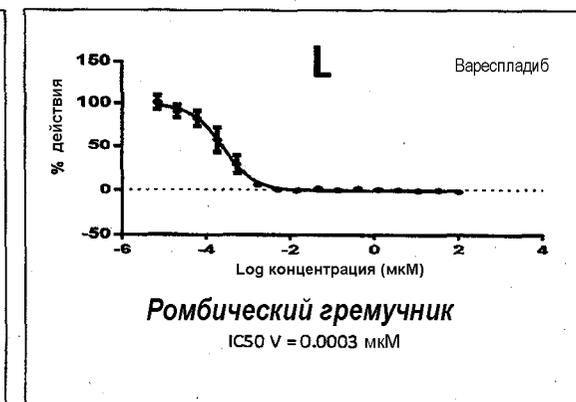
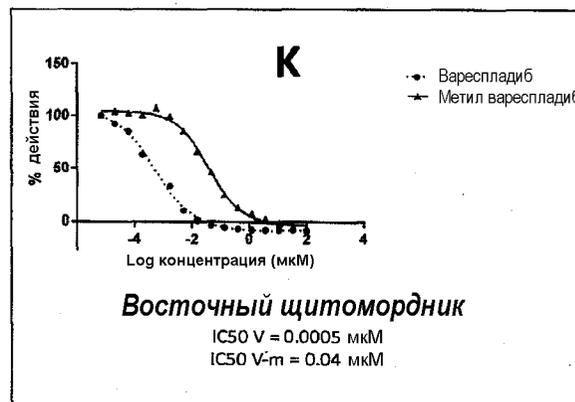
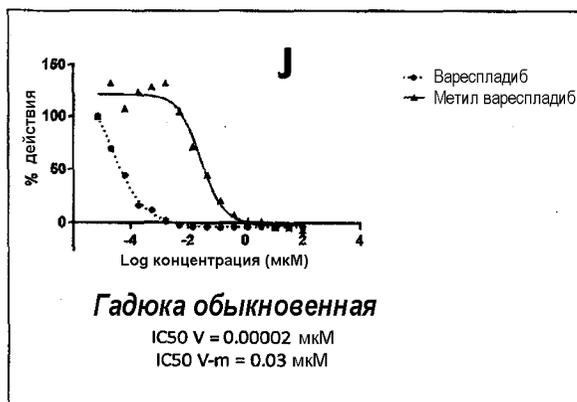
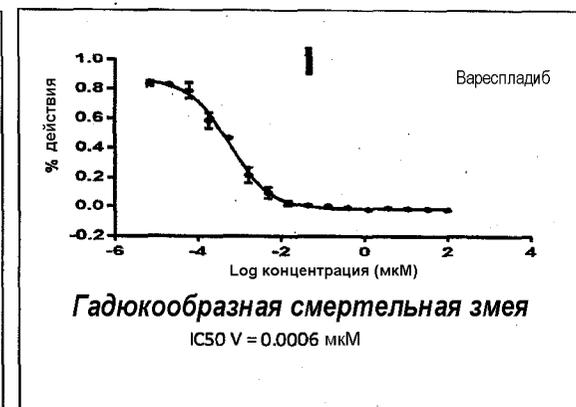
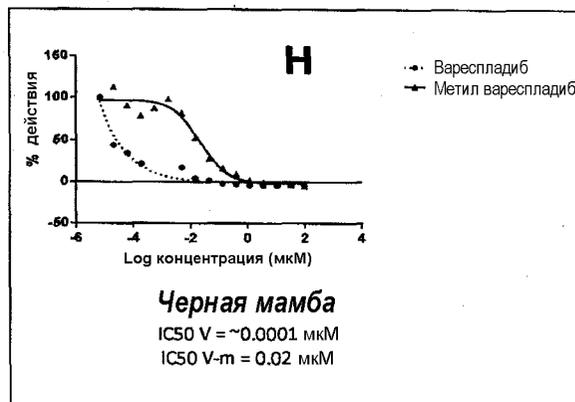
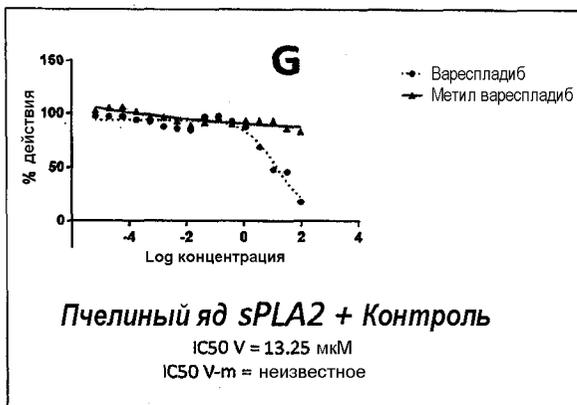


X-ось = время (минуты); Y-ось = поглощательная способность, нормированная к контролю;  
V – вареспладиб; D – дарспладиб

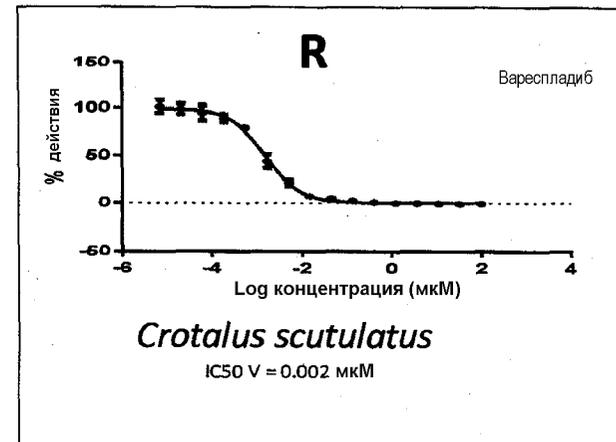
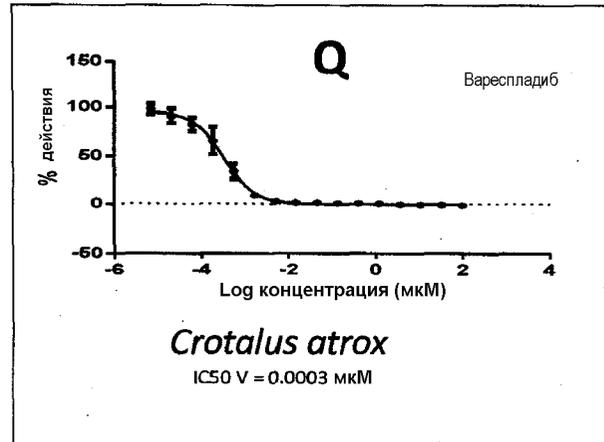
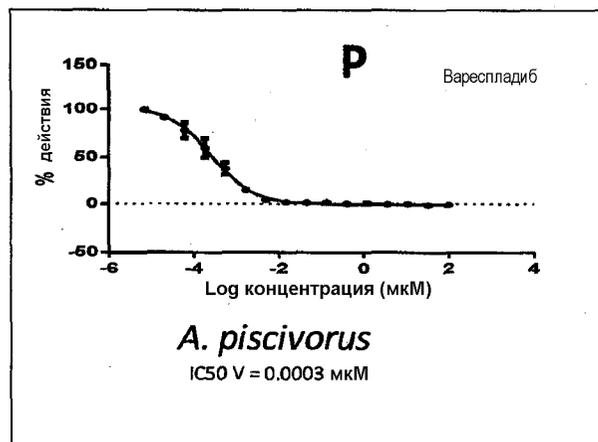
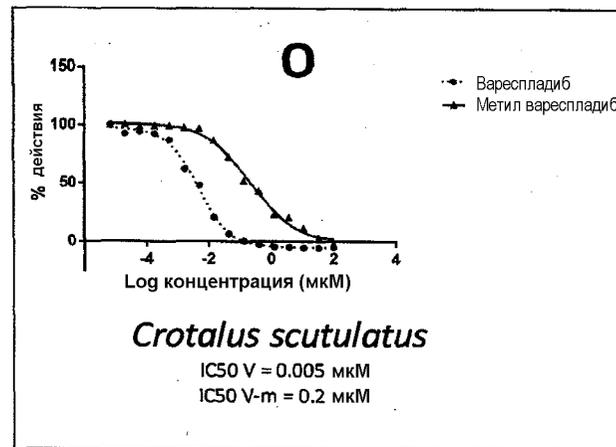
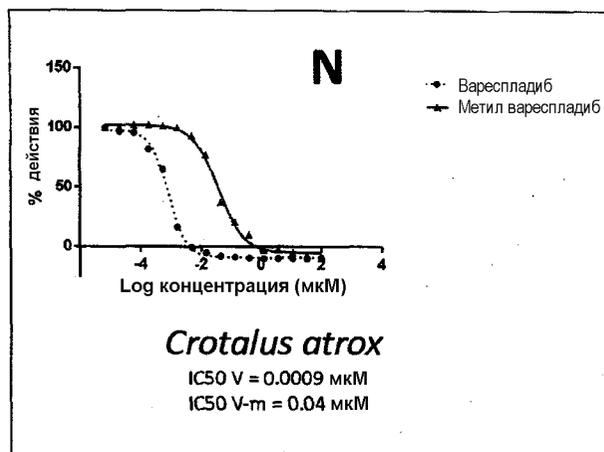
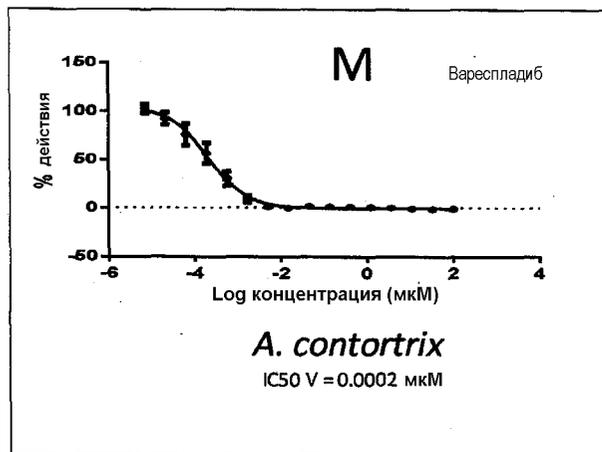
Фиг. 4



Фиг. 5А-F

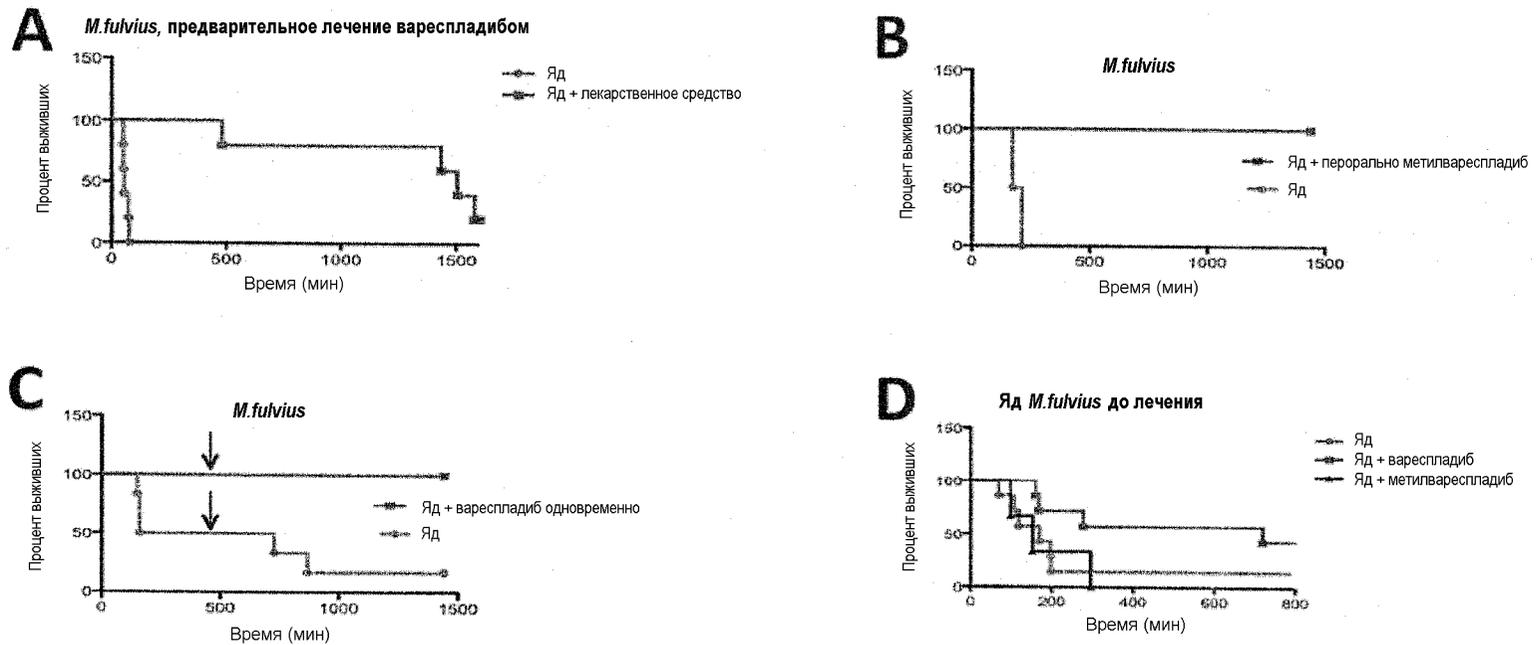


Фиг. 5G-L

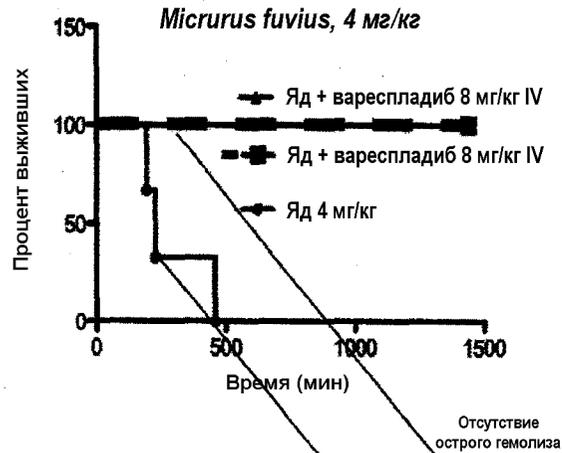
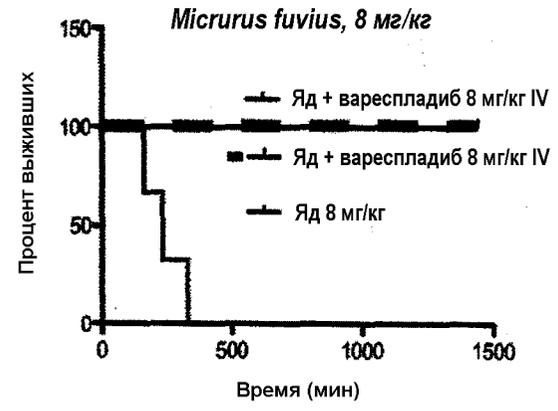
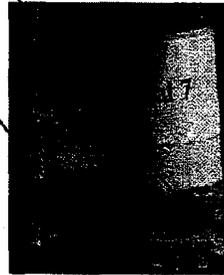


Фиг. 5M-R

Воздействие яда арлекинового кораллового аспида на мышей/крыс



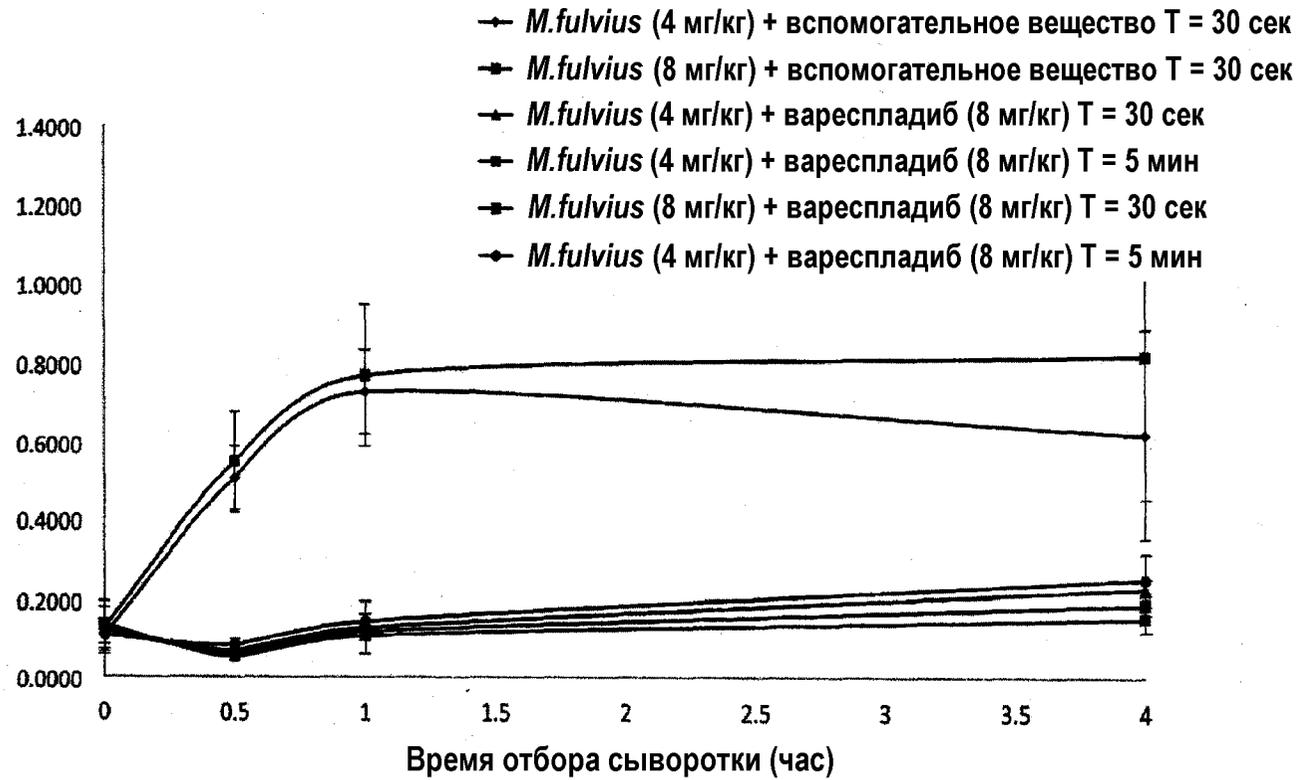
Фиг. 6А-Д

**E****F****G**

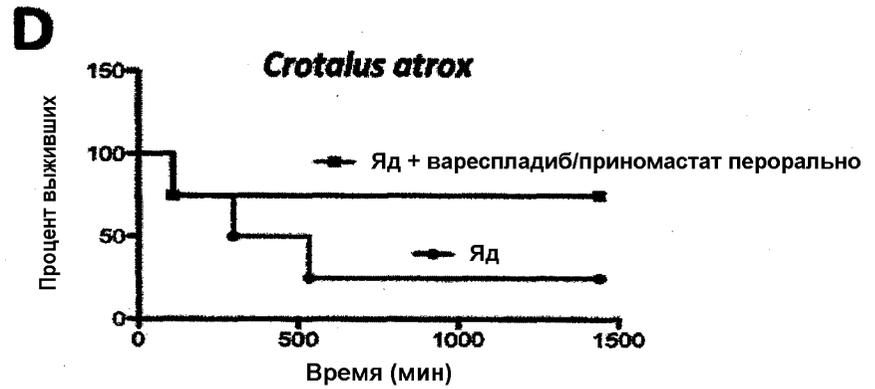
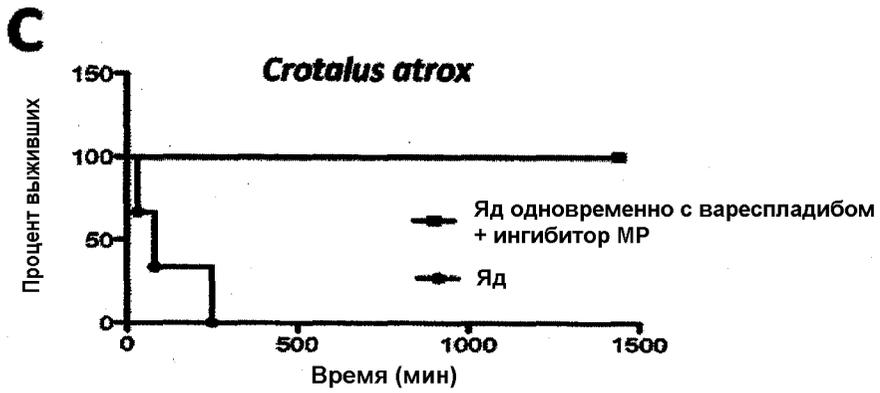
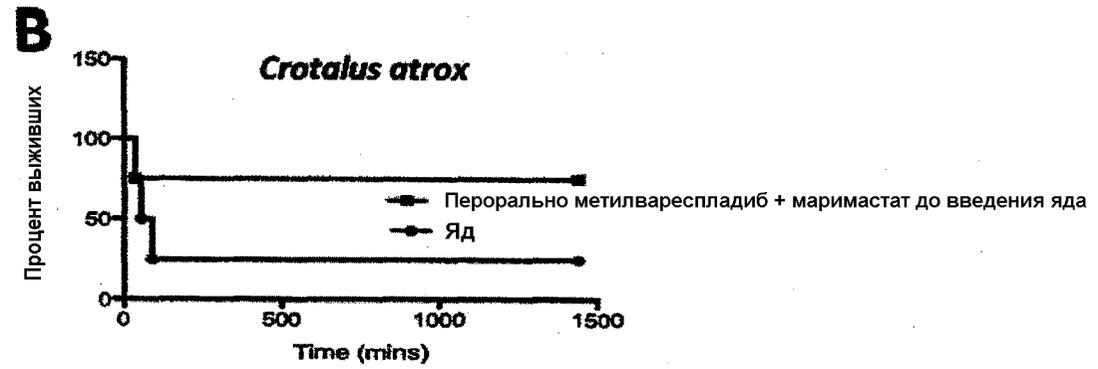
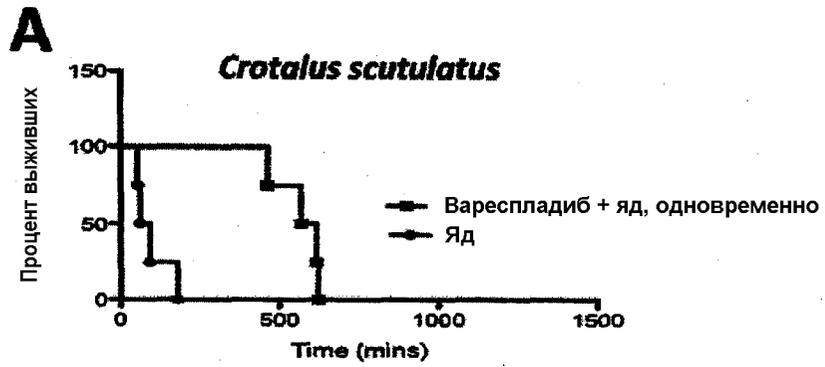
Фиг. 6E-G

**Н**

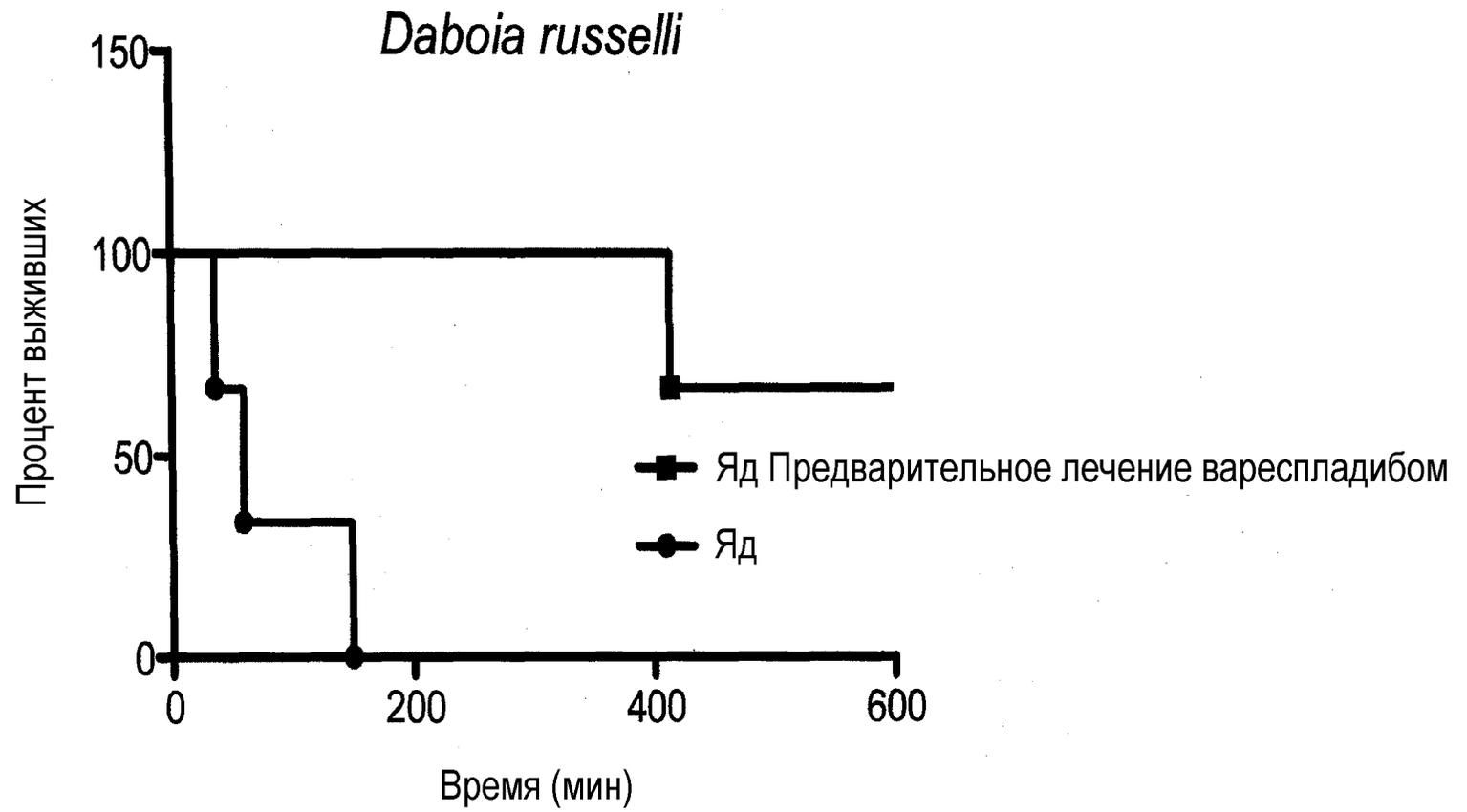
Средняя активность sSPLA2 (микромоль/мин/мл)



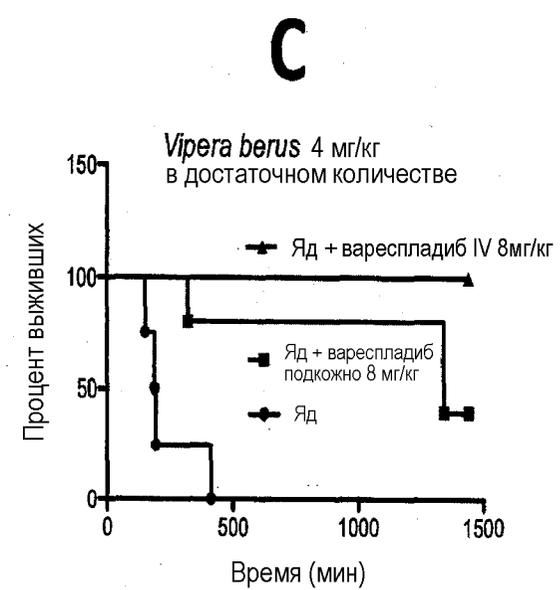
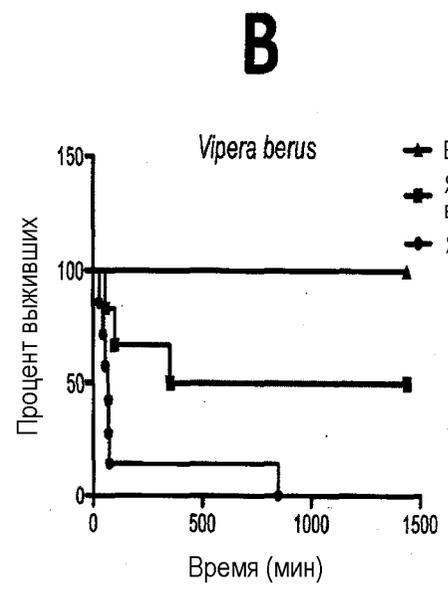
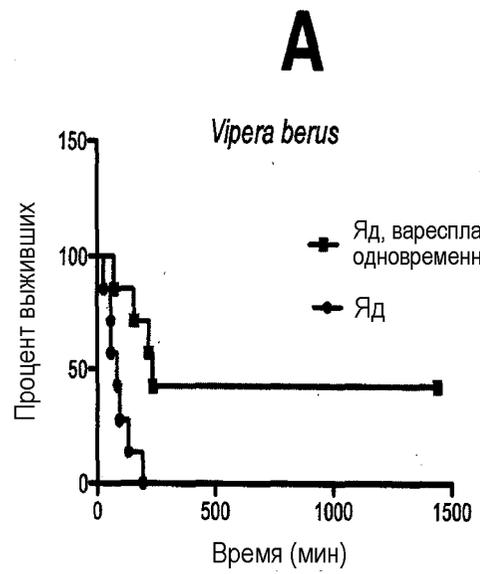
Фиг. 6Н



Фиг. 7

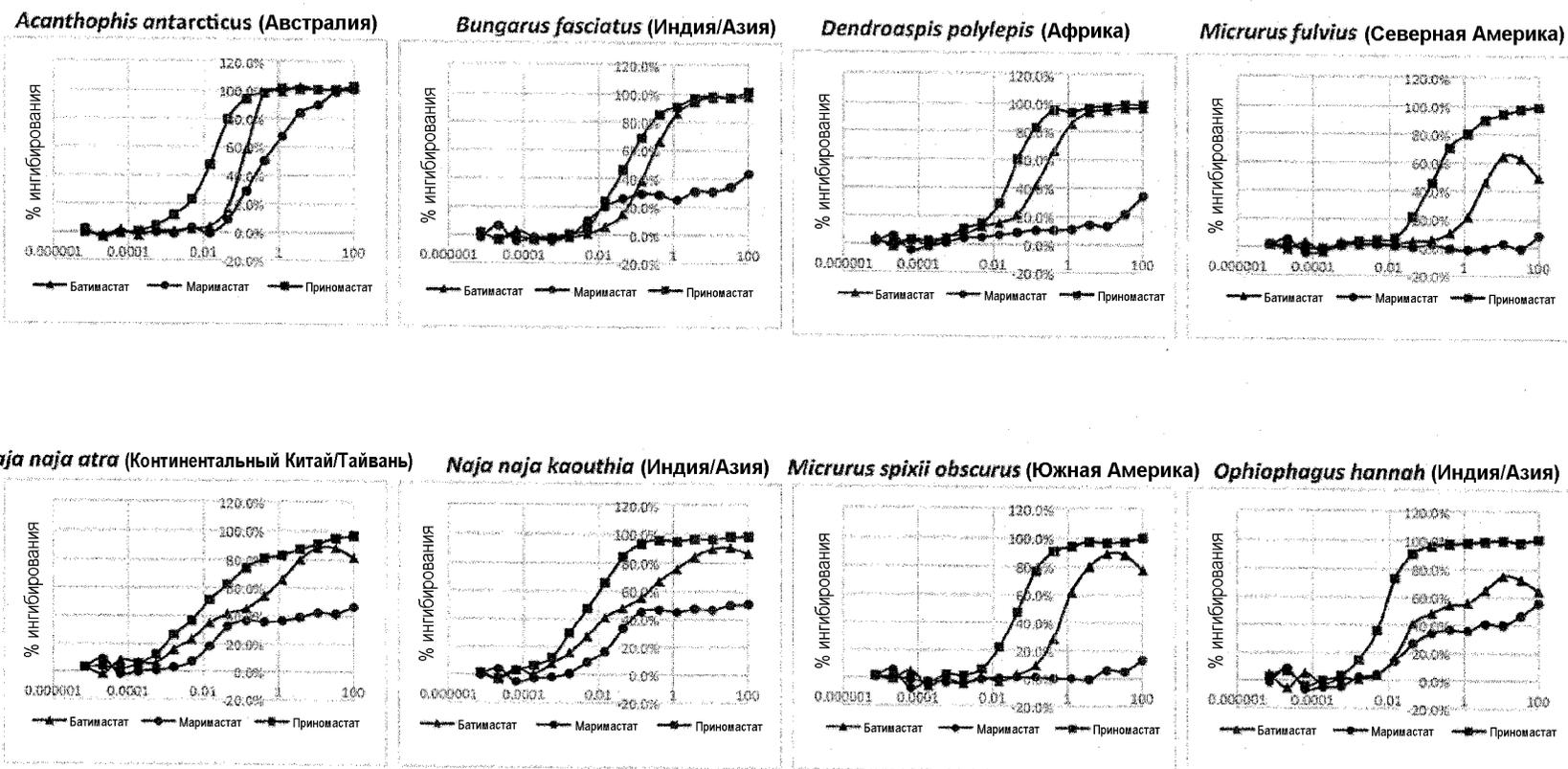


Фиг. 8

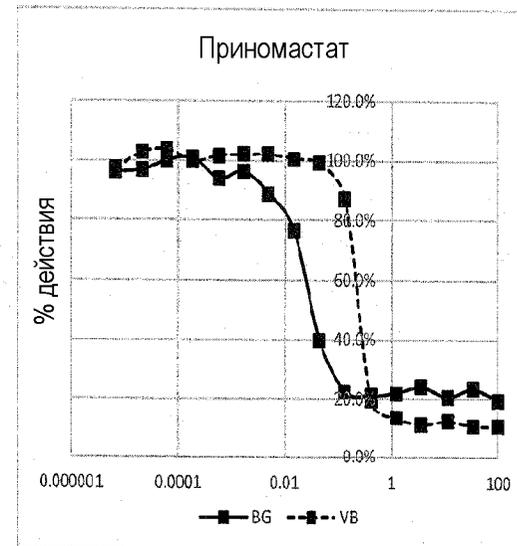
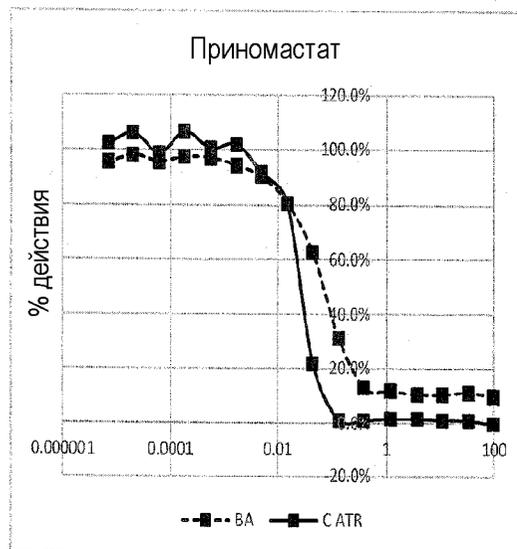
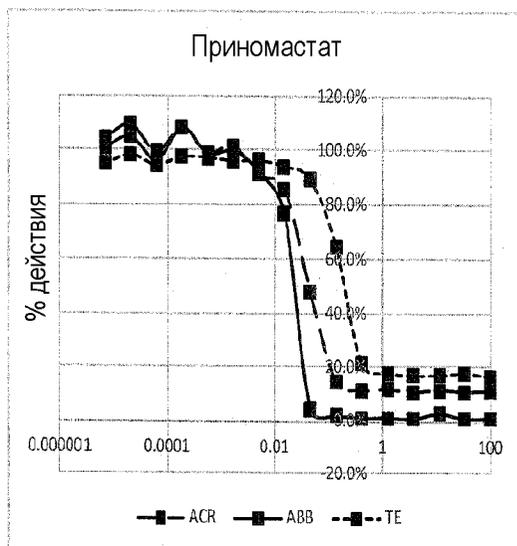


Фиг. 9

Ингибирование приномастатом, батимастатом ядов семейства аспидовых *in vitro*



Фиг. 10



**Азия/Юго-Восточная Азия/Япония/Корея**

**Северная и Южная Америка**

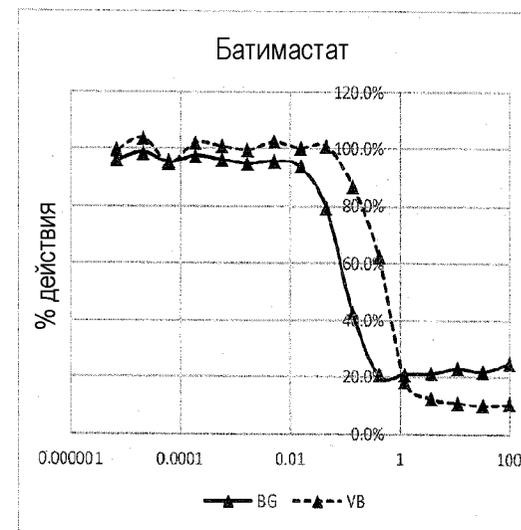
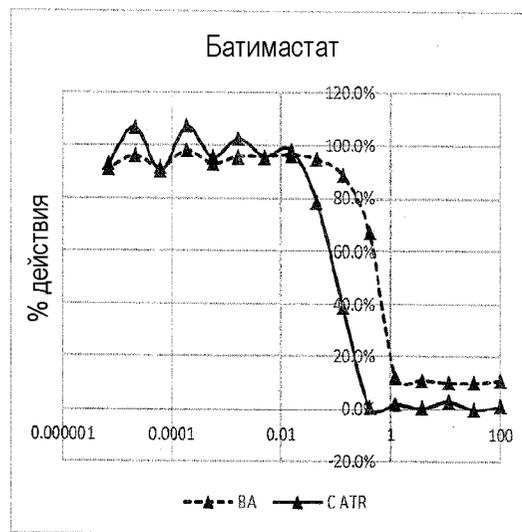
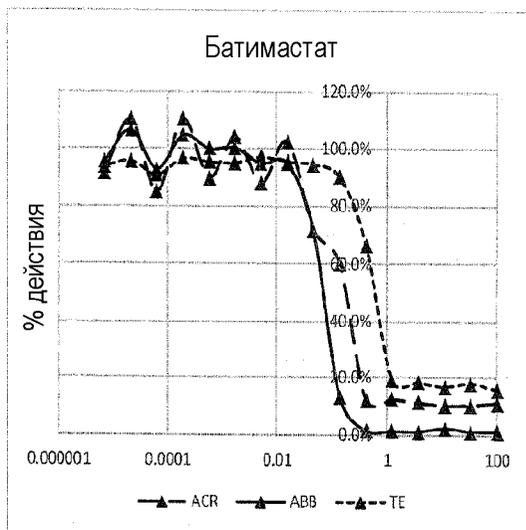
**Африка/Европа**

ACR = *Agkistrodon calloselasma rhodostoma*  
 ABB = *Agkistrodon blomhoffii brevicaudus*  
 TE = *Trimeresurus elegans (Protobothrops)*

BA = *Bothrops asper*  
 CA = *Crotalus atrox*

BG = *Bitis gabonica*  
 VB = *Vipera berus*

**Фиг. 11**



Азия/Юго-Восточная Азия/Япония/Корея

Северная и Южная Америка

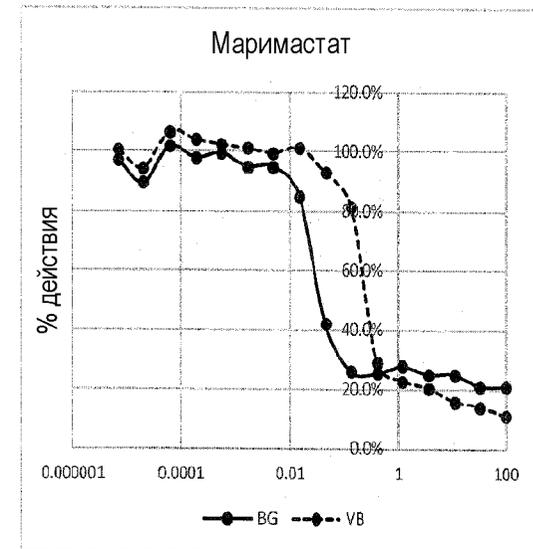
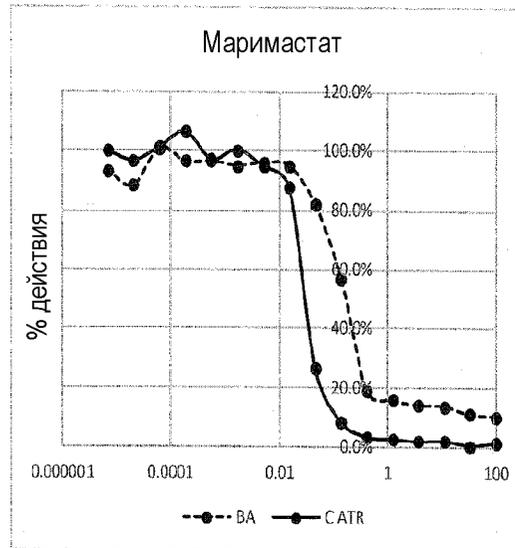
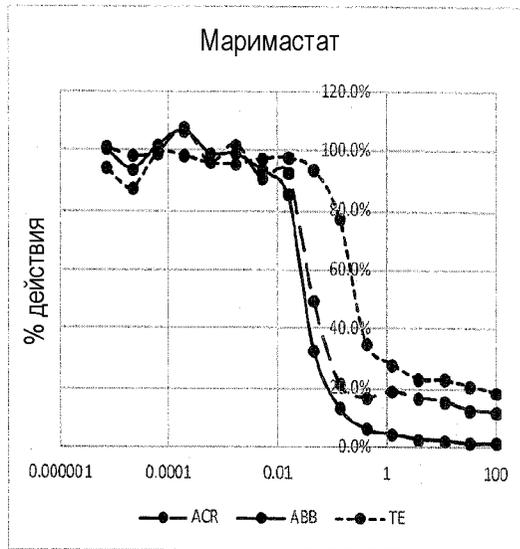
Африка/Европа

ACR = *Agkistrodon calloselasma rhodostoma*  
 ABB = *Agkistrodon blomhoffii brevicaudus*  
 TE = *Trimeresurus elegans (Protobothrops)*

BA = *Bothrops asper*  
 CA = *Crotalus atrox*

BG = *Bitis gabonica*  
 VB = *Vipera berus*

Фиг. 12



**Азия/Юго-Восточная Азия/Япония/Корея**

**Северная и Южная Америка**

**Африка/Европа**

ACR = *Agkistrodon calloselasma rhodostoma*  
 ABB = *Agkistrodon blomhoffii brevicaudus*  
 TE = *Trimeresurus elegans (Protobothrops)*

BA = *Bothrops asper*  
 CA = *Crotalus atrox*

BG = *Bitis gabonica*  
 VB = *Vipera berus*

**Фиг. 13**

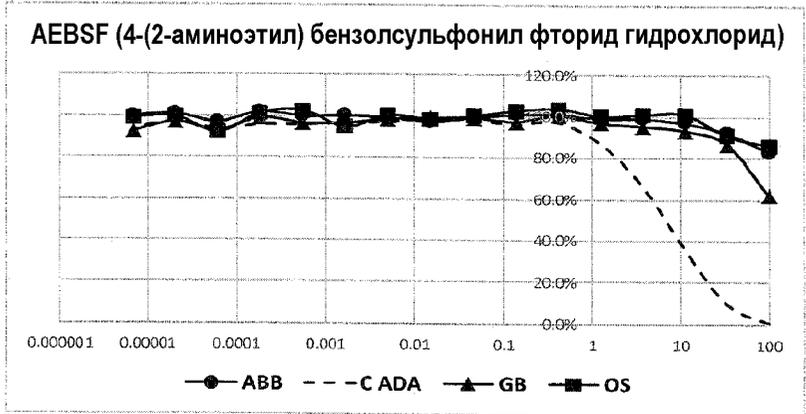
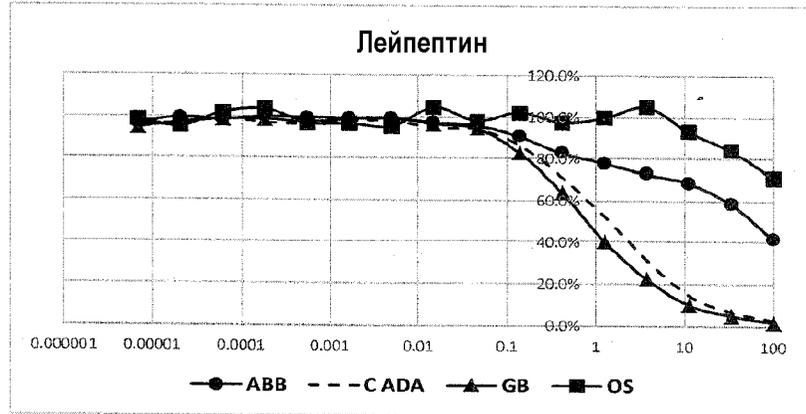
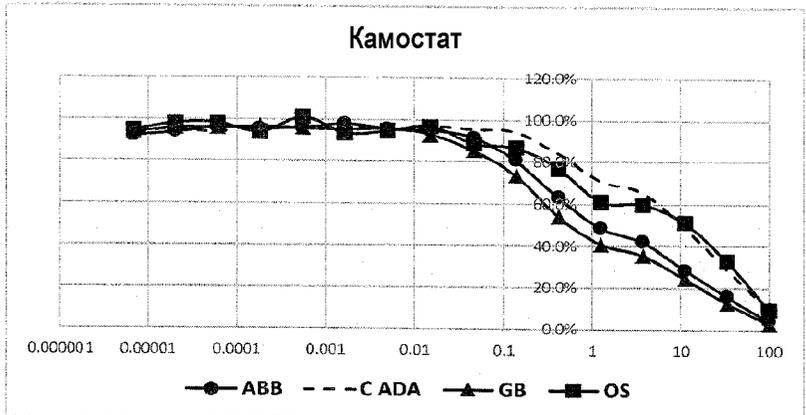
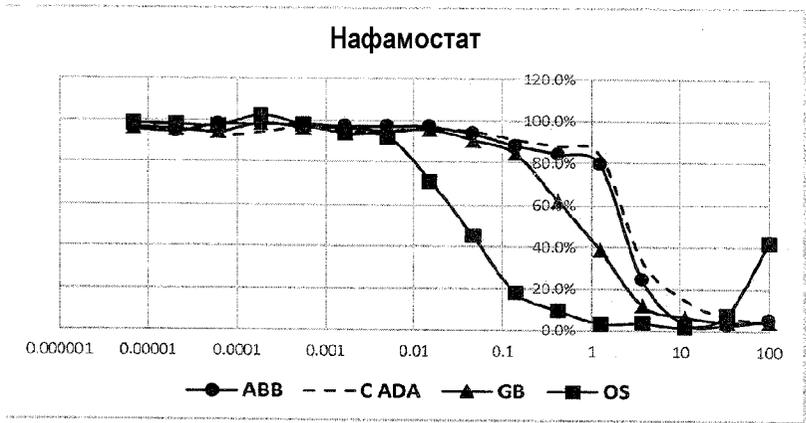


ABB = *Agkistrodon blomhoffii brevicaudus*; CADA = *Crotalus adamanteus*; GB = *Gloydius brevicaudus* (Копея); OS = *Oxyuranus scutulatus*

Фиг. 14

**Вареспладиб** обладает исключительно широким спектром и активностью против многочисленных ядов важной с медицинской точки зрения, *in vitro*. IC<sub>50</sub> (мкМ) основана на анализах по ингибированию sPLA2 в соответствии с детальным описанием, приведенном в Примере 2.

Яд	R-квадрат	IC50 мкМ
<i>Acanthophis antarcticus</i>	0.994	0.0006
<i>Agkistrodon blomhoffii brevicaudus</i>	0.997	0.0005
<i>Agkistrodon contortrix</i>	0.985	0.0002
<i>Agkistrodon piscivorus</i>	0.991	0.0003
Пчелиный яд, контроль	0.948	13.25
<i>Bitis gabonica</i>	0.982	0.0003
<i>Bothrops asper</i>	0.990	0.0001
<i>Bothrops jararaca</i>	0.994	0.0002
<i>Bungarus caeruleus</i>	0.996	0.0001
<i>Crotalus adamanteus</i>	0.993	0.0002
<i>Crotalus atrox</i>	0.986	0.0003
<i>Crotalus durissus terrificus</i>	0.998	0.005
<i>Crotalus scutulatus scutulatus</i>	0.992	0.002
<i>Dendroaspis polylepis</i>	0.962	~0.0001
<i>Echis carinatus</i>	0.996	0.00006
<i>Laticauda semifasciata</i>	0.991	0.00006
<i>Micrurus fulvius</i>	0.998	0.001
<i>Naja naja atra</i>	0.975	0.0008
<i>Naja naja kaouthia</i>	0.995	0.00005
<i>Naja naja naja</i>	0.999	0.001
<i>Notechis scutatus scutatus</i>	0.959	0.00006
<i>Ophiophagus hannah</i>	0.999	0.003
<i>Oxyuranus scutellatus</i>	0.997	0.001
<i>Pseudechis australis</i>	0.997	0.003
<i>Vipera berus</i>	0.997	0.00002
<i>Vipera russelli</i>	0.999	0.0006

Фиг. 15 (Таблица 3)

Метилвареспладиб (перорально доступное пролекарство вареспладиба) обладает исключительно высокой активностью против яда нескольких видов змей, *in vitro*. IC<sub>50</sub> (мкМ) основана на анализах по ингибированию sPLA2 в соответствии с детальным описанием, приведенном в Примере 2, и позволяет предположить создание оригинальной стратегии по лечению змеиных укусов непосредственно после укуса змеи.

Яд	R-квадрат	IC50 мкМ
<b><i>Agkistrodon blomhoffii breviceaudus</i></b>	0.996	0.04
Пчелиный яд	неизвестное	неизвестное
<b><i>Bungarus caeruleus</i></b>	0.999	0.02
<b><i>Bungarus fasciatus</i></b>	0.985	0.02
<b><i>Crotalus adamanteus</i></b>	0.997	0.02
<b><i>Crotalus atrox</i></b>	0.996	0.04
<b><i>Crotalus durissus terrificus</i></b>	0.994	0.26
<b><i>Crotalus scutulatus scutulatus</i></b>	0.994	0.21
<b><i>Dendroaspis polylepis</i></b>	0.973	0.02
<b><i>Echis carinatus</i></b>	0.998	0.01
<b><i>Laticauda semifasciata</i></b>	0.950	0.02
<b><i>Micrurus fulvius</i></b>	0.998	0.08
<b><i>Naja naja atra</i></b>	0.970	0.01
<b><i>Naja naja kaouthia</i></b>	0.988	0.02
<b><i>Naja naja naja</i></b>	0.997	0.02
<b><i>Notechis scutatus scutatus</i></b>	0.964	0.03
<b><i>Ophiophagus hannah</i></b>	0.996	0.01
<b><i>Oxyuranus scutellatus</i></b>	0.989	0.01
<b><i>Pseudechis australis</i></b>	0.987	0.09
<b><i>Vipera berus</i></b>	0.975	0.03
<b><i>Vipera russelli (Daboia)</i></b>	0.993	0.02

Фиг. 16 (Таблица 4)

Приномастат обладает более широким спектром действия против металлопротеиназ яда по сравнению со спектром действия, о котором сообщалось ранее. IC<sub>50</sub> (мкМ) основана на анализах по ингибированию ММР в соответствии с детальным описанием, приведенном в Примере 2. Предусматривается, что приномастат может быть скомбинирован с вареспладибом для парентерального введения или метилвареспладибом для перорального введения, и может быть создана эффективная стратегия для безыгольного лечения непосредственно после укуса змеи.

Яд	R-квадрат	IC50 мкМ
<i>Agkistrodon blomhoffii brevipaudus</i>	0.997	0.02
<i>Agkistrodon contortrix</i>	0.983	0.06
<i>Agkistrodon piscivorus</i>	0.986	0.02
<i>Bitis gabonica</i>	0.997	0.03
<i>Bothrops asper</i>	0.998	0.06
<i>Bothrops jararaca</i>	0.998	0.05
<i>Crotalus adamanteus</i>	0.995	0.12
<i>Crotalus atrox</i>	0.98	0.02
<i>Crotalus durissus terrificus</i>	0.994	0.01
<i>Crotalus scutulatus scutulatus</i>	0.921	0.002
<i>Echis carinatus</i>	0.953	0.02
<i>Gloydius brevipaudus</i>	0.987	0.03
<i>Micrurus fulvius</i>	0.982	0.12
<i>Naja naja naja</i>	0.999	0.1
<i>Pseudechis australis</i>	0.999	1.3
<i>Trimeresurus elegans</i>	0.998	0.16
<i>Vipera berus</i>	0.999	0.22
<i>Vipera russelli</i>	0.98	0.16

Фиг. 17 (Таблица 5)

Маримастат обладает более широким спектром действия против металлопротеиназ яда по сравнению со спектром действия, о котором сообщалось ранее. IC<sub>50</sub> (мкМ) основана на анализах по ингибированию MMP в соответствии с детальным описанием, приведенном в Примере 2. Предусматривается, что введение маримастата может быть стратегически скомбинировано с вареспладибом для парентерального введения или метилвареспладибом для перорального введения, и может быть создана эффективная стратегия для безыгольного лечения непосредственно после укуса змеи.

Яд	R-квадрат	IC50 мкМ
<i>Agkistrodon blomhoffii brevicaudus</i>	0.997	0.04
<i>A. calloselasma rhodostoma</i>	0.992	0.04
<i>Agkistrodon contortrix</i>	0.968	0.06
<i>Agkistrodon piscivorus</i>	0.959	0.04
<i>Bitis gabonica</i>	0.993	0.03
<i>Bothrops asper</i>	0.994	0.14
<i>Bothrops jararaca</i>	0.994	0.06
<i>Crotalus adamanteus</i>	0.985	0.16
<i>Crotalus atrox</i>	0.997	0.03
<i>Crotalus durissus terrificus</i>	0.996	0.01
<i>Echis carinatus</i>	0.92	0.04
<i>Naja naja naja</i>	0.995	0.13
<i>Trimeresurus elegans</i>	0.993	0.22
<i>Vipera berus</i>	0.991	0.22
<i>Vipera russelli</i>	0.989	0.23

Фиг. 18 (Таблица 6)

Батимастат обладает более широким спектром действия против металлопротеиназ змеиного яда по сравнению со спектром действия, о котором сообщалось ранее. IC<sub>50</sub> (мкМ) основана на анализах по ингибированию ММР в соответствии с детальным описанием, приведенном в Примере 2. Предусматривается, что введение батимастата может быть стратегически скомбинировано с вареспладибом для парентерального введения в качестве эффективной стратегии для лечения укусов змей.

Яд	R-квадрат	IC50 мкМ
<i>Acanthophis antarcticus</i>	0.999	1.21
<i>Agkistrodon blomhoffii breviceaudus</i>	0.999	0.03
<i>Agkistrodon piscivorus</i>	0.974	0.056
<i>Bitis gabonica</i>	0.998	0.084
<i>Crotalus adamanteus</i>	0.995	0.460
<i>Crotalus atrox</i>	0.961	0.031
<i>Crotalus durissus terrificus</i>	0.977	0.023
<i>Crotalus scutulatus scutulatus</i>	0.958	0.004
<i>Echis carinatus</i>	0.959	0.075
<i>Micrurus fulvius</i>	0.979	0.056
<i>Trimeresurus elegans</i>	0.998	0.49
<i>Vipera berus</i>	0.996	0.45

Фиг. 19 (Таблица 7)

Воринонат, иломастат, габексат, нафамостат обладают более широким спектром действия против металлопротеиназ змеиного яда по сравнению со спектром действия, о котором сообщалось ранее. Стоит отметить, что синтетические ингибиторы протеазы габексат и нафамостат оказывают значительный эффект на активность металлопротеиназ яда некоторых змей.  $IC_{50}$  (мкМ) основана на анализах по ингибированию ММР в соответствии с детальным описанием, приведенном в Примере 2. Предусматривается, что данные препараты вводятся парентерально или перорально по отдельности или в комбинации с терапией с использованием вареспладиба для эффективного лечения укусов змей.

<b>Воринонат</b>		
<b>Яд</b>	<b>R-квадрат</b>	<b>IC50 мкМ</b>
<i>Agkistrodon blomhoffii breviceaudus</i>	0.971	20.0
<i>Agkistrodon contortrix</i>	0.89	22.2
<i>Agkistrodon piscivorus</i>	0.942	27.0
<i>Bitis gabonica</i>	0.986	10.9
<i>Bothrops asper</i>	0.992	4.5
<i>Crotalus adamanteus</i>	0.798	25.6
<i>Crotalus atrox</i>	0.991	15.8
<i>Crotalus durissus terrificus</i>	0.98	24.89
<i>Echis carinatus</i>	0.885	21.5
<i>Gloydius breviceaudus</i>	0.947	25.3
<i>Trimeresurus elegans</i>	0.984	38.0
<i>Vipera berus</i>	0.991	22.3
<b>Габексат</b>		
<i>Agkistrodon blomhoffii breviceaudus</i>	0.996	6.6
<i>Agkistrodon contortrix</i>	0.932	11.95
<i>Agkistrodon piscivorus</i>	0.952	1.4
<i>Bothrops jararaca</i>	0.996	18.5
<i>Crotalus adamanteus</i>	0.995	1.6
<i>Crotalus durissus terrificus</i>	0.96	0.25
<i>Echis carinatus</i>	0.995	3.2
<i>Gloydius breviceaudus</i>	0.999	2.63
<i>Gloydius breviceaudus(2)</i>	0.993	1.21
<i>Oxyuranus scutellatus</i>	0.993	10.4
<b>Нафамостат</b>		
<i>Agkistrodon blomhoffii breviceaudus</i>	0.992	2.28
<i>Agkistrodon piscivorus</i>	0.978	114.8
<i>Bothrops jararaca</i>	0.995	4.33
<i>Crotalus adamanteus</i>	0.995	2.69
<i>Crotalus atrox</i>	0.896	37.2
<i>Crotalus durissus terrificus</i>	0.96	3.4
<i>Echis carinatus</i>	0.999	5.7
<i>Gloydius breviceaudus</i>	0.979	1.05
<i>Oxyuranus scutellatus</i>	0.953	0.030

Фиг. 20 (Таблица 8)