

(12) МЕЖДУНАРОДНАЯ ЗАЯВКА, ОПУБЛИКОВАННАЯ В  
СООТВЕТСТВИИ С ДОГОВОРом О ПАТЕНТНОЙ КООПЕРАЦИИ (РСТ)

(19) Всемирная Организация  
Интеллектуальной Собственности  
Международное бюро

(43) Дата международной публикации  
02 июля 2020 (02.07.2020)



(10) Номер международной публикации  
**WO 2020/139163 A2**

- (51) Международная патентная классификация:  
Неклассифицировано
- (21) Номер международной заявки: PCT/RU2019/001031
- (22) Дата международной подачи:  
26 декабря 2019 (26.12.2019)
- (25) Язык подачи: Русский
- (26) Язык публикации: Русский
- (30) Данные о приоритете:  
2018147078 27 декабря 2018 (27.12.2018) RU
- (71) Заявитель: **ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ "ПРОЛОНГИРОВАННЫЕ ЛЕКАРСТВА" (OBSHCHESTVO S OGRANICHENNOI OTVETSTVENNOSTYU "PROLONGIROVANNYE LEKARSTVA")** [RU/RU]; тер. Сколково инновационного центра, ул. Луговая, 4, стр. 1, этаж 1, часть пом. 4, Москва, 143026, Moscow (RU).
- (72) Изобретатели: **БИБИЛАШВИЛИ, Роберт Шалвович (BIBILASHVILI, Robert Shalvovich)**; Кутузовский пр-кт, 43, кв. 85, Москва, 121170, Moscow (RU). **КОНОНОВ, Александр Васильевич (KONONOV, Alexandr Vasilievich)**; ул. Коммунальная, 42, кв. 40, г. Королев, Московская обл., 141075, g. Korolev (RU). **КРАВЧЕНКО, Алексей Викторович (KRAVCHENKO, Alexei Viktorovich)**; ул. Менжинского, 15, корп. 2, кв. 38, Москва, 129327, Moscow (RU). **ХАНДАЖИНСКАЯ, Анастасия Львовна (KHANDAZHINSKAYA, Anastasia Lvovna)**; ул. 3-я Фрунзенская, 12, кв. 27, Москва, 119146, Moscow (RU). **СИМОНЯН, Алина Руслановна (SIMONYAN, Alina Ruslanovna)**; ул. 1-я Дубровская, 1а, кв. 34, Москва, 109044, Moscow (RU).
- (74) Агент: **МЕСЯШНАЯ, Наталия Витальевна (MESYASHNAYA, Natalia Vitalievna)**; а/я 31, Москва, 115580, Moscow (RU).
- (81) Указанные государства (если не указано иначе, для каждого вида национальной охраны): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) Указанные государства (если не указано иначе, для каждого вида региональной охраны): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), евразийский (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), европейский патент (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Опубликована:**

— без отчёта о международном поиске и с повторной публикацией по получении отчёта (правило 48.2(g))

(54) Title: COMBINATION OF ANTIVIRAL AGENTS, KIT AND TREATMENT METHOD BASED ON SAME

(54) Название изобретения: КОМБИНАЦИЯ ПРОТИВОВИРУСНЫХ СРЕДСТВ, НАБОР И СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ НА ЕЕ ОСНОВЕ

(57) Abstract: The group of inventions relates to the field of medicine and the pharmaceutical industry, and specifically to a combination for treatment of an HIV infection, comprising (i) an ammonia salt of 5-aminocarbonylphosphonate-3-azido-3-desoxythymidine and (ii) an analogue of cytidine selected from emtricitabine and lamivudine in a mass ratio of agent (i) to agent (ii) of from 250:1 to 1:250; to a kit which includes said combination and instructions for use thereof; and also to a method for treating an HIV infection in a mammal, including a human, by administering a therapeutically effective amount of the proposed combination to the mammal in need thereof. The group of inventions broadens the range of combined antiviral preparations for treating HIV infections and also increases the effectiveness of such treatment.

(57) Реферат: Группа изобретений относится к области медицины и фармацевтической промышленности, а именно к комбинации для лечения ВИЧ-инфекции, содержащей (i) аммониевую соль 5-аминокарбонилфосфонат-3-азидо-3-дезокситимидина и (ii) аналог цитидина, выбранный из эмтрицитабина и ламивудина, при массовом соотношении агента (i) к агенту (ii) от 250:1 до 1:250; к набору, включающему указанную комбинацию и инструкцию по ее применению; а также к способу лечения ВИЧ-инфекции у млекопитающего, в том числе у человека, путем введения млекопитающему, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества предложенной комбинации. Группа изобретений обеспечивает расширение арсенала комбинированных противовирусных препаратов для лечения ВИЧ-инфекции, а также повышение эффективности такого лечения.



WO 2020/139163 A2

## КОМБИНАЦИЯ ПРОТИВОВИРУСНЫХ СРЕДСТВ, НАБОР И СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ НА ЕЕ ОСНОВЕ

### *Область техники*

Изобретение относится к области медицины и фармацевтической промышленности и предназначено для лечения вирусных инфекций.

Более конкретно, изобретение касается комбинированного противовирусного средства, обладающего активностью против ВИЧ, а именно предложены комбинации аммониевой соли 5'-аминокарбонилфосфонат-3'-азидо-3'-дезокситимидина (6НР) с эмтрицитабином (FTC) или с ламивудином (ЗТС).

### *Предшествующий уровень техники*

ВИЧ-инфекция – длительно текущая инфекционная болезнь, развивающаяся в результате инфицирования вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ). При ВИЧ-инфекции прогрессирует поражение иммунной системы, приводящее к состоянию, известному под названием «синдром приобретенного иммунного дефицита» (СПИД), при котором у больного развиваются «оппортунистические заболевания»: тяжелые формы инфекций, вызванных условно-патогенными возбудителями, и некоторые онкологические заболевания.

Зараженный человек остается источником инфекции пожизненно. ВИЧ-инфекция без лечения прогрессирует в течение 3-10 лет и заканчивается гибелью зараженного лица.

Разнообразие клинических проявлений ВИЧ-инфекции и возникающих на ее фоне оппортунистических заболеваний, длительное течение болезни сделало актуальным разработку лекарственных препаратов для лечения ВИЧ-инфицированных и больных СПИДом. В настоящее время известны следующие группы препаратов: нуклеозидные, нуклеотидные и ненуклеозидные ингибиторы вирусной обратной транскриптазы; протеазные и интегразные ингибиторы; ингибиторы фузии. В разработке находится ряд соединений, активных в отношении других участков жизнедеятельности ВИЧ.

Наиболее широкое применение нашли нуклеозидные ингибиторы вирусной обратной транскриптазы. В их числе: зидовудин (АЗТ), ламивудин (ЗТС), эмтрицитабин (FTC), диданозин (DDI), фосфазид, тенофовир (ТДФ) и другие.

Необходимость длительного, практически пожизненного применения препаратов приводит к токсическим проявлениям и развитию лекарственной устойчивости вируса (резистентности). По некоторым данным резистентность к зидовудину (АЗТ) развивается

через 6 инфекционных циклов, к ламивудину (ЗТС) – через 4 инфекционных цикла, к фосфазиду – через 10 инфекционных циклов [Machardo J. et al. *Antiviral activity and resistance profile of phosphazide, a novel prodrug of AZT / Nucleosides & Nucleotides, 1999, V.18, pp.901-906*]. Использование комбинаций противовирусных препаратов позволяет более эффективно подавлять ВИЧ за счет воздействия на разные участки вируса. Так, в некоторых исследованиях [патент RU 2139059 C1, опублик. 10.10.1999; патент RU 2331420 C2, опублик. 20.08.2008, Perez-Olmeda M. et al. *In vitro analysis of synergism and antagonism of different nucleoside/nucleotide analogue combinations on the inhibition of human immunodeficiency virus type 1 replication / Journal of Medical Virology, 2009, V.81, pp.211-216*] было показано, что ламивудин (ЗТС) или его фторированный аналог эмтрицитабин (ФТС) в сочетании с зидовудином или фосфазидом, или абакавиром, или тенофовиром либо усиливают действие второго компонента (синергический эффект), либо снижают цитотоксическое действие второго компонента, либо обладают и тем и другим из указанных свойств. Однако каждая из применяемых комбинаций имеет свои недостатки.

К недостаткам комбинации ламивудина с абакавиром можно отнести:

- развитие реакции гиперчувствительности замедленного типа на абакавир [Покровский В.В. и др. *Протоколы диспансерного наблюдения и лечения больных ВИЧ-инфекцией / Эпидемиология и инфекционные болезни, 2014, №6, 43 с.*];

- отсутствие синергического эффекта [Perez-Olmeda M. et al. *In vitro analysis of synergism and antagonism of different nucleoside/nucleotide analogue combinations on the inhibition of human immunodeficiency virus type 1 replication / Journal of Medical Virology, 2009, V.81, pp.211-216*].

К недостаткам комбинации эмтрицитабина с тенофовиром можно отнести:

- высокую нефротоксичность и нарушение минерализации костных тканей [Покровский В.В. и др. *Протоколы диспансерного наблюдения и лечения больных ВИЧ-инфекцией / Эпидемиология и инфекционные болезни, 2014, №6, 43 с.*].

Недостатками комбинации ламивудина с зидовудином являются [Покровский В.В. и др. *Протоколы диспансерного наблюдения и лечения больных ВИЧ-инфекцией / Эпидемиология и инфекционные болезни, 2014, №6, 43 с.*]:

- токсичность, проявляющаяся в основном в развитии анемии, нейтропении и лейкопении;

- мутагенный эффект, проявляющийся в способности индуцировать генные мутации у индикаторных микроорганизмов в системе метаболической активации *in vitro*;

- недостаточная эффективность лечения.

К недостаткам комбинации ламивудина с фосфазидом можно отнести: двукратный прием препаратов, что приводит к недостаточной приверженности к терапии у пациентов и, как следствие, к не очень высокой эффективности лечения [Покровский В.В. и др. *Протоколы диспансерного наблюдения и лечения больных ВИЧ-инфекцией / Эпидемиология и инфекционные болезни, 2014, №6, 43 с.*];

- недостаточно высокий индекс селективности [Khandazhinskaya A.L. et al. *5'-Aminocarbonyl Phosphonates as New Zidovudine Depot Forms: Antiviral Properties, Intracellular Transformations, and Pharmacokinetic Parameters / Drug Metabolism and Disposition, 2009, V.37, N.3, pp.494-501*].

Авторами настоящей заявки было установлено, что замена зидовудина, или абакавира, или тенофовира на аммониевую соль 5'-аминокарбонилфосфонат-3'-азидо-3'-дезокситимидина (БНР) в известных комбинациях с ламивудином или с эмтрицитабином приводит к существенному снижению токсических проявлений, характерных для этих препаратов.

Результаты доклинических испытаний показали, что такой препарат как аммониевая соль 5'-аминокарбонилфосфонат-3'-азидо-3'-дезокситимидина (БНР), в отличие от абакавира, имеет отрицательную реакцию гиперчувствительности замедленного типа [Хандажинская А.Л. и др. *5'-Фосфонаты AZT: достижения и перспективы в лечении и профилактике ВИЧ-инфекции / Acta Naturae, 2013, V.5, N.3, pp.57-65*].

Результаты доклинических испытаний острой токсичности на мышях линии BALB и крысах Вистар показали, что БНР является малотоксичным препаратом [Хандажинская А.Л. и др. *5'-Фосфонаты AZT: достижения и перспективы в лечении и профилактике ВИЧ-инфекции / Acta Naturae, 2013, V.5, N.3, pp.57-65; Galegov G.A. Nikavir (phosphazide), an antiretroviral agent: anti-hiv activity, toxicology, pharmacokinetics and some perspectives of its clinical use / Антибиотики и Химиотерапия, 2004, Т.49, №7, с.3-8*]. Средняя летальная доза (LD<sub>50</sub>) при внутрибрюшинном введении мышам составила для БНР  $\geq 5$  г/кг, для фосфазида 2,3 г/кг, при внутривенном введении крысам – более 40 г/кг для БНР и 13 г/кг для фосфазида.

Препарат БНР, в отличие от зидовудина, не проявил мутагенного эффекта, проявляющегося в способности индуцировать генные мутации у индикаторных микроорганизмов в системе метаболической активации *in vitro* (тест Эймса) [Хандажинская А.Л. и др. *5'-Фосфонаты AZT: достижения и перспективы в лечении и профилактике ВИЧ-инфекции / Acta Naturae, 2013, V.5, N.3, pp.57-65*].

Также препарат бНР не проявлял токсичности характерной для тенофовира (нефротоксичность и снижения плотности костных тканей) [*Кравченко А.В. и др. Безопасность и переносимость препарата бНР у взрослых ВИЧ-инфицированных больных, ранее не получавших АРВТ / ВИЧ-инфекция и иммуносупрессия, 2015, Т.7, №4, с.64-73*].

На основании результатов определения активности обратной транскриптазы ВИЧ в МТ-4 клетках проведена оценка противовирусного действия бНР. Было обнаружено, что индекс селективности у бНР значительно выше, чем у азидотимидина и фосфазида [*Khandazhinskaya A.L. et al. 5'-Aminocarbonyl Phosphonates as New Zidovudine Depot Forms: Antiviral Properties, Intracellular Transformations, and Pharmacokinetic Parameters / Drug Metabolism and Disposition, 2009, V.37, N.3, pp.494-501*].

Препарат бНР в организме медленно генерирует зидовудин, следовательно, увеличивается время действия бНР и появляется возможность для однократного суточного приема препарата [*Сизова Н.В. и др. Высокоэффективная жидкостная хроматография для подбора оптимальных дозировок и курса лечения лекарственным препаратом бНР группы ингибиторов обратной транскриптазы / Медицинский академический журнал, 2015, Т.15, №4, с.76-81*].

Таким образом, низкая токсичность и однократный суточный прием комбинации, дают возможность повысить приверженность пациентов к лечению и, в конечном счете, улучшить эффективность химиотерапии ВИЧ-инфекции.

Наиболее близким к настоящему изобретению (прототипом) является комбинация фосфазида с ламивудином [*патент RU 2331420 C2, опубл. 20.08.2008*].

Однако, как уже отмечалось выше, недостатками данной комбинации является двукратный суточный прием, невысокая эффективность лечения и недостаточно высокий индекс селективности.

### **Раскрытие изобретения**

Задача настоящего изобретения состояла в разработке комбинированного средства, обладающего активностью в отношении ВИЧ-инфекции, лишённого указанных в прототипе недостатков.

Технический результат, достигаемый настоящим изобретением, заключается в расширении арсенала комбинированных противовирусных препаратов для лечения ВИЧ-инфекции, а также в повышении эффективности такого лечения.

В рамках настоящей заявки было установлено, что замена фосфазида на бНР в известной комбинации с ламивудином приводит к достоверному росту эффективности лечения. В связи с тем, что бНР, как и фосфазид, в организме млекопитающего генерирует зидовудин [Skoblov Y. et al. *Intracellular metabolism and pharmacokinetics of 5'-hydrogenphosphonate of 3'-azido-2', 3'-dideoxythymidine, a prodrug of 3'-azido-2', 3'-dideoxythymidine / Antiviral Research, 2004, V.63, N.2, pp.107-113; Khandazhinskaya A.L. et al. 5'-Aminocarbonyl Phosphonates as New Zidovudine Depot Forms: Antiviral Properties, Intracellular Transformations, and Pharmacokinetic Parameters/Drug Metabolism and Disposition, 2009, V.37, N.3, pp.494-501; Сизова Н.В. и др. Высокоэффективная жидкостная хроматография для подбора оптимальных дозировок и курса лечения лекарственным препаратом бНР группы ингибиторов обратной транскриптазы/ Медицинский академический журнал, 2015, Т.15, №4, с.76-81], его использование в комбинации с ламивудином вместо фосфазида не должно было приводить к указанному преимуществу (повышение эффективности лечения). В клеточных экспериментах бНР показал меньшую эффективность, чем фосфазид [Хандажинская А.Л. и др. 5'-Фосфонаты AZT: достижения и перспективы в лечении и профилактике ВИЧ-инфекции/Acta Naturae, 2013, V.5, N.3, pp.57-65], однако в клинических исследованиях эффективность бНР оказалась выше, чем у фосфазида.*

Таким образом, полученные результаты могут быть отнесены к неожиданным, предсказать которые заранее было невозможно.

Указанный технический результат достигается комбинацией для лечения ВИЧ-инфекции, которая содержит (i) аммониевую соль 5'-аминокарбонилфосфонат-3'-азидо-3'-дезокситимидина (бНР) и (ii) аналог цитидина, выбранный из эмтрицитабина (FTC) и ламивудина (3ТС), при массовом соотношении агента (i) к агенту (ii) от 250:1 до 1:250.

В одном из предпочтительных вариантов осуществления настоящего изобретения массовое соотношение (i) аммониевой соли 5'-аминокарбонилфосфонат-3'-азидо-3'-дезокситимидина и (ii) эмтрицитабина или ламивудина составляет от 1:50 до 50:1, еще более предпочтительно – от 1:10 до 10:1.

Предлагаемая комбинация противовирусных средств может дополнительно содержать фармацевтически приемлемый носитель, и предпочтительно предназначена для перорального введения, например, может быть выполнена в виде таблетки или в виде капсулы, в том числе для размещения в блистерной упаковке.

Комбинация бНР и эмтрицитабина или комбинация бНР и ламивудина может быть предназначена для одновременного или раздельного, например, последовательного

введения. Как и в прототипе, при последовательном введении промежутки времени между введением ингибиторов не должны быть слишком большими. Он может составлять от нескольких минут до 3 часов. Предпочтительным является одновременное введение. Количество бНР, необходимое для лечения, а также выбор между эмтрицитабином и ламивудином может варьироваться в зависимости от способа введения, особенностей протекания ВИЧ-инфекции, возраста и состояния пациента, и может быть определено в каждом конкретном случае лечащим врачом. При этом используемые дозы находятся в пределах от 1 до 250 мг на кг веса в день, предпочтительно в пределах 2-100 мг/кг/день, а наиболее предпочтительно 5-50 мг/кг/день каждого ингибитора.

Технический результат также достигается набором для лечения ВИЧ-инфекции, включающим предложенную комбинацию (i) аммониевой соли 5'-аминокарбонилфосфонат-3'-азидо-3'-дезокситимидина (бНР) и (ii) аналога цитидина, выбранного из эмтрицитабина (FTC) и ламивудина (3ТС), и инструкцию по применению указанной комбинации.

Технический результат, в том числе, достигается способом лечения ВИЧ-инфекции у млекопитающего, в том числе у человека, путем введения млекопитающему, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества комбинации бНР с эмтрицитабином или комбинации бНР с ламивудином.

Используемый в рамках настоящего изобретения термин «лечение» относится к облегчению симптомов конкретного расстройства у пациента или к улучшению определяемого параметра, связанного с конкретным расстройством, и может включать супрессию рецидива симптомов у бессимптомного пациента, например у такого пациента, у которого вирусная инфекция стала латентной. Лечение может включать профилактику, которая относится к предотвращению заболевания или состояния или к предупреждению появления симптомов такого заболевания или состояния у пациента.

Термин «терапевтически эффективное» означает количество агентов (i) и (ii), требующееся для облегчения состояния пациента, как это понимают практикующие врачи в области лечения СПИД и ВИЧ-инфекции. Предпочтительно, цели лечения состоят в подавлении вирусной нагрузки, восстановлении и сохранении иммунологической функции, улучшении качества жизни и уменьшении заболеваемости и смертности, связанных с ВИЧ-инфекцией.

бНР с эмтрицитабином или ламивудином могут быть использованы в терапевтических целях в виде субстанций. Однако предпочтительно введение указанных ингибиторов совместно с фармацевтически приемлемыми носителями.

В качестве фармацевтически приемлемых носителей могут быть использованы различные добавки, используемые при производстве готовых лекарственных форм (таблетки, капсулы, свечи, инфузионные растворы и др.), совместимые с другими ингредиентами препарата и не оказывающие неблагоприятное воздействие на пациента.

В силу свойств молекул бНР, эмтрицитабина и ламивудина, особенностей механизма их воздействия на ВИЧ внутри клеток наибольший интерес представляют препараты для перорального, парентерального и ректального введения. Также препараты могут быть изготовлены любым из известных в фармацевтике способов, которые концептуально включают в себя ряд этапов: смешение и гранулирование ингибиторов с твердыми или жидкими носителями; формирование продукта в виде дискретных унифицированных лекарственных форм.

Для перорального введения могут использоваться таблетки, капсулы, растворы для приема внутрь и другие известные в фармацевтике стандартные лекарственные формы. Таблетки и капсулы могут содержать стандартные наполнители, необходимые как для технологии их изготовления, так и для достижения необходимых качественных и количественных показателей, отвечающих требованиям соответствующей фармакопеи. Примерами наполнителей могут быть лактоза, маннит, крахмалы, модифицированные крахмалы, целлюлоза и ее производные, желатин, стеариновая кислота или ее соли, увлажнители, отдушки, красители.

Пероральные жидкие препараты могут быть изготовлены либо в виде растворов (водные или масляные суспензии, растворы, эмульсии, сиропы и др.), либо в виде сухих продуктов, которые перед непосредственным применением подлежат разведению водой или другими растворителями.

Препараты для парентерального введения (например, для инфузий) могут быть изготовлены в виде стандартных флаконов, ампул, заполненных шприцев и др. Также лекарства должны изготавливаться в условиях стерильности и могут содержать различные консерванты, буферизирующие агенты, стабилизаторы, изотонические агенты. Лиофилизированные формы перед использованием должны смешиваться с апиrogenным стерильным растворителем.

Готовые лекарственные формы для ректального введения могут изготавливаться в виде суппозиторий в унифицированных формах. Также твердые формы изготавливаются, как правило, с использованием подходящего носителя путем смешения ингибитора с твердым или расплавленным носителем с последующим формованием из расплава при охлаждении.



Помимо вышеотмеченного, фармацевтические композиции могут быть изготовлены с использованием модифицированных соединений, приводящих к пролонгированному высвобождению ингибиторов внутри организма.

### *Лучшие варианты осуществления изобретения*

Настоящее изобретение иллюстрируется, но не ограничивается, приводимыми далее примерами.

**Пример 1.** Комбинированное противовирусное средство в форме таблетки

Вариант 1:

6НР	600 мг
Эмтрицитабин	200 мг
Кальция карбонат	200 мг
Стеарат магния	6 мг
Аэросил	3 мг

Вариант 2:

6НР	600 мг
Ламивудин	300 мг
Кальция карбонат	200 мг
Стеарат магния	6 мг
Аэросил	3 мг

**Пример 2.** Набор в виде блистерной упаковки, содержащей два ряда таблеток по 10 штук разного цвета

Вариант 1:

1 ряд – таблетки желтого цвета следующего состава:	
6НР	600 мг
Кальция карбонат	200 мг
Стеарат магния	6 мг
Аэросил	3 мг
Хинолиновый желтый E104	2 мг
2 ряд – таблетки белого цвета следующего состава:	
Эмтрицитабин	200 мг
Крахмал прежелатинизированный	12 мг
Аэросил	2 мг
Кроскармелоза натрия	12 мг
Лактоза	118 мг
Целлюлоза микрокристаллическая	40 мг
Стеарат магния	4 мг

Вариант 2:

1 ряд – таблетки желтого цвета следующего состава:	
6НР	600 мг

Кальция карбонат	55 мг
Целлюлоза микрокристаллическая	18 мг
Аэросил	6 мг
Магния стеарат	6 мг
Хинолиновый желтый Е104	2 мг
2 ряд – таблетки белого цвета следующего состава:	
Ламивудин	300 мг
Лактоза	21 мг
Гидроксипропилметилцеллюлоза	45 мг
Повидон	12 мг
Стеарат магния	2 мг

**Пример 3.** Набор в виде блистерной упаковки, содержащей два ряда капсул по 10 штук разного цвета

Вариант 1:

1 ряд – капсулы желтого цвета следующего состава:	
6НР	200 мг
Кальция карбонат	170 мг
Целлюлоза микрокристаллическая	55 мг
Аэросил	20 мг
2 ряд – капсулы белого цвета следующего состава:	
Эмтрицитабин	200 мг
Целлюлоза микрокристаллическая	137,75 мг
Кросповидон	7 мг
Повидон	3,5 мг
Лактоза	85 мг
Стеарат магния	1,75 мг

Вариант 2:

1 ряд – капсулы желтого цвета следующего состава:	
6НР	200 мг
Кальция карбонат	170 мг
Целлюлоза микрокристаллическая	55 мг
Аэросил	20 мг
2 ряд – капсулы белого цвета следующего состава:	
Ламивудин	150 мг
Лактоза	85 мг
Аэросил	20 мг

**Пример 4.** Комбинированное противовирусное средство в форме раствора для инъекций

Вариант 1:

бНР	20 мг
Эмтрицитабин	200 мг
Бензиловый спирт	100 мг
Глюкофузол 75	1000 мг
Вода для инъекций	до 3 мл

Вариант 2:

бНР	20 мг
Ламивудин	200 мг
Бензиловый спирт	100 мг
Глюкофузол 75	1000 мг
Вода для инъекций	до 3 мл

**Пример 5.** Комбинированное противовирусное средство в форме свечей

Вариант 1:

бНР	500 мг
Эмтрицитабин	2 мг
Витепсол	1498 мг

Вариант 2:

бНР	500 мг
Ламивудин	2 мг
Витепсол	1498 мг

**Пример 6.** Клиническое изучение схем, содержащих бНР и ламивудин (II фаза)

Было проведено многоцентровое, рандомизированное, частично слепое клиническое исследование II фазы по эффективности и безопасности препарата бНР в сравнении с препаратом фосфазид на фоне стандартной терапии, состоящей из ламивудина и эфавиренза, у ВИЧ-инфицированных больных, ранее не получавших антиретровирусной терапии.

ВИЧ-инфицированные пациенты (125 человек) были рандомизированы в соотношении 1:1:1:1 в одну из групп приема препарата бНР (с дозами в 600 мг, 800 мг, 1000 мг и 1200 мг один раз в день) или в группу сравнения, принимающую Фосфазид (Ф-АЗТ) (400 мг два раза в день). Стандартная терапия была одинаковой у всех пяти групп и включала в себя 150 мг ламивудина 2 раза в сутки и 600 мг эфавиренза один раз в день.

Период исследуемой терапии длился 24 недели. Были предусмотрены визиты на 1-й, 2-й, 4-й, 8-й, 12-й, 16-й и 24-й неделе от начала исследования для оценки параметров безопасности и эффективности проводимой терапии.

В единственном случае у пациента было отмечено нежелательное явление, связанное с применением бНР или ламивудина и потребовавшее вывод из исследования – у пациента в группе с максимальной дозой бНР (1200 мг) наблюдалось снижение уровня

гемоглобина в крови до 75 г/л. Пациент был выведен из исследования, назначено соответствующее лечение. Тем не менее, это не оказало существенного влияния на оценку эффективности бНР в целом. Эффективность лечения суммарно у всех групп с бНР оказалась сопоставимой с эффективностью в группе сравнения и составила 85% и 84%, соответственно, считая на всех пациентов, или 89,5% и 87,5%, соответственно, на пациентов, закончивших терапию.

У групп с наименьшими дозами бНР (600 мг и 800 мг в сутки) эффективность лечения оказалась значимо выше, чем у группы сравнения.

Результаты динамики лабораторных маркеров эффективности антиретровирусной терапии (количества в крови РНК ВИЧ) в группах с наименьшими дозами препарата бНР (1 и 2 группы) приведены в таблице 1.

Таблица 1

Уровень РНК ВИЧ (вирусная нагрузка) коп/мл.			
	1 группа 600 мг бНР	2 группа 800 мг бНР	Фосфазид 800 мг
До начала лечения			
медиана	23 400	50 754	36 000
максимум	2 000 000	4 700 000	3 100 000
минимум	1 600	3 000	7 600
Кол-во пациентов с РНК ВИЧ > 100000 коп/мл	5	9	5
Через 24 недели			
Пациенты, завершившие исследование	23	24	24
Пациенты с РНК/ВИЧ < 50 коп/мл, (%)*	88/95,7	92/95,8	84/87,5

\*с учетом всех пациентов/с учетом пациентов, завершивших исследование.

Из приведенных данных следует, что:

- для всех пациентов, завершивших исследование, значимое снижение «вирусной нагрузки» до уровня менее 50 коп/мл к 24 неделе лечения наблюдалось у 95,7% больных в 1 группе, 95,8% во 2 группе и 87,5% пациентов группы сравнения;

- количество больных с высоким уровнем РНК ВИЧ (>100000 коп/мл) до лечения составило: 5 пациентов в 1 группе и в группе сравнения и 9 пациентов во 2 группе. Через 24 недели лечения вирусная нагрузка у данных пациентов снизилась до неопределяемого

уровня (менее 50 коп/мл) в 100% случаев в 1 группе и в группе сравнения и в 89% случаев во 2 группе.

Таким образом, во всех группах пациентов к 24 неделе лечения отмечалось статистически достоверное снижение «вирусной нагрузки». В целом по 4 группам эффективность не уступала эффективности в группе сравнения. Для групп с низкими дозами бНП (600 и 800 мг) эффективность лечения была выше, чем у группы сравнения.

Через 24 недели терапии максимальные значения среднего содержания и медианы количества CD4+Т-лимфоцитов зарегистрированы у больных 1 группы. У пациентов 2-4 групп также отмечено достоверное увеличение количества CD4+Т-лимфоцитов спустя 24 недели исследования, однако прирост клеток (по сравнению с пациентами 1 группы) был менее значимым ( $P < 0,05-0,01$ ).

Результаты динамики количества CD<sub>4</sub>+Т-лимфоцитов в процессе лечения и изменение их числа по сравнению с исходными значениями в группах с наименьшими дозами препарата бНП (1 и 2 группы) и группы сравнения приведены в таблице 2.

Таблица 2

Количество CD <sub>4</sub> +Т-лимфоцитов (клеток/мкл)			
	1 группа 600 мг бНП	2 группа 800 мг бНП	Фосфазид 800 мг
До начала лечения			
М ± SD	416,7±173,1	348,9±137,8	398,7±169,8
минимум÷максимум	170÷959	179÷734	143÷967
Медиана	383	333	355
24-я неделя			
М ± SD	589,4±190,8	488,9±150,0	510,3±196,8
минимум÷максимум	268÷1039	230÷754	74÷1050
Медиана	<b>592</b>	<b>495,5</b>	490
Изменение количества CD <sub>4</sub> +Т-лимфоцитов к 24-й неделе			
М ± SD	186,2±174,0	134,0±122,9	103,2±181,4
минимум÷максимум	-204 ÷ +500	-44 ÷ +390	-287 ÷ +429
Медиана	<b>164</b>	<b>106,5</b>	135

Приведенные данные свидетельствуют об иммунологической эффективности терапевтических режимов, содержащих бНП и ламивудин. Увеличение медианы количества CD<sub>4</sub>+Т-лимфоцитов через 24 недели лечения наблюдалось у пациентов всех групп. Максимальный результат увеличения медианы количества CD<sub>4</sub>+Т-лимфоцитов (164 клетки/мкл) был отмечен у пациентов 1 группы (600 мг/сутки препарата бНП).

**Пример 7.** Изучение анти-ВИЧ активности исследуемой комбинации *in vitro*.

Анти-ВИЧ-1 активность исследуемой комбинации изучали на высокочувствительной к вирусу иммунодефицита человека культуре клеток МТ-4. В качестве источника вируса использовали штамм ВИЧ-1<sub>899A</sub>, из коллекции вирусов ФГБУ "НИИ вирусологии им. Д.И.Ивановского" Минздрава России. Перевиваемые лимфобластоидные клетки человека МТ-4 из коллекции культур клеток ФГБУ "НИИ вирусологии им. Д.И.Ивановского" Минздрава России культивировали в среде RPMI-1640 (производства ФГБУ "НИИ Полиомиелита и вирусных энцефалитов" РАМН) с 10% сыворотки эмбрионов коров (производства ФГБУ "НИИ Полиомиелита и вирусных энцефалитов" РАМН) и 100 мкг/мл гентамицина.

К клеткам добавляли исследуемое средство и инфицировали вирусом в дозе 0,01 ТЦИД<sub>50</sub>/клетка. Инкубировали культуры клеток при 37°C в атмосфере с 5% CO<sub>2</sub> и 98% влажностью в течении 3-6 дней.

Учет результатов проводили окрашиванием клеток с помощью тетразолиевого красителя (метод МТТ) со спектрофотометрией и световой микроскопией, по давлению накопления антигена ВИЧ p24 в культуральной жидкости инфицированных клеток, определяемого с помощью метода иммуноферментного анализа как описано в документе [Федюк Н.В. и др. *Выявление и количественное определение антигенов вируса иммунодефицита человека типов 1 и 2 / Вопросы вирусологии, 1992, №3, с.135-138*].

Полученные экспериментальные данные приведены в таблицах 3-6.

Таблица 3

Анти-ВИЧ-1 активность комбинации бНР и эмтрицитабина в отношении штамма ВИЧ-1 в культуре клеток МТ-4			
Препарат	Концентрация препарата, мкг/мл	Оптическая плотность ( $\mu\pm s$ )	Ингибирование p24, %
бНР	0,05	0,420±0,03	57,2±4,2
	0,1	0,313±0,002	72,7±0,4
эмтрицитабин	0,005	0,745±0,12	14,5±5,9
	0,01	0,620±0,09	41,0±7,1
	0,05	0,283±0,05	85,4±3,5
	0,1	0,217±0,009	89,6±1,2
бНР-эмтрицитабин	0,05+0,01	0,278±0,06	80,5±5,4
	0,05+0,05	0,185±0,03	91,4±3,2
	0,05+0,1	0,179±0,05	92,8±1,9
	0,1+0,005	0,269±0,08	83,6±2,2
	0,1+0,01	0,203±0,04	88,5±3,7
	0,1+0,05	0,177±0,02	90,3±4,0
	0,1+0,1	0,214±0,03	92,7±6,1

Таблица 4

Анти-ВИЧ-1 активность комбинации бНР и ламивудина в отношении штамма ВИЧ-1 в культуре клеток МТ-4			
Препарат	Концентрация препарата, мкг/мл	Оптическая плотность ( $\mu\pm s$ )	Ингибирование p24, %
бНР	0,05	0,420 $\pm$ 0,03	57,2 $\pm$ 4,2
	0,1	0,313 $\pm$ 0,002	72,7 $\pm$ 0,4
ламивудин	0,005	0,719 $\pm$ 0,1	13,7 $\pm$ 6,3
	0,01	0,551 $\pm$ 0,06	38,2 $\pm$ 9,1
	0,05	0,241 $\pm$ 0,07	83,2 $\pm$ 12
	0,1	0,230 $\pm$ 0,001	84,7 $\pm$ 0,2
бНР- ламивудин	0,05+0,01	0,241 $\pm$ 0,04	83,2 $\pm$ 6,6
	0,05+0,05	0,176 $\pm$ 0,02	92,6 $\pm$ 2,5
	0,05+0,1	0,173 $\pm$ 0,02	93,1 $\pm$ 2,7
	0,1+0,005	0,228 $\pm$ 0,02	85,1 $\pm$ 2,8
	0,1+0,01	0,194 $\pm$ 0,03	90,0 $\pm$ 4,9
	0,1+0,05	0,179 $\pm$ 0,02	92,2 $\pm$ 3,8
	0,1+0,1	0,2 $\pm$ 0,01	94,1 $\pm$ 8,5

Таблица 5

Количественные характеристики ингибирования ВИЧ-1 комбинацией бНР и эмтрицитабина			
Препарат	ID <sub>50</sub> , мкг/мл		FIC
	индивидуальная	в смеси	
бНР	0,2	0,1	0,73
эмтрицитабин	0,22	0,051	

Таблица 6

Количественные характеристики ингибирования ВИЧ-1 комбинацией бНР и ламивудина			
Препарат	ID <sub>50</sub> , мкг/мл		FIC
	индивидуальная	в смеси	
бНР	0,2	0,1	0,6
ламивудин	0,1	0,01	

Таким образом, в результате изучения анти-ВИЧ активности нуклеозидных ингибиторов бНР, эмтрицитабина (FТС), ламивудина (ЗТС) и комбинаций бНР с FТС и бНР с ЗТС в отношении штамма ВИЧ-1 на культуре клеток МТ-4 установлено, что сочетания бНР и эмтрицитабина, а также бНР и ламивудина проявляют синергизм в отношении ингибирования репродукции ВИЧ-1.

При пассировании вируса в описанных условиях установлено, что падение действующей концентрации бНР в присутствии ламивудина или эмтрицитабина наступает на 60-70 дней позже по сравнению с использованием одного лишь бНР. Концентрации бНР в сравнительных опытах были идентичны.

**ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Комбинация для лечения ВИЧ-инфекции, содержащая (i) аммониевую соль 5'-аминокарбонилфосфонат-3'-азидо-3'-дезокситимидина и (ii) аналог цитидина, выбранный из эмтрицитабина и ламивудина, при массовом соотношении агента (i) к агенту (ii) от 250:1 до 1:250.

2. Комбинация по п.1, характеризующаяся тем, что дополнительно содержит фармацевтически приемлемый носитель.

3. Комбинация по п.1 или 2, характеризующаяся тем, что массовое соотношение агента (i) к агенту (ii) составляет от 1:50 до 50:1.

4. Комбинация по п.1 или 2, характеризующаяся тем, что массовое соотношение агента (i) к агенту (ii) составляет от 1:10 до 10:1.

5. Комбинация по п.1 или 2, характеризующаяся тем, что предназначена для перорального введения.

6. Комбинация по п.5, характеризующаяся тем, что выполнена в виде таблетки, в том числе для размещения в блистерной упаковке.

7. Комбинация по п.5, характеризующаяся тем, что выполнена в виде капсулы, в том числе для размещения в блистерной упаковке.

8. Комбинация по п.1 или 2, характеризующаяся тем, что предназначена для одновременного введения агентов (i) и (ii).

9. Комбинация по п.1 или 2, характеризующаяся тем, что предназначена для последовательного введения агентов (i) и (ii).

10. Набор для лечения ВИЧ-инфекции, включающий комбинацию по любому из пп.1-9 и инструкцию по применению указанной комбинации.

11. Способ лечения ВИЧ-инфекции у млекопитающего, характеризующийся тем, что включает введение млекопитающему, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества комбинации по любому из пп.1-9.

12. Способ по п.11, характеризующийся тем, что млекопитающим является человек.