

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **045000**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента  
**2023.10.25**

(21) Номер заявки  
**202100195**

(22) Дата подачи заявки  
**2019.12.26**

(51) Int. Cl. *A61K 31/7072* (2006.01)  
*A61K 31/513* (2006.01)  
*A61P 31/18* (2006.01)

---

(54) **КОМБИНАЦИЯ ПРОТИВОВИРУСНЫХ СРЕДСТВ, НАБОР И СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ НА ЕЕ ОСНОВЕ**

---

(31) **2018147078**

(32) **2018.12.27**

(33) **RU**

(43) **2022.04.12**

(86) **PCT/RU2019/001031**

(87) **WO 2020/139163 2021.07.02**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
**ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ  
ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ "АЗТ  
ФАРМРЕСУРС" (RU)**

(72) Изобретатель:  
**Бибилашвили Роберт Шалвович,  
Кононов Александр Васильевич,  
Кравченко Алексей Викторович,  
Хандажинская Анастасия Львовна,  
Симонян Алина Руслановна,  
Бровченко Богдан Витальевич,  
Смирнов Антон Андреевич (RU)**

(74) Представитель:  
**Михайлов А.В. (RU)**

(56) RU-C2-2331420  
RU-C1-2441016  
US-A1-20140193491  
US-B2-8716264

---

(57) Изобретение 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. Изобретение обеспечивает расширение арсенала комбинированных противовирусных препаратов для лечения ВИЧ-инфекции, а также повышение эффективности такого лечения.

---

**045000 B1**

**045000 B1**

### 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 нуклеозидные 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, опубл. 10.10.1999; патент RU 2331420 C2, опубл. 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 (FTC) 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, N3, pp. 494-501].

Авторами настоящего изобретения 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 3'-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, N3, pp. 57-65].

Результаты доклинических испытаний острой токсичности на мышах 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 >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 RU2331420 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, лишенного 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 лече-

ния). 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, N3, 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 (ЗТС), 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 должен быть слишком большим. Он может составлять от нескольких минут до 3 ч. 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 (ЗТС), 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. Лиофилизованные 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 вышестоящего, 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.

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

Вариант 2.

бНР	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:	
бНР	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:	
бНР	600 мг
Кальция карбонат	55 мг
Целлюлоза микрокристаллическая	18 мг
Аэросил	6 мг
Магния стеарат	6 мг
Хинолиновый желтый E104	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.

6НР	20 мг
Эмтрицитабин	200 мг
Бензиловый спирт	100 мг
Глюкофузол 75	1000 мг
Вода для инъекций	до 3 мл

Вариант 2.

6НР	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.

6НР	500 мг
Эмтрицитабин	2 мг
Витепсол	1498 мг

Вариант 2.

6НР	500 мг
Ламивудин	2 мг
Витепсол	1498 мг

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

Было проведено многоцентровое, рандомизированное, частично слепое клиническое исследование II фазы по эффективности и безопасности препарата 6НР в сравнении с препаратом фосфазад 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 6НР (с дозами в 600, 800, 1000 и 1200 мг один раз в день) или в группу сравнения, принимающую Фосфазад (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 6НР или ламивудина и потребовавшее вывод из исследования - у пациента в группе с максимальной дозой 6НР (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 6НР в целом. Эффективность лечения суммарно у всех групп с 6НР ока-

залась 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 6НР (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 6НР (1 и 2 группы) приведены в табл. 1.

Таблица 1

Уровень РНК ВИЧ (вирусная нагрузка) коп/мл.			
	1 группа 600 мг 6НР	2 группа 800 мг 6НР	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 6НР (600 и 800 мг) эффективность лечения была выше, чем у группы сравнения.

Через 24 недели терапии максимальные значения среднего содержания и медианы количества CD<sub>4</sub>+Т-лимфоцитов зарегистрированы у больных 1 группы. У пациентов 2-4 групп также отмечено достоверное увеличение количества CD<sub>4</sub>+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 6НР (1 и 2 группы) и группы сравнения приведены в табл. 2.

Таблица 2

Количество CD <sub>4</sub> +Т-лимфоцитов (клеток/мкл)			
	1 группа 600 мг 6НР	2 группа 800 мг 6НР	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	592	495,5	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	164	106,5	135

Приведенные данные свидетельствуют об иммунологической эффективности терапевтических ре-

жимов, содержащих бНР 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 бНР).

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>899А</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 р24 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 табл. 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 (μ±s)	Ингибирование р24, %
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 (μ±s)	Ингибирование р24, %
бНР	0,05	0,420±0,03	57,2±4,2
	0,1	0,313±0,002	72,7±0,4
ламивудин	0,005	0,719±0,1	13,7±6,3
	0,01	0,551±0,06	38,2±9,1
	0,05	0,241±0,07	83,2±12
	0,1	0,230±0,001	84,7±0,2
бНР-ламивудин	0,05+0,01	0,241±0,04	83,2±6,6
	0,05+0,05	0,176±0,02	92,6±2,5
	0,05+0,1	0,173±0,02	93,1±2,7
	0,1+0,005	0,228±0,02	85,1±2,8
	0,1+0,01	0,194±0,03	90,0±4,9
	0,1+0,05	0,179±0,02	92,2±3,8
	0,1+0,1	0,2±0,01	94,1±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 6НР и ламивудина			
Препарат	ID <sub>50</sub> , мкг/мл		FIC
	индивидуальная	в смеси	
6НР	0,2	0,1	0,6
ламивудин	0,1	0,01	

Таким образом, в результате изучения анти-ВИЧ активности нуклеозидных ингибиторов 6НР, эмтрицитабина (FTC), ламивудина (ЗТС) и комбинаций 6НР с FTC и 6НР с ЗТС в отношении штамма ВИЧ-1 на культуре клеток МТ-4 установлено, что сочетания 6НР и эмтрицитабина, а также 6НР и ламивудина проявляют синергизм в отношении ингибирования репродукции ВИЧ-1.

При пассировании вируса в описанных условиях установлено, что падение действующей концентрации 6НР в присутствии ламивудина или эмтрицитабина наступает на 60-70 дней позже по сравнению с использованием одного лишь 6НР. Концентрации 6НР 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.

