

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

(19) Всемирная Организация  
Интеллектуальной Собственности  
Международное бюро



(10) Номер международной публикации  
**WO 2021/221537 A1**

(43) Дата международной публикации  
04 ноября 2021 (04.11.2021)

(51) Международная патентная классификация:  
A61K 38/17 (2006.01) A61P 31/14 (2006.01)

(21) Номер международной заявки: РСТ/RU2021/000019

(22) Дата международной подачи:  
18 января 2021 (18.01.2021)

(25) Язык подачи: Русский

(26) Язык публикации: Русский

(30) Данные о приоритете:  
2020116573 30 апреля 2020 (30.04.2020) RU  
2020123217 13 июля 2020 (13.07.2020) RU

(72) Изобретатели; и

(71) Заявители: **ИВАЩЕНКО, Андрей Александрович (IVASHCHENKO, Andrey Alexandrovich)** [RU/RU]; ул. Абрамцевская, 4, корп. 2, кв. 27, Москва, 127576, Moscow (RU). **ИВАЩЕНКО, Александр Васильевич (IVASHTCHENKO, Alexandre Vasilievich)** [US/US]; 1835 East Халландале Блвд, #442, Халландале, Флорида, 33009, Hallandale (US). **САВЧУК, Николай Филиппович (SAVCHUK, Nikolay Filippovich)** [US/US]; 6300 Виа Дос Валлес, Ранчо Санта Фе, Калифорния, 92067, Rancho Santa Fe (US). **ИВАЩЕНКО, Алена Александровна (IVASHTCHENKO, Alena Alexandrovna)** [US/US]; 1835 East Халландале Блвд #442, Халландале, Флорида, 33009, Hallandale (US). **ЛОГИНОВ, Владимир Григорьевич (LOGINOV, Vladimir Grigorevich)** [RU/RU]; Кутузовский пр., 9, кв. 104, Москва, 121248, Moscow (RU). **ТОПР, Михаил (TOPR, Mikhail)** [US/US]; Централ Парк Вест, 1, кв. 46 А, Нью-Йорк, 10023, New York (US).

(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, IT, 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, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, 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).

Декларации в соответствии с правилом 4.17:

— об авторстве изобретения (правило 4.17 (iv))

Опубликована:

— с отчётом о международном поиске (статья 21.3)

(54) Title: SARS-COV-2 ANTIVIRAL DRUG ANTIPROVIR

(54) Название изобретения: ПРОТИВО-SARS-COV-2 ВИРУСНОЕ СРЕДСТВО АНТИПРОВИР

(57) Abstract: The present invention relates to a method of prophylaxis and treatment of SARS-CoV-2 (COVID-19) infections in patients, which consists in administering to a patient the drug Antiprovir which is intended for prophylaxis and treatment of coronavirus-associated COVID-19 disease. The use of a pharmaceutical composition, inter alia, Aprotext®, Gordox® and Aerus® which comprise aprotinin as the active ingredient and auxiliary substances, as a SARS-CoV-2 antiviral drug Antiprovir for prophylaxis and treatment of coronavirus-associated COVID-19 disease is proposed. The drug Antiprovir for prophylaxis and treatment of coronavirus-associated COVID-19 disease is a pharmaceutical composition comprising from 0.1 wt% to 0.2 wt% of aprotinin, optionally from 0.2 wt% to 1.0 wt% of auxiliary substances, and the remainder being water, for injections.

(57) Реферат: Данное изобретение относится к способу профилактики и лечения SARS-CoV-2 (COVID-19) инфекций у пациентов который заключается во введении пациенту лекарственного средства Антипровир предназначенному для профилактики и лечения короновирального заболевания COVID-19. Применение фармацевтической композиции, в том числе Апротекс®, Гордокс® и Аэрус®, включающие в качестве активного компонента апротинин и вспомогательные вещества, в качестве против-SARS-CoV-2 вирусного лекарственного средства Антипровир для профилактики и лечения короновирального заболевания COVID-19. Лекарственное средство Антипровир для профилактики и лечения короновирального заболевания COVID-19 представляющее собой фармацевтическую композицию содержащую 0,1% вес. ÷ 0,2% вес. апротинина, необязательно 0,2 вес. ÷ 1,0% вес. вспомогательных веществ и остальное вода для инъекций.



WO 2021/221537 A1

## **Противо-SARS-CoV-2 вирусное средство Антипровир**

### **Область техники**

Данное изобретение относится к новому противо-SARS-CoV-2 вирусному средству Антипровир предназначенному для профилактики и лечения коронавирусного заболевания COVID-19. Внезапная вспышка нового коронавируса в 2019 году, позже названного SARS-CoV-2, в Ухань, Китай, которая быстро превратилась в глобальную пандемию, ознаменовала третье внедрение вирулентного Коронавируса в человеческое общество, влияющий не только на систему здравоохранения, но и на мировую экономику. Эффективные подходы к вакцинации, профилактике и лечению SARS-CoV-2 (COVID-19) и эпидемиологическому контролю все еще отсутствуют.

### **Предшествующий уровень техники**

В этой связи во всем мире ведутся интенсивный поиск вакцин и терапевтических агентов для профилактики и лечения SARS-CoV-2 (COVID-19). Одним из практических подходов в качестве меры быстрого реагирования на возникающую пандемию является перепрофилированием существующих терапевтических агентов, ранее предназначенных для других вирусных инфекций так как большинство из этих агентов уже были проверены на их безопасность. Эти агенты могут быть разделены на две широкие категории, те, которые могут непосредственно ориентироваться на цикл репликации вируса, и те, которые основаны на иммунотерапевтическом подходе, направленные либо на усиление врожденных противовирусных иммунных реакций, либо на уменьшение ущерба вызвано дисрегуляцией воспалительных реакций.

Первоначальные клинические исследования выявили многообещающий терапевтический потенциал нескольких таких препаратов, включая фавипиравир, противовирусный препарат широкого спектра действия который мешает репликации вируса, гидроксихлорохин, перепрофилированный противомаларийный препарат, который вмешивается в эндосомальный путь проникновения вируса и ремдесивир с широким спектром противовирусной активностью. Ремдесивир экспериментальное лекарство, которое не имеет доказанной безопасности или эффективности для лечения каких-либо состояний. Ремдесивир продемонстрировал активность *in vitro* и *in vivo* на животных моделях против

вирусных патогенов MERS и SARS, которые также являются коронавирусами и структурно сходны с COVID-19. Ограниченные доклинические данные по ремдесивиру в MERS и SARS указывают на то, что ремдесивир может обладать потенциальной активностью в отношении COVID-19.

По состоянию на 26 апреля 2020 года коронавирус COVID-19 поразил 210 стран и территорий, всего было зарегистрировано 3 055 308 случаев инфицированных COVID-19 человек, выздоровело 917432 человек и умерло 211032 человека.

Учитывая, что SARS-CoV-2 представляет собой серьезную угрозу для общественного здравоохранения и экономики во всем мире представляется целесообразным поиск новых эффективных противокоронавирусных препаратов.

Ниже приведены определения терминов, которые использованы в описании этого изобретения.

Термин **«лекарственный препарат»** означает вещество (или смесь веществ в виде фармацевтической композиции) в виде таблеток, капсул, инъекций, мазей и др. готовых форм, предназначенное для восстановления, исправления или изменения физиологических функций у человека и животных, а также для лечения и профилактики болезней, диагностики, анестезии, контрацепции, косметологии и прочего.

Термин **«фармацевтическая композиция»** обозначает композицию, включающую в себя соединение формулы 1 и, по крайней мере, один из компонентов, выбранных из группы, состоящей из фармацевтически приемлемых и фармакологически совместимых наполнителей, растворителей, разбавителей, носителей, вспомогательных, распределяющих и воспринимающих средств, средств доставки, таких как консерванты, стабилизаторы, наполнители, измельчители, увлажнители, эмульгаторы, суспендирующие агенты, загустители, подсластители, отдушки, ароматизаторы, антибактериальные агенты, фунгициды, лубриканты, регуляторы пролонгированной доставки, выбор и соотношение которых зависит от природы и способа назначения и дозировки. Примерами суспендирующих агентов являются этоксилированный изостеариловый спирт, полиоксиэтилен, сорбитол и сорбитовый эфир, микрокристаллическая целлюлоза, метагидроксид алюминия, бентонит, агар-агар и трагакант, а также смеси этих веществ. Защита от действия микроорганизмов может быть обеспечена с помощью разнообразных антибактериальных и противогрибковых агентов, например, таких как парабены, хлорбутанол, сорбиновая кислота и подобные им соединения. Композиция может включать

также изотонические агенты, например, сахара, хлористый натрий и им подобные. Пролонгированное действие композиции может быть обеспечено с помощью агентов, замедляющих абсорбцию активного компонента, например, моностеарат алюминия и желатин. Примерами подходящих носителей, растворителей, разбавителей и средств доставки являются вода, этанол, полиспирты, а также их смеси, растительные масла (такие, как оливковое масло) и инъекционные органические сложные эфиры (такие, как этилолеат). Примерами наполнителей являются лактоза, молочный сахар, цитрат натрия, карбонат кальция, фосфат кальция и им подобные. Примерами измельчителей и распределяющих средств являются крахмал, альгиновая кислота и ее соли, силикаты. Примерами лубрикантов являются стеарат магния, лаурилсульфат натрия, тальк, а также полиэтиленгликоль с высоким молекулярным весом. Фармацевтическая композиция для перорального, сублингвального, трансдермального, внутримышечного, внутривенного, подкожного, местного или ректального введения активного компонента, одного или в комбинации с другим активным компонентом, может быть введена животным и людям в стандартной форме введения, в виде смеси с традиционными фармацевтическими носителями. Пригодные стандартные формы введения включают пероральные формы, такие как таблетки, желатиновые капсулы, пилюли, порошки, гранулы, жевательные резинки и пероральные растворы или суспензии, сублингвальные и трансбуккальные формы введения, аэрозоли, имплантаты, местные, трансдермальные, подкожные, внутримышечные, внутривенные, интраназальные или внутриглазные формы введения и ректальные формы введения.

Термин «**инертный наполнитель**», используемый в данном описании, относится к соединению, которое используют для получения фармацевтической композиции, и, как правило, безопасному, нетоксичному и ни биологически, ни иным образом нежелательному, и включает в себя вспомогательные вещества, которые являются приемлемыми для применения в ветеринарии, а также фармакологически приемлемыми для человеческого использования. Соединения по данному изобретению могут быть введены отдельно, но обычно их будут вводить в смеси с одним или более фармацевтически приемлемыми эксципиентами, разбавителями или носителями, выбранными с учетом предполагаемого пути введения и стандартной фармацевтической практики.

Термин «**терапевтически эффективное количество**», используемый здесь, означает количество субстанции, пролекарства или лекарства, необходимое для уменьшения симптомов заболевания у субъекта. Доза субстанции, пролекарства или лекарства будет

соответствовать индивидуальным требованиям в каждом конкретном случае. Эта доза может варьироваться в широких пределах в зависимости от многочисленных факторов, таких как тяжесть заболевания, подлежащего лечению, возраста и общего состояния здоровья пациента, других лекарственных средств, с помощью которых пациент проходит лечение, способа и формы введения и опыта лечащего врача. Для перорального введения суточная доза составляет приблизительно от 0,01 до 10 г, включая все значения между ними, в день в монотерапии и/или в комбинированной терапии. Предпочтительная суточная доза составляет примерно от 0,1 до 7 г в день. Как правило, лечение начинают с большой начальной «нагрузочной дозы», чтобы быстро уменьшить или устранить вирус, сопровождающей убывающую дозу до уровня, достаточного для предотвращения всплеска инфекции.

Термин «**субъект**» означает млекопитающее, которое включает, но не ограничивается ими, крупный рогатый скот, свиней, овец, куриц, индеек, буйволов, лам, страусов, собак, кошек и человека, предпочтительно субъектом является человек. Предполагается, что в способе лечения субъекта может быть любое из пролекарств общей формулы 1, его стереоизомер, изотопно-обогащенный аналог, его фармацевтически приемлемая соль, гидрат, сольват, кристаллическая и полиморфная форма, либо в сочетании их с другим соединением, в том числе с ингибитором РНК-зависимой РНК - полимеразы (RdRp) различных РНК вирусов.

Известен полипептид апротинин, получаемый из органов крупного рогатого скота. Апротинин обладает антипротеолитическим, гемостатическим и антифибринолитическим действием. На его основе выпускается ряд препаратов для терапии различных заболеваний, в том числе Апротекс<sup>®</sup>, Гордокс<sup>®</sup>, Аэрус<sup>®</sup> и др.

Апротекс<sup>®</sup> (Aprotex<sup>®</sup>) - представляет собой фармацевтическую композицию, включающую в качестве активного компонента лиофилизат апротинина и вспомогательные вещества (лактоза; натрия гидроксид), для приготовления раствора для внутривенного введения [[https://www.rlsnet.ru/tn\\_index\\_id\\_26457.htm](https://www.rlsnet.ru/tn_index_id_26457.htm)] и обладающий антипротеолитическим, гемостатическим и антифибринолитическим действием. Апротекс применяется для лечения острого или обостренного хронического панкреатита и панкреонекроза; кровотечения на фоне гиперфибринолиза: посттравматическое, послеоперационное (особенно при операциях на предстательной железе, легких), до, после и во время родов (в т.ч. при эмболии околоплодными водами); полименореи; ангионевротического отека; шока (токсического, травматического, ожогового, геморрагического); обширные и глубоких травматических

повреждений тканей, а также для профилактики острого неспецифического послеоперационного паротита и выполнение диагностических исследований и операций на поджелудочной железе (профилактика ферментативного аутолиза поджелудочной железы при операциях на ней и рядом расположенных органах брюшной полости) [[https://www.vidal.ru/drugs/aprotex\\_30966](https://www.vidal.ru/drugs/aprotex_30966)].

Гордокс® (Gordox®) – инъекционный препарат, представляет собой фармацевтическую композицию, включающую в качестве активного компонента апротинин, вспомогательные вещества (натрия хлорид и бензиловый спирт и воду для инъекций ) и обладающий антифибринолитическим действием [<https://yandex.ru/health/pills/product/gordoks-203>]. Гордокс® применяется для профилактики интраоперационной кровопотери и уменьшения объема гемотрансфузии при проведении операций аортокоронарного шунтирования с использованием АИК у взрослых пациентов, находящихся в группе повышенного риска развития кровотечения или необходимости проведения гемотрансфузии [<https://yandex.ru/health/pills/product/gordoks-203>]. Препарат рекомендован также в качестве профилактического лечения для пациентов, у которых можно ожидать повышенного риска кровотечения или потребности в трансфузии [https://www.vidal.by/poisk\\_preparatov/gordox.html](https://www.vidal.by/poisk_preparatov/gordox.html)].

Аэрус® (Aerus®) - аэрозольный ингаляционный препарат [WO2012008869, RU2425691, EP2594283] для лечения вирусных респираторных инфекций и инфекционно-воспалительных заболеваний вирусной этиологии, представляет собой фармацевтическую композицию, включающую в качестве активного компонента апротинин и вспомогательные вещества (вытеснитель -1,1,1,2-тетрафторэтана, растворители - этанол, глицерин и воду и стабилизатора - масло перечной мяты). [[https://www.vidal.ru/drugs/aerus\\_\\_23575](https://www.vidal.ru/drugs/aerus__23575); [https://www.rlsnet.ru/tn\\_index\\_id\\_44141.htm](https://www.rlsnet.ru/tn_index_id_44141.htm)].

### **Раскрытие изобретения**

Авторы неожиданно обнаружили известные фармацевтические композиции, в том числе Апротекс®, Гордокс® и Аэрус®, включающие в качестве активного компонента апротинин и вспомогательные вещества могут применяться по новому назначению, а именно в качестве против-SARS-CoV-2 вирусного лекарственного средства Антипровир для профилактики и лечения коронавирусного заболевания COVID-19.

Предметом данного изобретения является также лекарственное средство Антипровир для профилактики и лечения коронавирусного заболевания COVID-19 представляющее собой

фармацевтическую композицию содержащую 0,1% вес. ÷ 0,2% вес. аprotинина, необязательно 0,2 вес. ÷ 1,0% вес. вспомогательных веществ и остальное вода для инъекций. В качестве вспомогательных веществ могут использоваться натрия хлорид, натрия гидроксид, бензиловый спирт, лактоза, 1,1,1,2-тетрафторэтан, мяты перечной листьев масло, этанол, глицерол и др.

Преимущественным лекарственным средством Антипровира является препарат Гордокс®.

Преимущественным лекарственным средством Антипровира является препарат Аэрус®.

Преимущественным лекарственным средством Антипровира является препарат Апротекс®.

Предметом данного изобретения является лиофилизат для приготовления лекарственного средства Антипровир по настоящему изобретению включающий в свой состав 1÷2 весовых части аprotинина и необязательно 2 ÷ 10 весовых части вспомогательных веществ. В качестве вспомогательных веществ могут использоваться натрия хлорид, натрия гидроксид, бензиловый спирт, лактоза, 1,1,1,2-тетрафторэтан, мяты перечной листьев масло, этанол, глицерол и др.

Предметом данного изобретения является способ получения лекарственного средства Антипровир по настоящему изобретению растворением лиофилизата по данному изобретению в воде для инъекций.

Изучение противовирусной эффективности Covid-014 лекарственного средства Антипровир по настоящему изобретению в культуре клеток Vero E6 против вируса SARS-CoV-2. Антипровир исследовался в виде лиофилизата препаратов Апротекса, Гордокс и Аэрус в концентрации ~53 000 КИЕ/мл (или ~10 000КИЕ/лунку) в отношении вируса SARS-CoV-2 методом анализа вирусной продукции по цитопатическому действию в культуре клеток Vero E6 с подтверждением ПЦР в реальном времени. Было установлено, что Антипровир по настоящему изобретению в концентрации ~53 000 КИЕ/мл (или ~10 000КИЕ/лунку) оказал полное подавление цитопатического действия вируса в дозе 100 ТЦИД<sub>50</sub>/лунку, и частичное подавление в дозе 1000 ТЦИД<sub>50</sub>/лунку.

Противо-SARS-CoV-2 вирусную эффективность действия Антипровира по настоящему изобретению проверяли с помощью методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). В реальном времени определяли SARS-CoV-2 вирусу в исследуемых лунках. Из трёх

лунок разведения препарата для 0 ТЦИД<sub>50</sub>, 100 ТЦИД<sub>50</sub> и 1000 ТЦИД<sub>50</sub> вируса, отбирали надосадочную жидкость. Отобранную жидкость использовали для выделения РНК параллельно с положительным и отрицательным контролем этапа выделения. Выделенную РНК использовали для проведения ПЦР в реальном времени. Наличие вирусной РНК оценивали по величине порогового цикла (Ct). Полученные с помощью ПЦР данные показали полное ингибирование SARS-CoV-2 вируса Антипровиром в концентрации ~53 000 КИЕ/мл при вирусной нагрузке 100ТЦИД<sub>50</sub>.

Предметом данного изобретения является также способ профилактики и лечения SARS-CoV-2 (COVID-19) инфекций у пациентов заключается во введении пациенту лекарственного средства Антипровира по настоящему изобретению.

Лекарственные средства могут вводиться парентерально, в том числе внутривенно, подкожно, внутривнутрибрюшинно или через спрей. Клиническая дозировка лекарственного средства по данному изобретению у пациентов может корректироваться в зависимости от терапевтической эффективности в организме, скорости их обмена и выведения из организма, а также в зависимости от возраста, пола и стадии заболевания пациента. В соответствии с указаниями врача или фармацевта данные препараты могут приниматься несколько раз в течение определенных промежутков времени (предпочтительно – от одного до шести раз).

Для профилактики SARS-CoV-2 (COVID-19) у лиц близко контактировавших с инфицированными и медицинского персонала используют Антипровир по данному изобретению дважды в день по 300 КИЕ (ЕД) в виде ингаляций или в виде спрея в каждый носовой вход в течении 14 дней. Для экстренной профилактики Антипровир используют 4 раза в день по 300 КИЕ в виде ингаляций или в виде спрея в каждый носовой вход в течении 14 дней.

Для лечения легких форм коронавирусной инфекции COVID-19 используют Антипровир ингаляции 4 раза в день по 300 КИЕ в течении 7 дней. При среднетяжелых формах возможно увеличение дозировки Антипровира до 5,0 КИЕ/пациент/день - ингаляции каждые 2 часа по 600 КИЕ (до 5000 КИЕ) в течении 7 дней.

Для лечения тяжелых форм коронавирусной инфекции COVID-19 Для лечения легких форм коронавирусной инфекции COVID-19 используется дозировка Антипровира 30000 КИЕ/пациент/день. Возможно увеличение до 50000 КИЕ/пациент/день. Эта дозировка будет поддерживать достаточную терапевтическую концентрацию препарата в легких и других важных органах для подавления репродукции вируса и снижения системного воспаления.



Антипротивир дозируют медленно струйно или капельно по 100000 КИЕ 2-3 раза в сутки в течение 5–7 дней или по 150000 КИЕ 3 раза в сутки в течение 5–7 дней.

### **Лучший вариант осуществления изобретения**

Данное изобретение иллюстрируется, но не ограничивается следующими примерами.

**Пример 1.** Лиофилизат для приготовления лекарственного средства Антипротивир для для внутривенной и спрей-терапии COVID-19.

Растворяют 1,5 г аprotинина, 85 г хлорида натрия и 100 г бензилового спирта в 10 л воды для инъекций. Полученный раствор разливают в соответствующие флаконы по 10 мл во флакон с помощью машины розлива Rota FLR 50. Заполненные флаконы стерилизуются при температуре 120°-122° под давлением 120 кПа в течение 8 минут, лиофилизируют в сублиматоре Zirbus под вакуумом менее 0,3 бар, закупориваются пробками, обжимаются алюминиевыми колпачками и раскладываются в упаковочные коробки по 10 шт. Получают лиофилизат для приготовления лекарственного средства Антипротивир 100000 КИЕ в 10 мл.

**Пример 2.** Противо-SARS-CoV-2 вирусное средство Антипротивир для внутривенной терапии COVID-19.

Растворяют 1,5 г аprotинина, 85 г хлорида натрия и 100 г бензилового спирта в 10 л воды для инъекций. Половину полученного раствора разливают в соответствующие ампулы из нейтрального стекла по 1 мл ампулу, а вторую половину - по 10 мл в ампулу с помощью машины розлива Rota FLR 50. Заполненные ампулы стерилизуются при температуре 120°-122° под давлением 120 кПа в течение 8 минут и запаиваются с помощью газовой горелки и раскладываются в упаковочные коробки по 10 шт. Получают наборы препаратов Антипротивир 10000 КИЕ в 1 мл и Антипротивир 100000 КИЕ в 10 мл для внутривенной терапии COVID-19.

**Пример 3.** Противо-SARS-CoV-2 вирусное средство Антипротивир для спрей-терапии COVID-19.

Растворяют 1,5 г аprotинина, 57 г хлорида натрия и 67 г бензилового спирта в 10 л воды для инъекций. Полученный раствор стерилизуют при температуре 120°-122° под давлением 120 кПа в течение 8 минут и разливают по 100 мл в соответствующие балончики для спрея (для носа и/или горла). Получают противо-SARS-CoV-2 вирусное средство Антипротивир для спрей-терапии COVID-19.

**Пример 4.** Изучение противовирусной эффективности Covid-014 Антипротекса в культуре клеток Vero E6 против вируса SARS-CoV-2.

Антипротекс исследовался в виде лиофилизата Апротекса и Гордокса в концентрации ~53 000 КИЕ/мл в отношении вируса SARS-CoV-2 методом анализа вирусной продукции по цитопатическому действию в культуре клеток Vero E6 с подтверждением ПЦР в реальном времени в Испытательном центре контроля качества иммунобиологических лекарственных средств ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России.

В 96-луночные культуральные плоскодонные планшеты помещали клетки Vero E6 по 12000 кл./лунку в объеме 100,0 мкл свежеприготовленной полной культуральной среды (ПС). Клетки культивировали 24 ч при температуре 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. Для приготовления двукратного раствора исследуемого препарата с концентрацией 106 400 Ед/мл содержимое 8ми флаконов последовательно растворили в 1 мл среды реакционной среды (РС). Приготовленный раствор тестируемого препарата в концентрации 106 400 КИЕ/мл выдерживают при температуре 2-8°C в течение 2 часов для контроля растворимости препарата. Из тест-планшетов удалили ПС, промыли клетки средой РС и перенесли по 100 мкл подготовленного разведения тестируемой субстанции. Каждую точку тестировали в 3х лунках. Также препарат вносили в лунки контроля без вируса для оценки потенциального цитотоксического действия и дальнейшего учета результатов исследования. В лунки контроля клеток вносят чистую РС. Для инфицирования клеток использовали суспензию вируса SARS-CoV-2, пассаж 4 с инфекционной активностью 10<sup>6</sup> ТЦИД<sub>50</sub>/мл для клеток Vero E6. Готовили серию 10-кратных разведений вируса: 10<sup>-1</sup> и до 10<sup>-6</sup>. Суспензию разводили путем последовательного переноса в пробирках с нужным количеством соответствующей РС: в пробирки вносят по 900 мкл РС и добавляют по 100 мкл вирусной суспензии. Для приготовления суспензии вируса с концентрацией 1000 ТЦИД<sub>50</sub>/мл, из стоковой суспензии вируса с концентрацией 1x10<sup>6</sup>ТЦИД<sub>50</sub>/мл отбирали 10 мкл суспензии и помещали в 10,0 мл РС. Для приготовления суспензии вируса с концентрацией 10000 ТЦИД<sub>50</sub>/мл, из стоковой суспензии вируса с концентрацией 1x10<sup>6</sup>ТЦИД<sub>50</sub>/мл отбирали 100 мкл суспензии и помещали в 9,9 мл РС. Разведения вирусной суспензии добавляли к клеткам через 2 часа инкубации клеток с разведением тестируемого препарата и инкубировали совместно в течение 96 часов. В лунки 100 ТЦИД<sub>50</sub> и 1000 ТЦИД<sub>50</sub> вносили по 100 мкл вируса с концентрацией 1000 и 10000 ТЦИД<sub>50</sub> /мл (100 и 1000 ТЦИД<sub>50</sub> на лунку, соответственно) в среде РС. В лунки

«Контроль клеток» добавляют по 100 мкл РС. Планшеты с клетками инкубировали в атмосфере 5% CO<sub>2</sub> при 37°C в течение 96 часов до полного проявления цитопатического действия вируса в вирусном контроле, в ожидаемом диапазоне. Противовирусную активность образцов оценивали визуально под микроскопом через 96 часов после инфицирования по ингибированию цитопатического действия (ЦПД) вируса в культуре клеток Vero E6. Результатом исследования являлось заключение об ингибировании цитопатического действия вируса в культуре клеток Vero E6 при воздействии препарата: полное ингибирование (отсутствие ЦПД в 3 лунках из 3), неполное ингибирование (наличие ЦПД в 1-2 лунках из 3), отсутствие ингибирования (наличие ЦПД в 3 лунках из 3). Результат: Препарат Антипровир в концентрации ~53 000 КИЕ/мл (или ~10 000 КИЕ/лунку) оказали полное подавление цитопатического действия вируса в дозе 100 ТЦИД<sub>50</sub>/лунку, и частичное подавление в дозе 1000 ТЦИД<sub>50</sub>/лунку.

Эффективность против-SARS-CoV-2 вирусного действия препарата с помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) определяли в реальном времени в исследуемых лунках. Из трёх лунок разведения препарата для 0 ТЦИД<sub>50</sub>, 100 ТЦИД<sub>50</sub> и 1000 ТЦИД<sub>50</sub> вируса, отбирали надосадочную жидкость. Отобранную жидкость использовали для выделения РНК параллельно с положительным и отрицательным контролем этапа выделения. Выделенную РНК использовали для проведения ПЦР в реальном времени. Наличие вирусной РНК оценивали по величине порогового цикла (Ct). Результат: Полученные с помощью ПЦР данные показали полное ингибирование размножения вируса SARS-CoV-2 при концентрации Антипровира ~53 000 КИЕ/мл и подтвердили высокую против-SARS-CoV-2 вирусную активность Антипровира.

### **Промышленная применимость**

Изобретение может быть использовано в медицине и ветеринарии.

**Формула изобретения**

1. Способ профилактики и лечения SARS-CoV-2 (COVID-19) инфекций у пациентов заключается во введении пациенту лекарственного средства Антипровир по настоящему изобретению.
2. Способ по п.1 заключается во внутривенной терапии.
3. Способ по п.1 заключается в спрей-терапии.
4. Способ по п.п. 1-3 заключается во введении пациенту лекарственного средства Антипровир в дозе от 300 КИЕ до 150000 КИЕ от 2-х до 4-х раз в день в течение от 5-ти до 14-ти дней.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/RU 2021/000019

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		<b>A61K 38/17</b> (2006.01) <b>A61P 31/14</b> (2006.01)	
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC			
B. FIELDS SEARCHED			
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)			
A61K, A61P			
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched			
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)			
Espacenet, PatSearch, RUPTO, USPTO, CIPO, J-PlatPat, USPTO, Google			
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT			
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	
X	PROFILAKTIKA, DIAGNOSTIKA I LECHENIE NOVOI KORONAVIRUSNOI INFEKTSII (2019-nCoV) // Vremennye metodicheskie rekomendatsii, 29.01.2020, p.1-51, [online], [retrieved on 24.06.2021]. Found in < <a href="https://static-2.rosminzdrav.ru/system/attachments/attaches/000/049/302/original/%D0%92%D0%A0_2019-nCov_%2829.01,2020_-_9%291-3.pdf?1580370334">https://static-2.rosminzdrav.ru/system/attachments/attaches/000/049/302/original/%D0%92%D0%A0_2019-nCov_%2829.01,2020_-_9%291-3.pdf?1580370334</a> > p.14-15, 30	1-4	
A	BOIKOVA D. et al. SARS-CoV-2 and SARS-CoV differ in their cell tropism and drug sensitivity profiles // Cold Spring Harbor Laboratory, 05.04.2020, pp.1-28, [online], [retrieved on 24.06.2021]. Found in <a href="https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.04.03.024257v1.article-info">https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.04.03.024257v1.article-info</a> abstract; fig.5 A, p.14	1-4	
A	RU 2425691 C1 (VAKE SPOL S. R. O.), 10.08.2011	1-4	
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input type="checkbox"/> See patent family annex.	
* Special categories of cited documents:		“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention “X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone “Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art “&” document member of the same patent family	
“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance			
“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date			
“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)			
“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means			
“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed			
Date of the actual completion of the international search 24 June 2021 (24.06.2021)		Date of mailing of the international search report 05 August 2021 (05.08.2021)	
Name and mailing address of the ISA/ RU		Authorized officer	
Facsimile No.		Telephone No.	

**ОТЧЕТ О МЕЖДУНАРОДНОМ ПОИСКЕ**

Номер международной заявки

PCT/RU 2021/000019

<p><b>А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ</b>  <i>A61K 38/17</i> (2006.01)  <i>A61P 31/14</i> (2006.01)</p> <p>Согласно Международной патентной классификации МПК</p>													
<p><b>В. ОБЛАСТЬ ПОИСКА</b>                  Проверенный минимум документации (система классификации с индексами классификации)                  А61К, А61Р</p> <p>Другая проверенная документация в той мере, в какой она включена в поисковые подборки</p> <p>Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины)                  Espacenet, PatSearch, RUPTO, USPTO, CIPO, J-PlatPat, USPTO, Google</p>													
<p><b>С. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ:</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Категория*</th> <th>Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей</th> <th>Относится к пункту №</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>ПРОФИЛАКТИКА, ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ (2019-nCoV) // Временные методические рекомендации, 29.01.2020, с.1-51, [онлайн], [найдено 24.06.2021]. Найдено в &lt;https://static-2.rosminzdrav.ru/system/attachments/attaches/000/049/302/original/%D0%92%D1%80%D0%B5%D0%BC%D0%B5%D0%BD%D0%BD%D1%8B%D0%B5_%D0%9C%D0%A0_2019-nCov_%2829.01.2020_-_9%291-3.pdf?1580370334&gt; с.14-15, 30</td> <td>1-4</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>BOJKOVA D. и др. SARS-CoV-2 and SARS-CoV differ in their cell tropism and drug sensitivity profiles // Cold Spring Harbor Laboratory, 05.04.2020, pp.1-28, [онлайн], [найдено 24.06.2021]. Найдено в &lt;https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.04.03.024257v1.article-info&gt; реферат; фиг.5А, с.14</td> <td>1-4</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>RU 2425691 C1 (ВАКЕ СПОЛ С. Р. О.), 10.08.2011</td> <td>1-4</td> </tr> </tbody> </table>		Категория*	Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №	X	ПРОФИЛАКТИКА, ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ (2019-nCoV) // Временные методические рекомендации, 29.01.2020, с.1-51, [онлайн], [найдено 24.06.2021]. Найдено в <https://static-2.rosminzdrav.ru/system/attachments/attaches/000/049/302/original/%D0%92%D1%80%D0%B5%D0%BC%D0%B5%D0%BD%D0%BD%D1%8B%D0%B5_%D0%9C%D0%A0_2019-nCov_%2829.01.2020_-_9%291-3.pdf?1580370334> с.14-15, 30	1-4	A	BOJKOVA D. и др. SARS-CoV-2 and SARS-CoV differ in their cell tropism and drug sensitivity profiles // Cold Spring Harbor Laboratory, 05.04.2020, pp.1-28, [онлайн], [найдено 24.06.2021]. Найдено в <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.04.03.024257v1.article-info> реферат; фиг.5А, с.14	1-4	A	RU 2425691 C1 (ВАКЕ СПОЛ С. Р. О.), 10.08.2011	1-4
Категория*	Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №											
X	ПРОФИЛАКТИКА, ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ (2019-nCoV) // Временные методические рекомендации, 29.01.2020, с.1-51, [онлайн], [найдено 24.06.2021]. Найдено в <https://static-2.rosminzdrav.ru/system/attachments/attaches/000/049/302/original/%D0%92%D1%80%D0%B5%D0%BC%D0%B5%D0%BD%D0%BD%D1%8B%D0%B5_%D0%9C%D0%A0_2019-nCov_%2829.01.2020_-_9%291-3.pdf?1580370334> с.14-15, 30	1-4											
A	BOJKOVA D. и др. SARS-CoV-2 and SARS-CoV differ in their cell tropism and drug sensitivity profiles // Cold Spring Harbor Laboratory, 05.04.2020, pp.1-28, [онлайн], [найдено 24.06.2021]. Найдено в <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.04.03.024257v1.article-info> реферат; фиг.5А, с.14	1-4											
A	RU 2425691 C1 (ВАКЕ СПОЛ С. Р. О.), 10.08.2011	1-4											
<p><input type="checkbox"/> последующие документы указаны в продолжении графы С. <input type="checkbox"/> данные о патентах-аналогах указаны в приложении</p>													
<p>* Особые категории ссылочных документов:</p> <table border="0"> <tr> <td>“А” документ, определяющий общий уровень техники и не считающийся особо релевантным</td> <td>“Т” более поздний документ, опубликованный после даты международной подачи или приоритета, но приведенный для понимания принципа или теории, на которых основывается изобретение</td> </tr> <tr> <td>“D” документ, цитируемый заявителем в международной заявке</td> <td>“Х” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает новизной или изобретательским уровнем, в сравнении с документом, взятым в отдельности</td> </tr> <tr> <td>“E” более ранняя заявка или патент, но опубликованная на дату международной подачи или после нее</td> <td>“У” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает изобретательским уровнем, когда документ взят в сочетании с одним или несколькими документами той же категории, такая комбинация документов очевидна для специалиста</td> </tr> <tr> <td>“L” документ, подвергающий сомнению притязание(я) на приоритет, или который приводится с целью установления даты публикации другого ссылочного документа, а также в других целях (как указано)</td> <td>“&amp;” документ, являющийся патентом-аналогом</td> </tr> <tr> <td>“O” документ, относящийся к устному раскрытию, использованию, экспонированию и т.д.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>“P” документ, опубликованный до даты международной подачи, но после даты испрашиваемого приоритета</td> <td></td> </tr> </table>		“А” документ, определяющий общий уровень техники и не считающийся особо релевантным	“Т” более поздний документ, опубликованный после даты международной подачи или приоритета, но приведенный для понимания принципа или теории, на которых основывается изобретение	“D” документ, цитируемый заявителем в международной заявке	“Х” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает новизной или изобретательским уровнем, в сравнении с документом, взятым в отдельности	“E” более ранняя заявка или патент, но опубликованная на дату международной подачи или после нее	“У” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает изобретательским уровнем, когда документ взят в сочетании с одним или несколькими документами той же категории, такая комбинация документов очевидна для специалиста	“L” документ, подвергающий сомнению притязание(я) на приоритет, или который приводится с целью установления даты публикации другого ссылочного документа, а также в других целях (как указано)	“&” документ, являющийся патентом-аналогом	“O” документ, относящийся к устному раскрытию, использованию, экспонированию и т.д.		“P” документ, опубликованный до даты международной подачи, но после даты испрашиваемого приоритета	
“А” документ, определяющий общий уровень техники и не считающийся особо релевантным	“Т” более поздний документ, опубликованный после даты международной подачи или приоритета, но приведенный для понимания принципа или теории, на которых основывается изобретение												
“D” документ, цитируемый заявителем в международной заявке	“Х” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает новизной или изобретательским уровнем, в сравнении с документом, взятым в отдельности												
“E” более ранняя заявка или патент, но опубликованная на дату международной подачи или после нее	“У” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает изобретательским уровнем, когда документ взят в сочетании с одним или несколькими документами той же категории, такая комбинация документов очевидна для специалиста												
“L” документ, подвергающий сомнению притязание(я) на приоритет, или который приводится с целью установления даты публикации другого ссылочного документа, а также в других целях (как указано)	“&” документ, являющийся патентом-аналогом												
“O” документ, относящийся к устному раскрытию, использованию, экспонированию и т.д.													
“P” документ, опубликованный до даты международной подачи, но после даты испрашиваемого приоритета													
<p>Дата действительного завершения международного поиска</p> <p>24 июня 2021 (24.06.2021)</p>	<p>Дата отправки настоящего отчета о международном поиске</p> <p>05 августа 2021 (05.08.2021)</p>												
<p>Наименование и адрес ISA/RU:                  Федеральный институт промышленной собственности,                  Бережковская наб., 30-1, Москва, Г-59,                  ГСП-3, Россия, 125993                  Факс: (8-495) 531-63-18, (8-499) 243-33-37</p>	<p>Уполномоченное лицо:                  Зарянов Н.В.                  Телефон № (8-499) 240-25-91</p>												