



Europäisches Patentamt  
European Patent Office  
Office européen des brevets



(11) **EP 1 634 590 A1**

(12) **EUROPEAN PATENT APPLICATION**  
published in accordance with Art. 158(3) EPC

(43) Veröffentlichungstag:  
**15.03.2006 Patentblatt 2006/11**

(51) Int Cl.:  
**A61K 31/165** <sup>(1985.01)</sup> **A61P 31/14** <sup>(2000.01)</sup>

(21) Anmeldenummer: **04748924.0**

(86) Internationale Anmeldenummer:  
**PCT/RU2004/000215**

(22) Anmeldetag: **03.06.2004**

(87) Internationale Veröffentlichungsnummer:  
**WO 2004/108125 (16.12.2004 Gazette 2004/51)**

(84) Benannte Vertragsstaaten:  
**AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR  
HU IE IT LI LU MC NL PL PT RO SE SI SK TR**

(72) Erfinder:  
• **KRIVOSHEIN, Yuru Semionovich**  
**Moscow, 103045 (RU)**  
• **RUDKO, Adolina Petrovna**  
**Moscow, 113054 (RU)**

(30) Priorität: **04.06.2003 RU 2003116391**

(71) Anmelder: **Megainpharm GmbH**  
**1020 Wien (AT)**

(74) Vertreter: **Jeck, Anton et al**  
**Patentanwalt,**  
**Klingengasse 2**  
**71665 Vaihingen/Enz (DE)**

(54) **CORONAVIRUS-INKTIVIERENDES MITTEL**

(57) Die Erfindung betrifft einen neuen Koronavirus-Inaktivierungswirkstoff in Form von Miramistin (d.i. Myristamid-Propyl-Dimethyl-Benzyl-Ammoniumchlorid), das früher als Antizeptionsmittel bekannt war, dabei antimykotische und antimikrobielle Wirkungen verhinderte und wirksam gegen HIV-, Influenza- und Herpesvirusinfektionen ist. Die Erfindung erweitert den Bereich

der Wirkstoffe für die genannten Verwendungen und ermöglicht die Behandlung und die Verhinderung von Krankheiten des Atmungstrakts (einschließlich SARS) und von Gastroenteritis, die durch die genannten Koronaviren hervorgerufen werden.

**EP 1 634 590 A1**

**Beschreibung**

**[0001]** Die Erfindung gehört zu Medizinbereich und Pharmaindustrie und kann in der Entwicklung, Herstellung und Anwendung der Heilmittel und prophylaktischer Präparate eingesetzt werden.

**[0002]** Bekannt ist der Einsatz von Fettlösungsmitteln, Detergentien und Antiseptiken als Inaktivierungsmittel der Koronaviren (L.J.Zakstelskaja, A.W. Scheboldow. Koronaviren des Menschen und der Tiere. Moskau, Verlag Medizin, 1977, S. 221. Allgemeine und spezielle Virusforschung. Unter Redaktion von W.M. Schdanow, S.J. Gaidamowitsch. 1982, Moskau, Verlag Medizin, Band 2, S. 316-339. A.J.Korotajew, S.A. Babitschew. Medizinische Mikrobiologie, Virus- und Immunitätsforschung. St-Petersburg, Verlag Fachliteratur. 1998, S. 273).

**[0003]** Erfindungsgemäß wird vorgeschlagen, zur Inaktivierung der Koronaviren Myristamidopropyl-dimethylbenzylammoniumchlorid einzusetzen, das unter dem Namen Myramistin (Urheberzeugnis 1832496) bis jetzt als Präventivmittel gegen konventionelle venerische Krankheiten wie Syphilis, Trichomoniasis und Tripper bekannt ist und als Antiseptikum (Patent RU 2164135) zur Behandlung der eitrigen Korneaentzündung eingesetzt wird.

**[0004]** Die anzumeldende technische Lösung ermöglicht, den Vorrat an Mitteln zur Prophylaxe und Behandlung der Krankheiten zu erweitern, die von den Koronaviren hervorgerufen werden.

**[0005]** Inaktivierende Wirkung des anzumeldenden Mittels wird durch folgende Beispiele veranschaulicht (zur Vereinfachung der Darlegung im weiteren Myramistin genannt).

Beispiel 1:

**[0006]** Ermittlung der minimalen Hemmkonzentration (MHK) von Myramistin wurde in bezug auf Testkultur der Koronaviren (HCoV OC43) in der Nierenzellkultur des Humanembryos in vitro nach folgendem Plan durchgeführt:

1.Schritt	Testvirus + Myramistin (in vorgegebener Konzentration)
2.Schritt	Inkubation (2 Stunden)
3.Schritt	Zugabe eines Neutralisierungsmittels zum Gemisch (z.B. 25 % Kuhembryo-Serum) und Inkubation 10-20 Min.
4.Schritt	Ansteckung der sensiblen Zellkultur (z.B. Nieren des Humanembryos)
5.Schritt	Inkubation (5-8 Tage)
6.Schritt	Erfassung der Ergebnisse nach dem Hämadsorption-Phänomen und zytopathischer Wirkung - Symplasmabildung

**[0007]** Die Versuchsreihen wurden mit vier unterschiedlichen Konzentrationen des Präparates ausgeführt, danach wurden seine MHK-Werte in Bezug auf die Koronaviren berechnet. Versuchsergebnisse sind in der Tabelle 1 dargestellt.

**Tabelle 1 MHK von Myramistin und anderen Antiseptiken in Bezug auf HCoV OC43 in vitro**

Antiseptikum	MHK (%)
Myramistin	0,01 ± 0,005
Decametoxin	0,1 ± 0,05
Chlorhexidin	0,05 ± 0,005
Etonium	0,5 ± 0,2
Dioxidin	R
Roccal	0,1 ± 0,05
Nonoxynol 9	0,2 ± 0,09
Tween 20	2,0 ± 0,8

**[0008]** Anmerkung: R = gegen Antiseptikumkonzentration über 2,5 % resistent.

**[0009]** Wie aus den Daten Tabelle 1 ersichtlich ist, übertrifft Myramistin in der Inaktivierungswirkung auf die Koronaviren die zur Zeit bekannten und anzuwendenden Antiseptiken.

## EP 1 634 590 A1

### Beispiel 2:

**[0010]** Ermittlung von Myramistin-MHK wurde in Bezug auf HCoV OC 43 bei Maussaugern in vivo nach folgendem Plan durchgeführt:

1.Schritt	Testvirus + Myramistin (in vorgegebener Konzentration)
2.Schritt	Inkubation (30 Min.)
3.Schritt	Ansteckung der Maussauger durch Gehirn bzw. Bauchraum
4.Schritt	Erfassung der Ergebnisse am 2.-3. Tag nach der Ansteckung (Hyperämie des Hautüberzuges, Tremor, Muskelsteifheit, kein Saugen, Tod der Tiere)

**[0011]** Insgesamt wurden 3 Versuchsreihen mit 4 Konzentrationen und je 6 Tieren durchgeführt. Vireninfektionsfähigkeit bei Maussaugern wurde in  $IgLD_{50}$  ausgedrückt. Die durchschnittlichen Versuchsergebnisse stellt die Tabelle 2 dar.

**Tabelle 2 Untersuchungsergebnisse von Myramistin-MHK in Bezug auf Infektionsfähigkeit HCoV OC 43 bei Maussaugern in vivo**

Reihen-Nr.	Infektionsaktivität der Viren (in $IgLD_{50}$ )				
	vor Behandlung	nach Behandlung mit Dose (in %)			
		0,0001	0,001	0,005	0,01
1.	6,4	3,6	1,0	0	0
2.	6,0	3,2	1,0	0	0
3.	6,3	3,0	1,2	0	0

**[0012]** Bewertung der erhaltenen Daten zeigt, daß Myramistin in der Konzentration von 0,0001 % Infektionsaktivität der Koronaviren fast um das Doppelte herabsinkt und in der Konzentration von 0,005 % und mehr völlig neutralisiert.

**Beispiel 3:** Myramistin-Einfluß auf Hämagglutinationsaktivität der Koronaviren OC 43 wurde durch Hämagglutinationsreaktion mit Huhn-Erythrozyten festgestellt.

**[0013]** Zu der HCoV OC 43 mit Hämagglutinationstiter min. 1:512 enthaltenen Kulturflüssigkeit Myramistin-Lösung in der Konzentration zwischen 0,000001 und 0,001 % geben, das Gemisch im Laufe von 30 Min. inkubieren, 25 % Kuhembryo-Serum zur Neutralisierung von Myramistin zugeben, 10-20 Min. stehen lassen, dann Hämagglutinationsreaktion mit Huhn-Erythrozyten durchführen. Insgesamt wurden 4 Versuchsreihen mit 4 Konzentrationen und je 3 Versuchen durchgeführt. Durchschnittsergebnisse sind in der Tabelle 3 dargestellt.

**Tabelle 3 Versuchsergebnisse der Myramistin-Wirkung auf Hämagglutinationsaktivität der Koronaviren OC 43**

Reihen-Nr.	Hämagglutinationsaktivität im Titer				
	vor Behandlung	nach Behandlung mit Dose (in %)			
		0,000001	0,0001	0,0001	0,001
1.	512	8	4	0	0
2.	2048	16	8	0	0
3.	1024	8	4	0	0
4.	2560	16	8	0	0

**[0014]** Versuchsergebnisse zeigen, daß Myramistin auf Hämagglutinin der Koronaviren OC 43, das ihre Adsorption in den sensiblen Zellen gewährleistet, in den niedrigeren Konzentrationen (0,000001 %) zu wirken beginnt als auf ihre Infektionseigenschaften (0,0001 %).

**[0015]** Aus den Beispielen ist ersichtlich, dass die anzumeldende technische Lösung die Verbindung von

Myristamidopropyltrimethylbenzylammoniumchlorid (Myramistin) als Inaktivierungsmittel der Koronaviren einsetzen und auf deren Basis neue prophylaktische Präparate und Heilmittel zur Bekämpfung der Krankheiten entwickeln lässt, die von Koronaviren hervorgerufen werden.

5

**Patentansprüche**

1. Verwendung von Myristamidopropyltrimethylbenzylammoniumchlorid (Myramistin) als Inaktivierungsmittel der Koronaviren.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/RU 2004/000215

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61K 31/165, A61P 31/14 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 31/165, 31/195, 31/15, A61P 31/14, 11/04, C07C 255/24 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)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5244922 A (STANISLAW R. BURZYNSKI) 14.09.1993	1
A	SU 1796185 A1 (PREDPRIYATIE P/YA G - 4684, KRYMSKY MEDITSINSKY INSTITUT) 23.02.1993	1
A	US 2459062 A (AMERICAN CYANAMID COMPANY) 11.01.1949	1
A	SAKNIMIT M. et al. Virucidal efficacy of physico-chemical treatments against coronaviruses and parvoviruses of laboratory animals. Jikken Dobutsu. 1988 Jul; 37 (3): 341-5, abstract	1
A	WOOD A. et al. The action of three antiseptics/disinfectants against enveloped and nonenveloped viruses. J Hosp Infect. 1998 Apr; 38 (4): 283-95, abstract	1
<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: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document 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		"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
Date of the actual completion of the international search 27 September 2004 (27.09.2004)		Date of mailing of the international search report 30 September 2004 (30.09.2004)
Name and mailing address of the ISA/ RU Facsimile No.		Authorized officer Telephone No.