VIROTECTON

I. A Virotecton kémiai megnevezése:

(2R)-{[6-O-(β-D-Mannopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl]oxy}
(phenyl)acetonitrillo] * [Thiosulfato]** 2[Sodium] complex

II. A gyártási folyamat lényege:

A készítmény gyártása egy többlépcsős folyamat. Az első lépés a glycosid előállítása, garantáltan enzimmentes tisztított formában. A második lépcső a glycosid prekomplexálása nátrium-tioszulfáttal, egy szigorúan betartott szűk termodinamikai sávban, 25 -50 C-on. A komplexálási eljárás 10 perc és 2 óra inkubálás idő között játszódik le, hőmérséklettől függően.

A komplexálási folyamat két különböző formában történhet . Az egyik eljárás „solid-state"-reakción alapszik, a másik eljárás oldat formában történő komplexálás . A por formátumú készítmény „solid-state"- reakción alapuló eljárással készül. A végtermék egy szupramolekuláris komplex, amely stabil és korlátlan ideig eltartható feltéve, ha a termodinamikai hősáv felső határát a tárolás során huzamos ideig nem lépjük át .

III. Általános ismertető

A Virotecton egy stabilizált molekuláris komplex, mely működését az immunrendszer hatékonyságának a fokozásával, illetve immunmodulálással fejti ki. A szer prodrogként (prekurzor molekulaként) kerül a szervezetbe és enzimatikus aktiválással válik biológiailag aktiv molekulává . Az aktív molekulák - a tiocianát, a hipotiocianát és a benzaldehid - tehát a szervezeten belül jönnek létre az immunrendszer közreműködésével . Az enzimatikus aktiválási folyamat lokálisan, a vírussal vagy baktériummal fertőzött szövetben játszódik le, ahol magas terápiás koncentráció jön létre, ugyanakkor a szisztémás koncentráció nagyon alacsony. Ennek a különleges pharmakodinamikai sajátosságának köszönheti a szer a nagyfokú hatékonyságát és a rendkivül alacsony toxicitását. A Virotecton terápiás indexe ezért magas. TI (terápiás index) = TD50 és az ED50 hányadosa . A Virotecton esetében a Terápias Index = 1000 : 1- nél is nagyobb.

IV. Hatásmechanizmus

A hatásmechanizmus megértéséhez először szükséges a fertőző betegségek patomechanizmusának vázlatos áttekintése.

A szervezetbe került vírus a fertőzés kezdetén egy exponenciális szaporodási fázison megy át. Ebben a fázisban - vírusfertőzés esetén - a vírus nagyszámú sejtben telepszik meg és felhasználva a gazdasejt metabolikus rendszerét „legyártatja" a saját DNS -ét , RNS- ét és proteinjeit, amely az új virionok komponenseit képezik , majd a gazdasejt elpusztul . Később, a gyógyulás során a környezetben lévő pluripotens őssejtek pótolják

az elhalt sejteket és ezzel a gyógyulás bekövetkezik. Ebből az egyszerűsítetten felvázolt folyamatból látható, hogy a leghatékonyabb terápia a vírus-replikáció megakadályozásával érhető el . A vírussal fertőzött sejtekben történő vírusszaporodás megállítását a fertőzött sejteknek a gyulladásos programozott sejthalál kiváltásával , vagyis a pyroptosis indukálásával érhetjük el a leggyorsabban (ref.10,11). Ismert, hogy a vírussal már megfertőződött sejt sorsa mindenképpen a sejthalál, de mielőtt ez a sejt elhal, előbb életet ad több millió virionnak. Ez a folyamat mindaddig zajlik, míg az adaptációs immunrendszer áthangolódik és az immun-kompetens sejtek elszaporodása által ellenanyagok termelődnek, miáltal a fertőzött sejtek fagocitálódnak, ami meggátolja a vírus további tevékenységét. Ez a védekezési rendszer sajnos időnként túl lassú és ennek következtében az élőlény akár el is pusztulhat.

Itt szeretnénk kitérni a pyroptosis jelenségére, ami az immunválasz-kutatás viszonylag új területe. A folyamat által leáll a vírussal (sokszor baktériummal is) fertőzött sejtek működése még a virionok szaporodása és kiszabadulása előtt. A folyamatot a virionok RNS/DNS-e, illetve baktériumok sejtfal szegmensei képesek indukálni. A reakció a caspáz-1 enzim, inflammaszómák és az interleukin-komplex működése által valósul meg. Az eddigi megfigyelések szerint a folyamat beindításában szereplő "redox-signaling" rendszernek meghatározó részei a Virotecton aktiválódásakor keletkező metabolitok. Ennek részletei természetesen minden lépésükben nem tisztázottak (mint, ahogy a pyroptosis jelensége is még további részletek feltárását igényli a tudománytól) (ref. 7,8,11).

Az a gyakorlati tapasztalat , hogy sok esetben az adaptációs immunválasz gyorsasága és hatékonysága nem kielégitő és ez fatális következménnyel járhat. A Virotecton hatásában kiegészíti az adaptációs immunrendszert és egy nagyfokú hatékonyság-növekedést idéz elő a fertőző betegségek leküzdésében.

A Virotecton tulajdonképpen enzim-szubsztrátként működik a szervezetben létező biokémiai védekezőrendszer számára . Ez a természetes biokémiai védekezőrendszer felelős azért, hogy a vírusfertőzést a legelső fázisban - az exponenciális vírusszaporodás elején – megállítsa, a fertőzött sejtek pyroptozisának indukálásával. Ez a mechanizmus a vírussal fertőzött sejtek pyroptozisán és a sejtek fagocitózisán alapszik. Ugyanis a vírussal fertőzött pyroptotikus sejtek fagocitózisa egy kulcsszignál az immunrendszer számára, ami további immun-kaszkád reakciót indít be (ref.13,14) .

A Virotecton aktiválása több lépcsőben zajló önreguláló folyamat:

A prodrog forma aktivációjában a kulcsszó a gyulladás. Minden olyan szövetben, ahol beindult a gyulladásos reakció, megindul a prodrog aktivációja is. Az első lépés a fehérvérsejtek lizoszomális hidroláz enzimjeinek segítségével történik a vírussal vagy baktériummal fertőzött szövetek sejtjeiben. (ref. 5,6) Ez biztosítja egyben a szer specificitását (a normál sejtekre egyáltalán nincs hatással, illetve sejttenyészetekbe oltott vírusok szaporodását sem befolyásolja, amit egzakt kísérletekkel már igazoltunk). A hatás tulajdonképpen egy, az immunsejtekben működő védekező-mechanizmus felerősítése által alakul ki. Ebben a mitochondriális sulfurtranszferázoknak, többek között rodanáz enzimeknek jut kulcsszerep,

melyek tevékenysége révén tiocianát vegyületek képződnek, melyekből peroxidázok és hidrogén-peroxid jelenlétében a rendkívül hatékony virucid hatású hipotiocianát képződik (ref. 15). A Virotecton ennek a hatékony virucid molekulának a mennyiségét növeli meg a megfelelő helyen és a megfelelő időben (ref.1,2,3,4,5,6,9). Legújabb kutatások szerint az emlős sejtekben lévő thioredoxin reduktáz enzim (H-TrxR) elbontja a környzetükben keletkező hipoiocianát molekulákat, megvédve ezzel a sejt redox-változásokra érzékeny molekuláit, ellenben a bakteriumokban is meglévő, de eltérő szerkezetű hasonló enzim enzim nem képes erre. Ebből következően feltételezhető, hogy a Virotecton (mint az előzetes eredmények alátámasztják) egyes bakteriális fertőzések leküzdésében is hatékony segítséget nyújthat (16). Végezetül újból kiemelnénk, hogy a szernek tapasztalható mellékhatásai nincsenek, ami a teljesen ártalmatlan prodog formának, a specifikus aktiválási, illetve hatás-helyszínnek (gyulladásos szövet), illetve a védekező folyamat egyes sarkalatos pontjainak (tiocianát-rendszer, peroxidáz rendszer, pyroptosis rendszer) jelentős felerősítése által kifejtett biológiai hatásnak köszönhető, ami nem indít be "élet-idegen" regulációkat és káros anyagcsere utakat, ellentétben a jelenleg forgalomban lévő virusellenes szerekkel.

V. Adagolás

Hatékony dózis meghatározás: Klinikai titrálással állapítottuk meg, hogy 2mg/ttkg-nál kisebb dózisnak csökkent a terápiás hatása, illetve nem elég gyors a hatás. A 15mg/ttkg-nál nagyobb dózis nem fokozta a gyógyulási sebességet vagy a hatékonyságot.

A minimum dózis vírusos betegségekben 2mg/testtömeg kg.
Az átlag közepes dózis 5mg/ ttkg 1-3 szor naponta, a vírusos betegség súlyosságától függően. Súlyos fertőzés esetén a dózis akár 15mg/ttkg-ra is növelhető.. A legtöbb esetben szignifikáns gyógyulás következik be 1-3 nap alatt , de a kezelést minden esetben javasolt legalább 5 napig folytatni az esetleges fellángolás megelőzése érdekében.

A hatásmechanizmusból adódóan, a prodroggal egyidejűleg antioxidáns hatású anyagokat (C-vitamin, E-vitamin, telítetlen zsírsavak stb.) adni nem javasolt, mert ezzel csökken a hatékony hipotiocianát mennyisége a fertőzött sejtekben.

VI. Klinikai tapasztalatok

A Virotectonnal már 6 éve folynak kísérletes és klinikai tesztelések állatokon. Jelen pillanatban a szer túl van az akut- és a krónikus toxicitási vizsgálatokon, mind laboratóriumi állatokon (egerek), mind egészséges kutyákon és macskákon vizsgálva. A vizsgálatokat egy független kutatócsoport végezte az Állatorvostudományi Egyetemen (az ezzel kapcsolatos dokumentumok és értékelések természetesen rendelkezésre állnak). Itt említenénk meg, hogy egereknek adott 1000-szeres terápiás dózis sem okozott morbiditást a kísérleti állatokban (ezt a kísérletet csak saját kíváncsiságunk miatt végeztük el, mert ez a hatóanyag mennyiség több

nagyságrenddel meghaladja az akut toxicitási vizsgálatok előírásait). A szer minden vizsgálat alkalmával jelesre vizsgázott, megerősítve azt a megfigyelést, hogy klinikailag hatékony dózisok több nagyságrendnyi túladagolása sem okoz semmiféle kimutatható negatív hatást a nevezett állatfajokon.

A VIROTECTON gyógyító hatását három - vírusos betegség kezelése során - vizsgáltuk egzakt elrendezésben (nevezetesen kutyák parvovírusos bélgyulladása, macskák panleukopeniája és macskák herpesz-rhinotrachitise). A - rt-PCR technikával kimutatott kórokozóval - fertőződött beteg állatokat két csoportra osztva –mindhárom betegségnél – bizonyítottuk, hogy a hagyományos tüneti kezelést Virotectonnal kiegészítve szignifikánsan megemelkedett a túlélési arány (gyakorlatilag mindegyik állat túlélte, az amúgy jelentős mortalitású betegségeket), és gyógyulási idő is jelentősen (statisztikai elemzéssel alátámasztva) lerövidült. Emellett igazoltuk, hogy a Virotectonnal kezelt és tünetmentessé vált állatokban megszűnt a vírusűrítés (ellentétben a Virotectont nem kapott, de tünetmentessé váló egyedek esetével), ami járványtani szempontból jelentős.
E három - egzakt módon lefolytatott hatékonyság-vizsgálaton túl - sok dokumentált, egyedi klinikai eset erősíti a szer vírusellenes hatékonyságát és ártalmatlanságát a vírusfertőzések széles skáláján. Példaként az alábbi fertőző betegségek esetében tapasztaltuk a Virotecton gyógyító hatását: Kutyák: parvovírusos bélgyulladás, szopornyica (az emberi kanyaróvírus nagyon közeli rokona), parainfluenza fertőzés, herpeszvírus fertőzés, hemopoetikus mycoplasma fertőzés. Macskák: parvovírusos panleukopénia, herpes rhinotrachitis, calicivírusos rhinotracheitis. Lovak: rhodococcus equi szeptikémia. Nyulak: pasteurellás pneumonia.

Jelenleg haszonállatok (sertések és kacsák) egyes vírusbetegségeinek kezelésével kapcsolatosan folynak a szerrel teszt-vizsgálatok. Ami a közeli jövőben borjakra és galambokra is kiterjed.

VII. Összefoglalás

1. A Virotecton már jónéhány állati vírusfertőzés esetében bizonyította jelentős terápiás hatását és a vizsgálatok kiterjesztése folyamatos.
2. Mindezt a legcsekélyebb mellékhatások nélkül.

Nyilvánvaló, hogy a szerrel kapcsolatban nagy reményeket fűzünk a vírusbetegségek terápiájának vonatkozásában és ennek megfelelően folyamatban van a szer állatgyógyászati bevezetésének előkészítése (ezért történtek már meg az eddigi kísérletes és klinikai kipróbálások is). De mivel a szer hatása univerzális, bízvást reménykedhetünk az embereken történő használat hasonló eredményeiben is. Tisztában vagyunk vele, hogy ehhez egy nagyon részletes, alapos és hosszadalmas engedélyeztetési eljárást kell jó eredménnyel elvégezni, amihez mi fejlesztők, támogatásra szorulunk.

Authors:

Dr. Szaniszló Ferenc kandidátus és Dr. Sichtnik László

Irodalom:

1. Antiinflammatory and Antimicrobial Effects of Thiocyanate in a Cystic Fibrosis Mouse Model
Joshua D. Chandler,1,2 Elysia Min,2 Jie Huang,2 Cameron S. McElroy,1,2 Nina Dickerhof,3 Tessa Mocatta,3 Ashley A. Fletcher,4 Christopher M. Evans,4 Liping Liang,1 Manisha Patel,1 Anthony J. Kettle,3 David P. Nichols,2,5,* and Brian J. Day⊠1,2,*Proc Natl Acad Sci U S A. 2009 Dec 1; 106(48): 20515–20519.
US National Library of Medicine National Institute of Health
Am J Respir Cell Mol Biol. 2015 Aug; 53(2): 193–205.
doi: 10.1165/rcmb.2014-0208OC

2. Neutrophil-Mediated Regulation of Innate and Adaptive Immunity: The Role of Myeloperoxidase
Dragana Odobasic,1 A. Richard Kitching,1,2 and Stephen R. Holdsworth1,2
1Centre for Inflammatory Diseases, Monash University, Department of Medicine, Monash Medical Centre, Clayton, VIC 3168, Australia
2Department of Nephrology, Monash Health, Clayton, VIC 3168,
Journal of Immunology Research
Volume 2016 (2016), Article ID 2349817, 11 pages
http://dx.doi.org/10.1155/2016/2349817
Review Article

3. Biochemical mechanisms and therapeutic potential of pseudohalide thiocyanate in human health
Joshua D. Chandler & **Brian J. Day**
Pages 695-710 | Received 06 Oct 2014, Accepted 28 Dec 2014, Accepted author version posted online: 07 Jan 2015, Published online: 28 Jan 2015

4. Cyanide-metabolizing enzyme rhodanese in human tissues: comparison with domestic animals
Comparative Clinical Pathology
March 2007, Volume 16, Issue 1, pp 47–51 | Cite as

5. Studies on the activities and properties of lysosomal hydrolases in fractionated populations of human peripheral blood cells.
Nakagawa S, Kumin S, Nitowsky HM.
Clin Chim Acta. 1980 Feb 14;101(1):33-44.

6. Increased activity of lysosomal acid hydrolases in the cell-free cerebrospinal fluid of bacterial meningitis.
Beratis NG1, Mavrommatis T, Hatiris I, Kavaliotis J, Tsagaropoulou-Stiga H, Syrogiannopoulos GA.
Pediatr Res. 1997 Feb;41(2):235-41.

7. Cell Death in the Maintenance and Abrogation of Tolerance: The 5W's of dying cells
Thomas S. Griffith1 and Thomas A. Ferguson2
Author information ► Copyright and License information ► Disclaimer
Immunity. 2011 Oct 28; 35(4): 456–466.
doi: 10.1016/j.immuni.2011.08.011

8.Cyanide-induced apoptosis and oxidative stress in differentiated PC12 cells.
Mills EM1, Gunasekar PG, Pavlakovic G, Isom GE.

9. THIOCYANATE: A potentially useful therapeutic agent with host defense and antioxidant properties
Joshua D. Chandlera,d and Brian J. Daya,b,c,d,*
Biochem Pharmacol. 2012 Dec 1; 84(11): 1381–1387.
Published online 2012 Aug 8. doi: 10.1016/j.bcp.2012.07.029

10. Viruses and apoptosis
Brian J Thomson
Int J Exp Pathol. 2001 Apr; 82(2): 65–76.
doi: 10.1111/j.1365-2613.2001.iep0082-0065-x

11. Apoptosis, Necrosis and Pyroptosis
Science 01 Apr 2016:
Vol. 352, Issue 6281, pp. 48-50
DOI: 10.1126/science.352.6281.48-j

12 .Redox Regulation of Inflammatory Processes Is Enzymatically Controlled
Inken Lorenzen, 1 Lisa Mullen, 2 Sander Bekeschus, 3 and Eva-Maria Hanschmann
Oxid Med Cell Longev. 2017; 2017: 8459402.
Published online 2017 Oct 8. doi

13. Signaling by ROS drives inflammasome activation.
Martinon F1.
Eur J Immunol. 2010 Mar;40(3):616-9. doi: 10.1002/eji.200940168.

14. Debugging how Bacteria Manipulate the Immune Response
Author links open overlay panel
Philippe J.Sansonetti12James P.Di Santo34
Immunity
Val 26 issue 2

15. Bactericidal and Cytotoxic Effects of Hypothiocyanite-Hydrogen Peroxide Mixtures
JAN CARLSSON,'* MAY-BRITT K. EDLUND1, AND LENNART HANSTROM2 Departments of Oral Microbiology1 and Periodontology,2 University of Umea, S-90187 Umea, Sweden
Copyright © 1984, American Society for Microbiology
Vol. 44, No. 3

16. Selective Metabolism of Hypothiocyanous Acid by Mammalian Thioredoxin Reductase Promotes Lung Innate Immunity and Antioxidant Defense*
Received for publication, March 8, 2013, and in revised form, April 26, 2013 Published, JBC Papers in Press, April 29, 2013, DOI 10.1074/jbc.M113.468090
Joshua D. Chandler, David P. Nichols, Jerry A. Nick, Robert J. Hondal and Brian J. Day