

PETITORIO



3 003341 00

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicación : 03003341 00000000

Folios: 50

Fecha (M/D): 2003-01-20 17:38:41

E Trámite : 011 PCT-PATENT 379 FASE NRCI 411 PRESENTACIÓN
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONESFORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

①

SOLICITUD DE :

☒

Patente de Invención

☐

Patente de Modelo de Utilidad

☐

Capítulo I.

☒

Capítulo II.

②

SOLICITANTE
(71)

Nombre: SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION

Dirección: One Franklin Plaza, Philadelphia, PA 19103, Estados Unidos de América.

Nacionalidad o Domicilio: ESTADOUNIDENSE

Lugar de Constitución: Una corporación organizada bajo las leyes de Commonwealth de Pensilvania, E. U. A.

Teléfono:

Fax:

E-Mail

IDENTIFICACION

C.C.

☐

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número

③

REPRESENTANTE
APODERADO

Nombre: CARLOS R. OLARTE

Dirección: Avda 82 No. 10-62 Piso 6

Teléfono: 634-1500

Fax: 376-2211

E-Mail: patenta.bogota@bakernet.com

IDENTIFICACION

C.C.

☒

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número 79.782.747 Btá TP 74.295

④

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: SUSAN B. DILLON; RUTH TAL-SINGER

Dirección: 266 Imrie Place Alamo, California 94507, Estados Unidos de América;
1250 South Collegeville Road, PA 19426-0989, Estados Unidos de América.

Nacionalidad o Domicilio: ESTADOUNIDENSE

⑤ PCT (85)

Solicitud Internacional No. PCT/US01/22328

Fecha Julio 16, 2001

Publicación Internacional No. WO 02/05814

Fecha Enero 24, 2002

⑥ Título (54)

USO DE ANTAGONISTAS DE LOS RECEPTORES DE IL-8 EN EL TRATAMIENTO DE INFECCIONES VIRALES

⑦ Clasificación Internacional (51)

A61K 31/438 // 31/47 // 31/425

⑧ Prioridad

SI ☒NO ☐

(33) País de Origen

US

(32) Fecha

Julio 18, 2000

(31) Número de Solicitud

60219,053

⑨ Comprobante de pago No. 82173; 1693

Fecha 12-02-02, 01-10-03

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página

2

10

ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☐ Documento que acredite la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica
- ☒ Poderes, si fuere el caso
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante
- ☐ Declaraciones
- ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen preliminar (IPEA)
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico
- ☐ Arte final 12 x 12
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- ☒ Otros: Búsqueda internacional

11

FIGURA CARATERISTICA

12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE

FIRMA:

C.C. 19.782.747 de Bta T.P. 74295

Instrucciones para la presentación de los anexos, ver reverso de esta página

RB 43

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

HIT : 800176089-2

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion : 03003341 00000000
Fecha (AMB): 2003-01-20 17:38:41
Tramite : 011 PCT-PATENT 379 FASE INCI 411 PRESENTAR
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
Folios: 50

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 02 - 82,173
FECHA : DICIEMBRE 6 DE 2002

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PASO	BANCO	CUENTA	No. PASO	FECHA PASO	Vr. PASO
JORGE LUIS GOMEZ	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	7973876	06/12/2002	20,670,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT. CONTABILITICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	378,000.00
	TOTAL :	\$ 378,000.00

SON: TRESCIENTOS SETENTA Y OCHO MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5, 7 y 10
Conmutador 382 0840
Fax 350 5220
E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

NIT : 800176089-2

SUPERINTENDENCIA

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 03 - 1,693
FECHA : ENERO 10 DE 2003

SUPERINTENDENCIA Y COMERCIO
Radicacion : 03003341 00000000 Folios: 50
Fecha (HH): 2003-01-20 17:30:41
Tramite : 011 OCT-PATENT 379 FASE NDCI 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

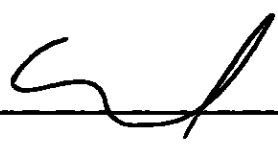
==== CONSIGNACION ===

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
JULIAN ANDRES VARGAS	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	8285310	10/01/2003	15,879,000.00

==== C O N C E P T O ====

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	998 VALOR COMPLEMENTO TARIFA AÑO ANTR
		TOTAL :	\$ 22,000.00

SON: VEINTIDOS MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5, 7 y 10
Conmutador 382 0840
Fax 350 5220
E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

APOSTILLA EN PODER DE SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION

APOSTILLA

(Convención de la Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País : Estados Unidos de América
Este documento Público
2. ha sido firmado por Deborah Ann Spearman
3. Quien ejerce funciones de Notario Público del Condado de Montgomery
4. lleva el sello de Deborah Ann Spearman, Notario Público del Estado de Pensilvania

CERTIFICADO

5. En Harrisburg, Pensilvania
6. El 3 de diciembre de 2002.
7. Por C. Michael Weaver, Secretario de Estado de Pensilvania
8. Bajo el No. A 0214797
9. Gran Sello del Estado de Pensilvania
10. Firma ilegible de C. Michael Weaver, Secretario de Estado de Pensilvania

PODER DE REPRESENTACIÓN

Bilingüe inglés - español otorgado a Carlos Reinaldo Olarte y/o Alvaro Correa Ordoñez. Firmado en King of Prussia, Pensilvania el 22 de noviembre, 2002 por Stephen Venetianer- Vicepresidente de Patentes farmacéuticas.

CERTIFICACIÓN NOTARIAL

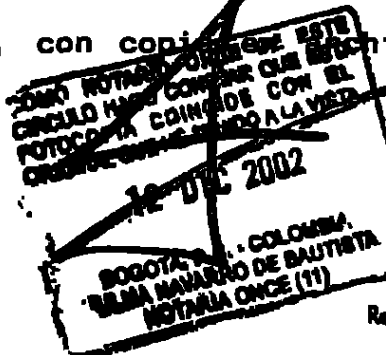
Bilingüe inglés - español del 22 de noviembre, 2002 certificando que Stephen Venetianer ejerce funciones de Vicepresidente de Farmacéuticos de Smithkline Beecham Corporation.

Firmado por Deborah Ann Spearman.

Sello: Deborah Ann Spearman Notario Público - Upper Merion Twp. Condado Montgomery. Sus funciones vencen el 10 de enero, 2004. Miembro de la Asociación de Notarios de Pensilvania.

Sello en alto relieve del Notario de Público Deborah Ann Spearman.

Traducción fiel del inglés, con copia en archivo. Bogotá 11-12-2002.



Marlén Neira C.

Marlén Neira C.

MARLEN NEIRA CASTRO
Traductor e Intérprete Oficial
Inglés - Español - Inglés
Resolución No. 2117 del 7 Oct 1987

86

APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

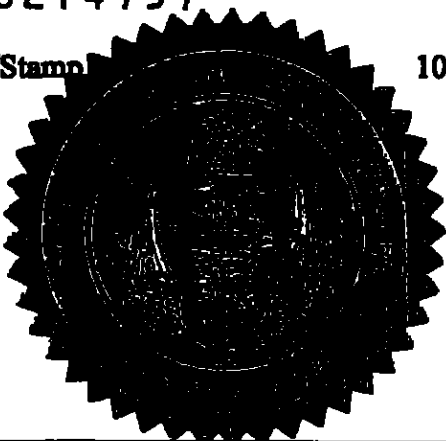
1. Country: United States of America
2. This public document has been signed by Deborah Ann Spearman
3. acting in the capacity of Notary Public, Montgomery County
4. bears the seal/stamp of Deborah Ann Spearman, Notary Public, Commonwealth of Pennsylvania

Certified

5. at Harrisburg, Pennsylvania
6. The 3rd day of December, 2002
7. by C. Michael Weaver, Secretary of the Commonwealth of Pennsylvania
8. No 0214797

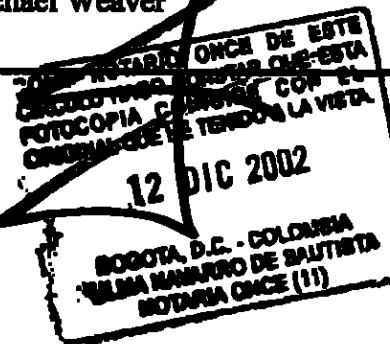
9. Seal/Stamp

10. Signature:



C. Michael Weaver

C. Michael Weaver



POWER OF ATTORNEY

PODER

The undersigned,

SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION,

located in
One Franklin Plaza
Philadelphia, Pennsylvania 19103
United States of America

declares that it hereby grants to

**CARLOS REINALDO OLARTE AND/OR
ALVARO CORREA ORDONEZ**

a full and sufficient power of attorney to apply to the proper
national officers and authorities for the issue of:

Patents of Invention, Patents for Utility Models, Industrial
Design Registrations, mergers, changes of name,
assignments, filing and prosecution of oppositions, changes of
address,

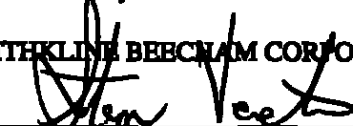
to which end it empowers them to take all steps necessary
before said authorities for the objects stated, to file petitions,
prepare descriptions, make protests, declarations, appeals
and objections, pay imposts, apply for certifications, receive
documents and securities, abandon applications and collect
refunds. To the said mandatories sufficient power is granted
hereby to receive notifications for and on behalf of the
Company, to confer powers on those who are to represent
the company judicially and extrajudicially, to answer in
court in the matter of all claims and demands that may be
presented in connection with the patents, and to do
everything that may be required, before administrative or
judicial officers of any class giving them likewise power to
substitute these presents and revoke such substitutions if
necessary.

Done and subscribed in King of Prussia, Pennsylvania,
U.S.A.

On the 22nd day of November 2002.

SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION

BY:


Stephen Venetianer
Vice President
Pharmaceutical Patents

La abajo firmada,

SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION,

domiciliada en
One Franklin Plaza
Philadelphia, Pennsylvania 19103
United States of America

declara por el presente otorgar a

**CARLOS REINALDO OLARTE Y/O
ALVARO CORREA ORDONEZ**

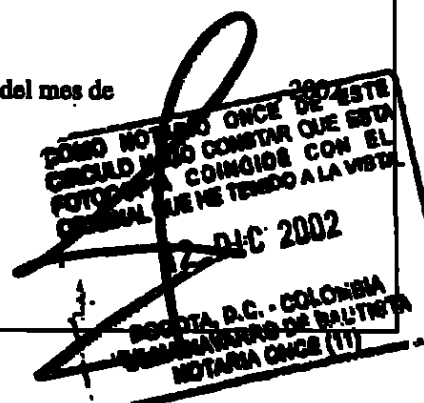
poder especial amplio y bastante para recabar de las
oficinas y autoridades nacionales que correspondan, la
obtención de:

Patentes de invención, Patentes de Modelo de Utilidad,
Registro de Diseños Industriales, fusiones, cambios de
nombre, cesiones, presentación y trámite de
oposiciones, cambios de dirección.

a cuyo efecto los faculta para dar ante dichas
autoridades, todos los pasos necesarios al objeto
indicado, elevar solicitudes, formular descripciones,
protestas, declaraciones, apelaciones y reclamos, oblar
impuestos, solicitar testimonios, recibir documentos y
valores, desistir y percibir. Se concede a los
expresados mandatarios poder bastante para recibir
notificaciones a nombre de la compañía, otorgar
poderes a quienes vayan a representar a la compañía
judicial y extrajudicialmente, responder en juicio a
todas las reclamaciones o demandas que por motivo de
las patentes se presentaren y hacer cuanto fuere
necesario, ante las autoridades administrativas o
judiciales de cualquier orden, dándoles asimismo
facultad para sustituir el presente y en caso necesario
revocar dichas sustituciones.

Dado y firmado en

A los días del mes de



NOTARIAL CERTIFICATION

CERTIFICACION NOTARIAL

On this 22nd day of November 2002,

A los días del mes de de 2002,

the undersigned Notary

el suscrito Notario

CERTIFIES

DA FE

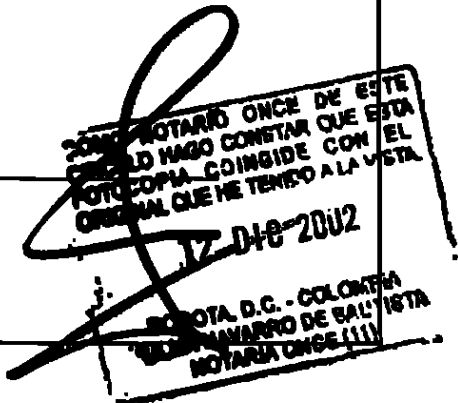
1. That Stephen Venetianer, of legal age and domiciled in One Franklin Plaza, Philadelphia, Pennsylvania 19103, United States of America, set his hand on the foregoing document.
2. That the grantor is to me personally known and that he/she has legal capacity to execute the instrument.
3. That the grantor has executed the foregoing document as Vice President, Pharmaceuticals
of the judicial person.
4. That the judicial person
having its home office in One Franklin Plaza, Philadelphia, Pennsylvania 19103, United States of America,
is duly organized, has present legal existence and that the purposes for which the power of attorney is granted are within the scope of its corporate purposes.
5. That the grantor has in fact referred to the authority and that his/her representation is legal
6. That I have based certifications 3, 4 and 5 above on the following authentic documents for such purpose exhibited to me and which I mention specifically, giving their dates and their origin or source:

1. Que Stephen Venetianer, mayor y domiciliado en One Franklin Plaza, Philadelphia, Pennsylvania 19103, United States of America, suscribió de su puño y letra el documento que antecede.
2. Que conozco al otorgante y que éste tiene capacidad legal para el otorgamiento.
3. Que el otorgante ha suscrito el referido documento en su carácter de Vice President, Pharmaceuticals
de la persona jurídica.
4. Que la persona jurídica
con sede en One Franklin Plaza, Philadelphia, Pennsylvania 19103, United States of America,
está legalmente constituida, que tiene existencia legal actual y que el acto para el cual se ha otorgado el poder está comprendido entre los que constituyen su objeto social.
5. Que el otorgante tiene efectivamente la representación que ostenta, y que esta es legítima.
6. Que he basado las certificaciones 3, 4 y 5 anteriores en los siguientes documentos auténticos que al efecto se me exhibieron y que menciono específicamente con expresión de sus fechas y de su origen o procedencia:


Notary Public

El Notario Público

Notarial Seal
Deborah Ann Spearman, Notary Public
Upper Merion Twp., Montgomery County
My Commission Expires Jan 10, 2004


CÓMO NOTARIO ONCE DE ESTE
CÓMO HAGO CONSTAR QUE ESTA
FOTOCOPIA COINCIDE CON EL
ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
12-04-2002
BOGOTÁ D.C. - COLOMBIA
BOGOTÁ D.C. - COLOMBIA
NOTARIA ONCE (11)

429

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
24 January 2002 (24.01.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/05814 A1

- (51) International Patent Classification: **A61K 31/38**, 31/47, 31/425 (74) Agent: VENETIANER, Stephen; UW2220, 709 Swedeland Road, King of Prussia, PA 19406 (US).
- (21) International Application Number: PCT/US01/22328 (81) Designated States (*national*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GR, GU, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (22) International Filing Date: 16 July 2001 (16.07.2001)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data: 60/219,053 18 July 2000 (18.07.2000) US (84) Designated States (*regional*): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SI, SZ, TZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- (71) Applicant (*for all designated States except US*): SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION [US/US]; UW2220, 709 Swedeland Road, King of Prussia, PA 19406 (US).
- (72) Inventors; and (75) Inventors/Applicants (*for US only*): DILLON, Susan, R. [US/US]; 266 Imrie Place, Alamo, CA 94507 (US). TAL-SINGER, Ruth [US/US]; 1250 South Collegeville Road, Collegeville, PA 19426 (US).
- Published:
— with international search report
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.



WO 02/05814 A1

(54) Title: USE OF IL-8 RECEPTOR ANTAGONISTS IN THE TREATMENT OF VIRUS INFECTIONS

(57) Abstract: The present invention is directed to the novel use of an IL-8 receptor antagonist for the treatment of human virus infections and the exacerbation of symptoms associated therewith.

13
10

USE OF IL-8 RECEPTOR ANTAGONISTS IN THE TREATMENT OF VIRUS INFECTIONS

FIELD OF THE INVENTION

5 This invention relates to the use of IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2, and
ENA-78 modulators in the treatment of viral infections.

BACKGROUND OF THE INVENTION

 Human rhinovirus (HRV), the most frequent cause of the common cold, is
increasingly associated with more serious sequelae including exacerbations of
10 asthma, chronic bronchitis, COPD, otitis media, and sinusitis. Recent published
studies in adults and adolescents, using PCR to assist in viral detection, have shown
that up to 50 to 80% of asthma exacerbations are associated with upper respiratory
tract virus infection, and that rhinovirus is the most common cold virus.

 HRV infects nasal epithelial cells. Recent evidence suggests the virus may
15 also infect bronchial epithelium. Prodromal cold symptoms are apparent within 24
hours post-infection, peak on days 2 through 5, and resolve within 7 to 14 days.
However, the effects can be more protracted in some individuals. While the virus
may clear, symptoms often persist. Symptoms are believed to arise more from the
host's response to infection, than an acute cytotoxic effect, since only a small
20 fraction of upper respiratory epithelial cells are demonstrably infected, and there is
minimal epithelial cell damage. Increased intranasal levels of kinins, IL-1, IL-8, IL-
6, IL-11, and neutrophils are found in normal individuals infected with rhinoviruses.
A correlation between IL-8 concentration in nasal secretions with local
myeloperoxidase level as well as symptom severity has been demonstrated in several
25 recent studies. Intranasal concentrations of IL-1 and IL-6 have been correlated with
symptom severity as well. Experimental rhinovirus infection also results in
enhanced immediate and late phase allergic reactions, and in increased infiltration of
T lymphocytes and eosinophils into the lower airways. In atopics and asthmatics,
these effects persist for up to 2 months post-infection. Human bronchial epithelial
30 cell lines have been shown to produce IL-1, IL-6, IL-8, IL-11 and GM-CSF in
response to rhinovirus infection. Early production of cytokines by rhinovirus-

14
11

infected epithelial cells may therefore be responsible for triggering recruitment of neutrophils, T-cells and activated eosinophils into the upper and lower airways.

Additionally, IL-1, IL-6 and IL-8 are also produced in response to infection with other respiratory viruses (influenza, respiratory syncytial virus) which can cause the common cold and associated sequelae.

Many different names have been applied to Interleukin-8 (IL-8), such as neutrophil attractant/activation protein-1 (NAP-1), monocyte derived neutrophil chemotactic factor (MDNCF), neutrophil activating factor (NAF), and T-cell lymphocyte chemotactic factor. Interleukin-8 is a chemoattractant for neutrophils, basophils, and a subset of T-cells. It is produced by a majority of nucleated cells including macrophages, fibroblasts, endothelial and epithelial cells exposed to TNF, IL-1 α , IL-1 β or LPS, and by neutrophils themselves when exposed to LPS or chemotactic factors such as FMLP. M. Baggiolini et al., J. Clin. Invest. 84, 1045 (1989); J. Schroder et al., J. Immunol. 139, 3474 (1987) and J. Immunol. 144, 2223 (1990); Strieter, et al., Science 243, 1467 (1989) and J. Biol. Chem. 264, 10621 (1989); Cassatella et al., J. Immunol. 148, 3216 (1992).

GRO α , GRO β , GRO γ and NAP-2 also belong to the chemokine family. Like IL-8 these chemokines have also been referred to by different names. For instance GRO α , β , γ have been referred to as MGS α , β and γ respectively (Melanoma Growth Stimulating Activity), see Richmond et al., J. Cell Physiology 129, 375 (1986) and Chang et al., J. Immunol 148, 451 (1992). All of the chemokines of the α -family which possess the ELR motif directly preceding the CXC motif bind to the IL-8 B receptor (CXCR2).

IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2, and ENA-78 stimulate a number of functions in vitro. They have all been shown to have chemoattractant properties for neutrophils, while IL-8 and GRO α have demonstrated T-lymphocytes, and basophilic chemotactic activity. In addition IL-8 can induce histamine release from basophils from both normal and atopic individuals. GRO- α and IL-8 can in addition, induce lysosomal enzyme release and respiratory burst from neutrophils. IL-8 has also been shown to increase the surface expression of Mac-1 (CD11b/CD18) on neutrophils without de novo protein synthesis.

15
12

- In vitro, IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ and NAP-2 induce neutrophil shape change, chemotaxis, granule release, and respiratory burst, by binding to and activating receptors of the seven-transmembrane, G-protein-linked family, in particular by binding to IL-8 receptors, most notably the IL-8 β receptor (CXCR2).
- 5 Thomas et al., J. Biol. Chem. 266, 14839 (1991); and Holmes et al., Science 253, 1278 (1991).

- Two high affinity human IL-8 receptors (77% homology) have been characterized: IL-8RA, which binds only IL-8 with high affinity, and IL-8RB, which has high affinity for IL-8 as well as for GRO α , GRO β , GRO γ and NAP-2. See
- 10 Holmes et al., supra; Murphy et al., Science 253, 1280 (1991); Lee et al., J. Biol. Chem. 267, 16283 (1992); LaRosa et al., J. Biol. Chem. 267, 25402 (1992); and Gayle et al., J. Biol. Chem. 268, 7283 (1993).

- Interference with the biochemical processes of epithelial cells resulting from virus infection represents a viable new therapeutic target for an IL-8 receptor
- 15 antagonist. The present invention is directed to the novel discovery of treatment of this therapeutic target.

SUMMARY OF THE INVENTION

- The present invention provides for a method of treating a chemokine
- 20 mediated disease, wherein the chemokine is one which binds to an IL-8 A or B receptor and which method comprises administering an effective amount of an IL-8 receptor antagonist, or a pharmaceutically acceptable salt thereof. The present invention further relates to the use of an IL-8 receptor antagonist for the treatment, including prophylaxis and prevention/reduction of the severity of the underlying
- 25 condition, of a virus infection including but not limited to human rhinovirus, enteroviruses, coronavirus, influenza virus, parainfluenza virus, respiratory syncytial virus, and adenovirus, in a human in need thereof, which method comprises administering to said human an effective amount of an IL-8 receptor antagonist.

103

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

IL-8 and other cytokines affect a wide variety of cells and tissues and these cytokines as well as other leukocyte derived cytokines are important and critical inflammatory mediators responsible for the symptoms of many viral infections. The inhibition of these cytokines is of benefit in controlling, reducing and alleviating many of these symptoms of respiratory viral infection. In addition, the present invention is directed to the treatment of symptoms caused by viral infection in a human which is caused by the human rhinovirus, other enterovirus, coronavirus, herpesviruses, influenza virus, parainfluenza virus, respiratory syncytial virus or an adenovirus. In addition, the present invention is directed to respiratory viral infections, which exacerbate underlying chronic conditions such as asthma, chronic bronchitis, chronic obstructive pulmonary disease, otitis media, and sinusitis. It should also be noted that the respiratory viral infection treated herein may be associated with a secondary bacterial infection, such as otitis media, sinusitis or pneumonia.

The present invention will demonstrate that IL-8 receptor antagonists are useful in the treatment of symptoms associated with respiratory viral infection and prevention/reduction of the severity of exacerbations of underlying conditions, including asthma and otitis media, COPD, sinusitis, chronic bronchitis, etc amongst others.

Suitable IL-8 inhibitors are well known in the art, and an assay for determining IL-8 inhibition is also readily available. For instance, see U.S. Patents 5886044, 5780483, 6005008, 5929250, 6015908; 5919776, U.S. Applications 09/111663, 09/125279, 09/240354, 09/202570, 09/202586, 09/202569, 09/202568, 09/230120, 09/230290, 09/230952, 09/230977, 09/230981, 09/230980, 09/242187, 09/341378, 09/341382, 09/341262, 09/463673, 09/508039, 09/486986, WO99/65310, WO 0012489, WO 0009511, WO 9942464, WO 9942463, WO 9942461, WO00/05216, WO99/36069, WO99/36070, WO00/06557, PCT/US99/23776, PCT/US99/29940, U.S. Provisional Applications 60/134728, 60/136666, 60/136665, 60/136717, 60/136667, 60/139675,

17
14

60/139680,60/139678,60/139673,60/140024,60/139677,60/139674,
60/140025,60/145756,60/164350,60/186239,60/186183,60/186182,
60/188410,60/188243,60/189176,60/189175,60/189848,60/192132,or
60/196022.

- 5 The IL-8 receptor antagonist may also be administered with a second
therapeutic agent. The second therapeutic agent may be an antiviral agent such as
ribavirin, amantidine, rimantidine, relenza, tamiflu, BTA 188, RWJ-270210 (BCX-
1812), sICAM-1, tICAM453, Pleconaril or AG 7088; it may also be an
antihistamine, such as Benadryl, chlorpheniramine and salts thereof,
10 brompheniramine or salts thereof, etc, a decongestant, such as phenylpropanolamine
and salts thereof, pseudoephedrine or salts thereof; steroids, such as
dexamethasone, prednisone, or prednisolone, etc; various antibiotics, such as the
quinolones, cephalosporins, β -lactamase inhibitors, etc.; anti-inflammatory agents,
such as CSAIDS, COX-1 or COX-2 inhibitors, ASA, or indomethacin, etc.

15

DESCRIPTION OF THE FIGURES

Figure I - Inhibition of RV or Gro β -induced calcium mobilization in human
neutrophils by CXCR2 antagonist X.

- 20 Figure II - Inhibition of RV-induced chemotaxis of human neutrophils by CXCR2
antagonist X.

Figure III - RV, gro α , gro β , and gro β -T induced calcium mobilization in
neutrophils.

METHOD OF TREATMENT

- 25 The present IL-8 receptor antagonist, or a pharmaceutically acceptable salt
thereof, can be used in the manufacture of a medicine for the prophylactic or
therapeutic treatment of symptoms or sequelae of viral infection in a human, or other
mammal, which is exacerbated or caused by excessive or unregulated IL-8 cytokine
production by such mammal's cell, such as but not limited to monocytes and/or
macrophages, or other chemokines which bind to the IL-8 A or B receptor, also
30 referred to as the type I or type II receptor.

18
15

Accordingly, the present invention provides a method of treating a viral infection, wherein the chemokine is one which binds to an IL-8 A or B receptor and which method comprises administering an effective amount of a present inhibitor or a pharmaceutically acceptable salt thereof. In particular, the chemokines are IL-8,
5 GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 or ENA-78.

In order to use a present IL-8 receptor antagonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof in therapy, it will normally be formulated into a pharmaceutical composition in accordance with standard pharmaceutical practice. This invention, therefore, also relates to a pharmaceutical composition comprising
10 an effective, non-toxic amount of a present IL-8 receptor antagonist and a pharmaceutically acceptable carrier or diluent.

The present IL-8 receptor antagonists, pharmaceutically acceptable salts thereof and pharmaceutical compositions incorporating such may conveniently be administered by any of the routes conventionally used for drug administration, for
15 instance, orally, topically, bucolally, parenterally or by inhalation. They may be administered in conventional dosage forms prepared by combining a present compound with standard pharmaceutical carriers according to conventional procedures. They may also be administered in conventional dosages in combination with a known, second therapeutically active compound. These procedures may
20 involve mixing, granulating and compressing or dissolving the ingredients as appropriate to the desired preparation. It will be appreciated that the form and character of the pharmaceutically acceptable character or diluent is dictated by the amount of active ingredient with which it is to be combined, the route of administration and other well-known variables. The carrier(s) must be "acceptable"
25 in the sense of being compatible with the other ingredients of the formulation and not deleterious to the recipient thereof.

The pharmaceutical carrier employed may be, for example, either a solid or liquid. Exemplary of solid carriers are lactose, terra alba, sucrose, talc, gelatin, agar, pectin, acacia, magnesium stearate, stearic acid and the like. Exemplary of liquid
30 carriers are syrup, peanut oil, olive oil, water and the like. Similarly, the carrier or

19
16

diluent may include time delay material well known to the art, such as glyceryl mono-stearate or glyceryl distearate alone or with a wax.

5 A wide variety of pharmaceutical forms can be employed. Thus, if a solid carrier is used, the preparation can be tableted, placed in a hard gelatin capsule in powder or pellet form or in the form of a troche or lozenge. The amount of solid carrier will vary widely but preferably will be from about 25mg to about 1g. When a liquid carrier is used, the preparation will be in the form of a syrup, emulsion, soft gelatin capsule, sterile injectable liquid such as an ampule or nonaqueous liquid suspension.

10 The present antagonists may be administered topically, that is by non-systemic administration. This includes the application of a present compound externally to the epidermis or the buccal cavity and the instillation of such a compound into the ear, eye and nose, such that the compound does not significantly enter the blood stream. In contrast, systemic administration refers to oral, 15 intravenous, intraperitoneal and intramuscular administration.

Formulations suitable for topical administration include liquid or semi-liquid preparations suitable for penetration through the skin to the site of inflammation such as liniments, lotions, creams, ointments or pastes, and drops suitable for administration to the ear or nose, solutions or suspensions suitable for inhalation. 20 The active ingredient may comprise, for topical administration, from 0.001% to 10% w/w, for instance from 1% to 2% by weight of the Formulation. It may however comprise as much as 10% w/w but preferably will comprise less than 5% w/w, more preferably from 0.1% to 1% w/w of the Formulation.

Lotions according to the present invention include those suitable for 25 application to the skin or eye. An eye lotion may comprise a sterile aqueous solution optionally containing a bactericide and may be prepared by methods similar to those for the preparation of drops. Lotions or liniments for application to the skin may also include an agent to hasten drying and to cool the skin, such as an alcohol or acetone, and/or a moisturizer such as glycerol or an oil such as castor oil or arachis oil.

30 Creams, ointments or pastes according to the present invention are semi-solid formulations of the active ingredient for external application. They may be made by

20
17

mixing the active ingredient in finely-divided or powdered form, alone or in solution or suspension in an aqueous or non-aqueous fluid, with the aid of suitable machinery, with a greasy or non-greasy base. The base may comprise hydrocarbons such as hard, soft or liquid paraffin, glycerol, beeswax, a metallic soap; a mucilage; 5 an oil of natural origin such as almond, corn, arachis, castor or olive oil; wool fat or its derivatives or a fatty acid such as steric or oleic acid together with an alcohol such as propylene glycol or a macrogel. The formulation may incorporate any suitable surface active agent such as an anionic, cationic or non-ionic surfactant such as a sorbitan ester or a polyoxyethylene derivative thereof. Suspending agents such 10 as natural gums, cellulose derivatives or inorganic materials such as siliceous silicas, and other ingredients such as lanolin, may also be included.

Drops according to the present invention may comprise sterile aqueous or oily solutions or suspensions and may be prepared by dissolving the active ingredient in a suitable aqueous solution of a bactericidal and/or fungicidal agent 15 and/or any other suitable preservative, and preferably including a surface active agent. The resulting solution may then be clarified by filtration, transferred to a suitable container which is then sealed and sterilized by autoclaving or maintaining at 98-100°C for half an hour. Alternatively, the solution may be sterilized by filtration and transferred to the container by an aseptic technique. Examples of 20 bactericidal and fungicidal agents suitable for inclusion in the drops are phenylmercuric nitrate or acetate (0.002%), benzalkonium chloride (0.01%) and chlorhexidine acetate (0.01%). Suitable solvents for the preparation of an oily solution include glycerol, diluted alcohol and propylene glycol.

The present antagonists may be administered parenterally, that is by 25 intravenous, intramuscular, subcutaneous intranasal, intrarectal, intravaginal or intraperitoneal administration. The subcutaneous and intramuscular forms of parenteral administration are generally preferred. Appropriate dosage forms for such administration may be prepared by conventional techniques. The present antagonists may also be administered by inhalation that is by intranasal and oral 30 inhalation administration. Appropriate dosage forms for such administration, such

18/9/1

as an aerosol formulation or a metered dose inhaler, may be prepared by conventional techniques.

For all methods of use disclosed herein for the present antagonists the daily oral dosage regimen will preferably be from about 0.01 to about 80 mg/kg of total body weight. The daily parenteral dosage regimen about 0.001 to about 80 mg/kg of total body weight. The daily topical dosage regimen will preferably be from 0.1 mg to 150 mg, administered one to four, preferably two or three times daily. The daily inhalation dosage regimen will preferably be from about 0.01 mg/kg to about 1 mg/kg per day. It will also be recognized by one of skill in the art that the optimal quantity and spacing of individual dosages of a present antagonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof will be determined by the nature and extent of the condition being treated, the form, route and site of administration, and the particular patient being treated, and that such optimums can be determined by conventional techniques. It will also be appreciated by one of skill in the art that the optimal course of treatment, i.e., the number of doses of a present compound or a pharmaceutically acceptable salt thereof given per day for a defined number of days, can be ascertained by those skilled in the art using conventional course of treatment determination tests.

The invention will now be described by reference to the following biological examples, which are merely illustrative and are not to be construed as a limitation of the scope of the present invention.

BIOLOGICAL EXAMPLES

The IL-8, and GRO- α chemokine inhibitory effects of compounds of the present invention are determined by the following *in vitro* assay:

25 Receptor Binding Assays:

[¹²⁵I] IL-8 (human recombinant) is obtained from Amersham Corp., Arlington Heights, IL, with specific activity 2000 Ci/mmol. GRO- α is obtained from NEN- New England Nuclear. All other chemicals are of analytical grade. High levels of recombinant human IL-8 type α and β receptors were individually expressed in Chinese hamster ovary cells as described previously (Holmes, *et al.*, Science, 1991, 253, 1278). The Chinese hamster ovary membranes were

22
19

homogenized according to a previously described protocol (Haour, *et al.*, J. Biol. Chem., 249 pp 2195-2205 (1974)). Except that the homogenization buffer is changed to 10mM Tris-HCl, 1mM MgSO₄, 0.5mM EDTA (ethylene-diaminetetra-acetic acid), 1mM PMSF (α -toluenesulphonyl fluoride), 0.5 mg/L Leupeptin, pH 7.5. Membrane protein concentration is determined using Pierce Co. micro-assay kit using bovine serum albumin as a standard. All assays are performed in a 96-well micro plate format. Each reaction mixture contains ¹²⁵I IL-8 (0.25 nM) or ¹²⁵I GRO- α and 0.5 μ g/mL of IL-8R α or 1.0 μ g/mL of IL-8R β membranes in 20 mM Bis-Trispropane and 0.4 mM Tris HCl buffers, pH 8.0, containing 1.2 mM MgSO₄, 0.1 mM EDTA, 25 mM Na and 0.03% CHAPS. In addition, drug or compound of interest is added which has been pre-dissolved in DMSO so as to reach a final concentration of between 0.01nM and 100 μ M. The assay is initiated by addition of ¹²⁵I-IL-8. After 1 hour at room temperature the plate is harvested using a Tomtec 96-well harvester onto a glass fiber filtermat blocked with 1% polyethylenimine/ 0.5% BSA and washed 3 times with 25 mM NaCl, 10 mM TrisHCl, 1 mM MgSO₄, 0.5 mM EDTA, 0.03 % CHAPS, pH 7.4. The filter is then dried and counted on the Betaplate liquid scintillation counter. The recombinant IL-8 R α , or Type I, receptor is also referred to herein as the non-permissive receptor and the recombinant IL-8 R β , or Type II, receptor is referred to as the permissive receptor.

Chemotaxis Assay :

The *in vitro* inhibitory properties of these compounds are determined in the neutrophil chemotaxis assay as described in Current Protocols in Immunology, vol. I, Suppl 1, Unit 6.12.3., whose disclosure is incorporated herein by reference in its entirety. Neutrophils were isolated from human blood as described in Current Protocols in Immunology Vol. I, Suppl 1 Unit 7.23.1, whose disclosure is incorporated herein by reference in its entirety. The chemoattractants IL-8, GRO- α , GRO- β , GRO- γ and NAP-2 are placed in the bottom chamber of a 48 multiwell chamber (Neuro Probe, Cabin John, MD) at a concentration between 0.1 and 100 nM. The two chambers are separated by a 5 μ M polycarbonate filter. When compounds of this invention are tested, they are mixed with the cells (0.001 - 1000

23
20

nM) just prior to the addition of the cells to the upper chamber. Incubation is allowed to proceed for between about 45 and 90 min at about 37°C in a humidified incubator with 5% CO₂. At the end of the incubation period, the polycarbonate membrane is removed and the top side washed, the membrane then stained using the

5 Diff Quick staining protocol (Baxter Products, McGaw Park, IL, USA). Cells which have chemotaxed to the chemokine are visually counted using a microscope. Generally, four fields are counted for each sample, these numbers are averaged to give the average number of cells which had migrated. Each sample is tested in triplicate and each compound repeated at least four times. To certain cells (positive

10 control cells) no compound is added, these cells represent the maximum chemotactic response of the cells. In the case where a negative control (unstimulated) is desired, no chemokine is added to the bottom chamber. The difference between the positive control and the negative control represents the chemotactic activity of the cells.

Elastase Release Assay:

15 The compounds of this invention are tested for their ability to prevent Elastase release from human neutrophils. Neutrophils are isolated from human blood as described in Current Protocols in Immunology Vol. I, Suppl 1 Unit 7.23.1. PMNs 0.88×10^6 cells suspended in Ringer's Solution (NaCl 118, KCl 4.56, NaHCO₃ 25, KH₂PO₄ 1.03, Glucose 11.1, HEPES 5 mM, pH 7.4) are placed in each well of a 96

20 well plate in a volume of 50 ul. To this plate is added the test compound (0.001 - 1000 nM) in a volume of 50 ul, Cytochalasin B in a volume of 50 ul (20ug/ml) and Ringers buffer in a volume of 50 ul. These cells are allowed to warm (37 °C, 5% CO₂, 95% RH) for 5 min before IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ or NAP-2 at a final concentration of 0.01 - 1000 nM was added. The reaction is allowed to proceed for

25 45 min before the 96 well plate is centrifuged (800 xg 5 min.) and 100 ul of the supernatant removed. This supernatant is added to a second 96 well plate followed by an artificial elastase substrate (MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-AMC, Nova Biochem, La Jolla, CA) to a final concentration of 6 ug/ml dissolved in phosphate buffered saline. Immediately, the plate is placed in a fluorescent 96 well plate reader

30 (Cytofluor 2350, Millipore, Bedford, MA) and data collected at 3 min intervals

28
21

according to the method of Nakajima et al J. Biol. Chem. 254 4027 (1979). The amount of Elastase released from the PMNs is calculated by measuring the rate of MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-AMC degradation.

5 Rhinovirus Methods:

Cell lines and rhinovirus serotype 39 were purchased from American Type Culture Collection (ATCC). BEAS-2B cells were cultured according to instructions provided by ATCC using BEGM (bronchial epithelial growth media) purchased from Clonetics Corp. HELA cell cultures, used for detection and titration of virus,
10 were maintained in Eagle's minimum essential media containing 10% fetal calf serum, 2mM l-glutamine, and 10 mM HEPES buffer (MEM).

A modification of the method reported by Subauste et al., *Supra*, for in vitro infection of human bronchial epithelial cells with rhinovirus was used in these studies. BEAS-2B cells (2×10^5 /well) were cultured in collagen-coated wells for 24
15 hours prior to infection with rhinovirus. Rhinovirus serotype 39 was added to cell cultures for one hour incubation at 34°C after which inoculum was replaced with fresh media and cultures were incubated for an additional 72 hours at 34°C. Supernatants collected at 72 hours post-infection were assayed for cytokine protein concentration by ELISA using commercially available kits (R&D Systems). Virus
20 yield was also determined from culture supernatants using a microtitration assay in HELA cell cultures (*Subauste et al., supra 1995*). In cultures treated with IL-8 inhibitors, drug was added 30 minutes prior to infection. Stocks of compounds were prepared in DMSO (10 mM drug) and stored at -20°C.

For detection of IL-8R inhibition, cultures were incubated in basal media
25 without growth factors and additives to reduce endogenous levels of activated IL-8. Supernatants were harvested at various time points after addition of rhinovirus and concentrated. Concentrates were fractionated on Superose 6 columns. Supernatants were concentrated >50 fold using an Amicon concentrator with 5,000 mol. wt. cut off. A singel injection (0.5 ml) was applied to a Superose 6 size fractionation column
30 which was eluted at a singel flow rate (0.2 ml/min). 0.5 ml fractions were collaceted

25
22

and assayed for Ca^{2+} mobilizing activity in freshly isolated human PMN loaded with FURA-2.

Results:

5 *Characterization of chemokines produced from RV infected BEAS-2B human epithelial cells.*

Under resting conditions human BEAS-2B human epithelial cells produced small quantities of at least three known human chemokines, Gro α , IL-8 and ENA-78. When these cells are infected with rhinovirus production of the three ELR
10 chemokines increases 6.6 – 20 fold above resting conditions (Table 1).

Table 1. Production of ELR chemokines from BEAS-2B epithelial cells under resting and infected conditions (n = 6).

Treatment	Gro α (pg/ml)	IL-8 (pg/ml)	ENA-78 (pg/ml)
Control	1568 $\pm$ 402	143 $\pm$ 86	164 $\pm$ 33
HRV-39	12135 $\pm$ 3599	2870 $\pm$ 645	1083 $\pm$ 194

15 When HRV-39 infected epithelial cell supernatant is subject to size exclusion fractionation over a superose 6 column it results in a single peak of Ca^{2+} mobilizing activity when assayed using human neutrophils (Figure III) or a cell line transfected with either the CXCR1 or CXCR2 receptor. The mobilization of Ca^{2+} in the neutrophil occurs in the same fractions as the elution of the chemokines IL-8, ENA-
20 78 and Gro α .

To determine if other chemokines are produced from HRV-39 infected BEAS-2B for which we do not have ELISA kits, BEAS-2B supernatant was assayed against other freshly isolated human peripheral cells which express a variety of chemokine receptors including CCR1, CCR2, CCR3 and CCR5. When the above
25 active fractions derived from the BEAS-2B epithelial cells were assayed for Ca^{2+} mobilization using Fura-2 loaded eosinophils or peripheral blood mononuclear cells

26
23

(PBLs) none of the fractions mobilized Ca^{2+} . This indicates that chemokines besides IL-8, Gro α and ENA-78 are not present at significant concentrations to promote Ca^{2+} mobilization.

To determine the potential for other PMN activating chemokines and for the possibility that IL-8 will activate the PMNs via CXCR2 we have determined the ability of IL-8 receptor antagonists to inhibit Ca^{2+} mobilization induced by gro β , concentrated BEAS-2B supernatant or active fractions derived from a superose 6 column separation in Fura-2 loaded PMNs. As can be seen from figure I, compound -X dose dependently and completely inhibited RV concentrated supernatant and fractions containing the chemokines from a superose 6 column with IC_{50} s between 1.7 and 2 nM. This IC_{50} is similar to the IC_{50} derived with Gro β alone, (IC_{50} = 5 nM) and indicates that all of the Ca^{2+} mobilizing activity contained in the concentrate or fractions is working through the CXCR2 receptor.

To determine if the RV supernatant works solely through the CXCR2 receptor, we determined that rank correlation of a number of selective CXCR2 antagonist for there ability to inhibit Ca^{2+} mobilization induced by concentrated RV supernatant and Gro β . There is an excellent rank correlation for a divergent set of CXCR2 antagonist and their ability to inhibit Ca^{2+} mobilization induced by RV and Gro β , indicating that RV supernatant Ca^{2+} mobilizing activity works solely through the CXCR2 receptor on PMNs.

Inhibition of PMN chemotaxis was also determined in both the concentrated and fractionated RV sample. Chemotaxis was inhibited by specific CXCR2 antagonists as shown in Figure II.

These results demonstrate that BEAS-2B cells produce a variety of ELR chemokines which act through the CXCR2 receptor and which can be blocked by selective CXCR2 antagonist. Although IL-8 is present in the supernatant it also is blocked completely by the CXCR2 antagonist. This is probably do to its low level compared with Gro α .

All publications, including but not limited to patents and patent applications, cited in this specification are herein incorporated by reference as if each individual

27
24

publication were specifically and individually indicated to be incorporated by reference herein as though fully set forth.

The above description fully discloses the invention including preferred embodiments thereof. Modifications and improvements of the embodiments specifically disclosed herein are within the scope of the following claims. Without further elaboration, it is believed that one skilled in the art can, using the preceding description, utilize the present invention to its fullest extent. Therefore the Examples herein are to be construed as merely illustrative and not a limitation of the scope of the present invention in any way. The embodiments of the invention in which an exclusive property or privilege is claimed are defined as follows.

What is Claimed Is:

1. A method of treating symptomology of the common cold as caused by human rhinovirus, other enterovirus, herpesvirus, coronavirus, influenza virus,
5 parainfluenza virus, respiratory syncytial virus, or adenovirus infection in a human in need thereof which method comprises administering to said human an effective amount of an IL-8 receptor antagonist.
2. The method according to claim 1 wherein the respiratory viral infection
10 exacerbates asthma.
3. The method according to Claim 1 wherein the respiratory viral infection exacerbates chronic bronchitis.
- 15 4. The method according to Claim 1 wherein the respiratory viral infection exacerbates chronic obstructive pulmonary disease.
5. The method according to Claim 1 wherein the respiratory viral infection exacerbates otitis media.
20
6. The method according to Claim 1 wherein the respiratory viral infection exacerbates sinusitis.
7. The method according to Claim 1 wherein the respiratory viral infection is
25 associated with a second bacterial infection, such as otitis media, sinusitis or pneumonia.
8. The method according to any one of claims 1 to 7 wherein the IL-8 receptor antagonist is administered with a second therapeutic agent.

30

9. The method according to Claim 1 wherein the second therapeutic agent is selected from the group consisting of an antiviral agent, an antihistamine, a decongestant, a steroid, an antibiotic, and an anti-inflammatory agent.
- 5 10. The method according to any one of claims 1-9 wherein the therapeutic agent is administered orally, bucolally, topically (intranasally) or via inhalation (acrosol) , or both topically and via inhalation.
- 10 11. The method according to claim 10 wherein the compound is administered with a second therapeutic agent.
12. The method according to claim 11 wherein the second therapeutic agent is selected from the group consisting of an antiviral agent; an antihistamine; a decongestant; a steroid; an antibiotic, and an anti-inflammatory agent.
- 15 13. The method according to claim 1 wherein the IL-8 receptor antagonist is selected from a compound disclosed in:
U.S. Patent 5886044, 5780483, 6005008, 5929250, 6015908; or 5919776,
U.S. Application
20 09/111663, 09/125279, 09/240354, 09/202570, 09/202586, 09/202569, 09/202568, 09/230120, 09/230290, 09/230952, 09/230977, 09/230981, 09/230980, 09/242187, 09/341378, 09/341382, 09/341262, 09/463673, 09/508039, or 09/486986,
WO99/65310, WO 0012489, WO 0009511, WO 9942464, WO 9942463,
WO 9942461, WO00/05216, WO99/36069, WO99/36070, or WO00/06557,
25 PCT/US99/23776, or PCT/US99/29940, U.S. Provisional Application 60/134728, 60/136666, 60/136665, 60/136717, 60/136667, 60/139675, 60/139680, 60/139678, 60/139673, 60/140024, 60/139677, 60/139674, 60/140025, 60/145756, 60/164350, 60/186239, 60/186183, 60/186182, 60/188410, 60/188243, 60/189176, 60/189175, 60/189848, 60/192132, or
30 60/196022.

80
00
20

FIGURE I

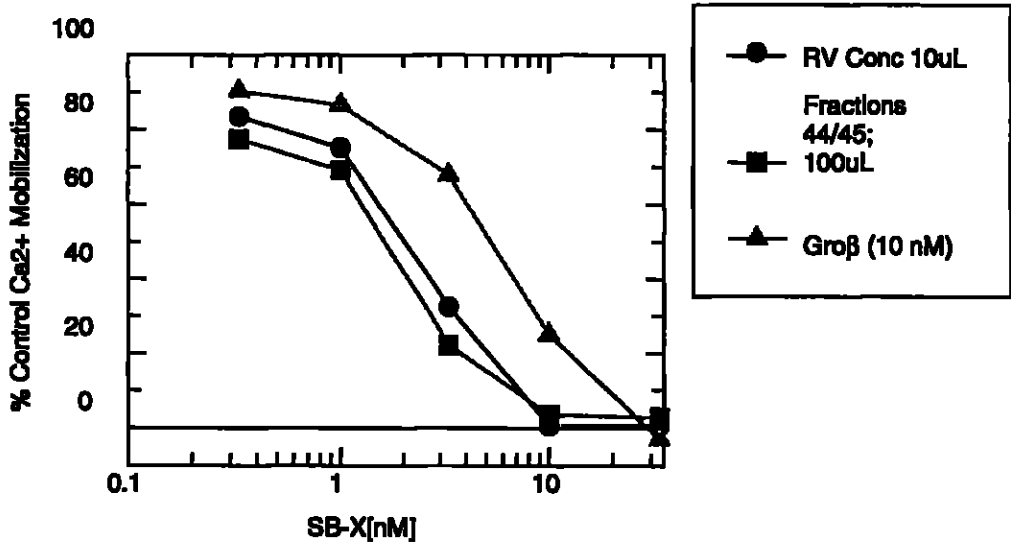
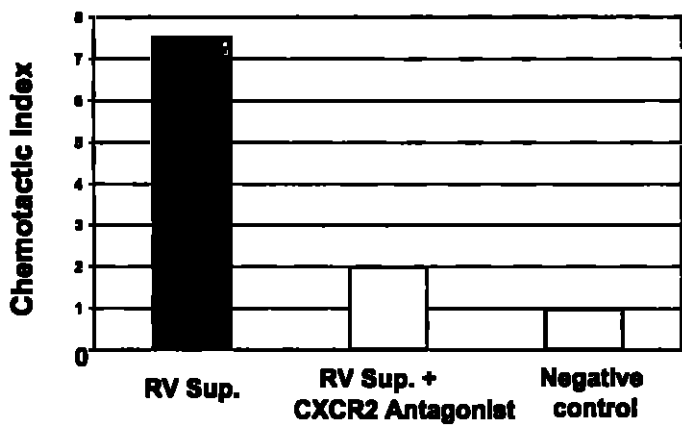


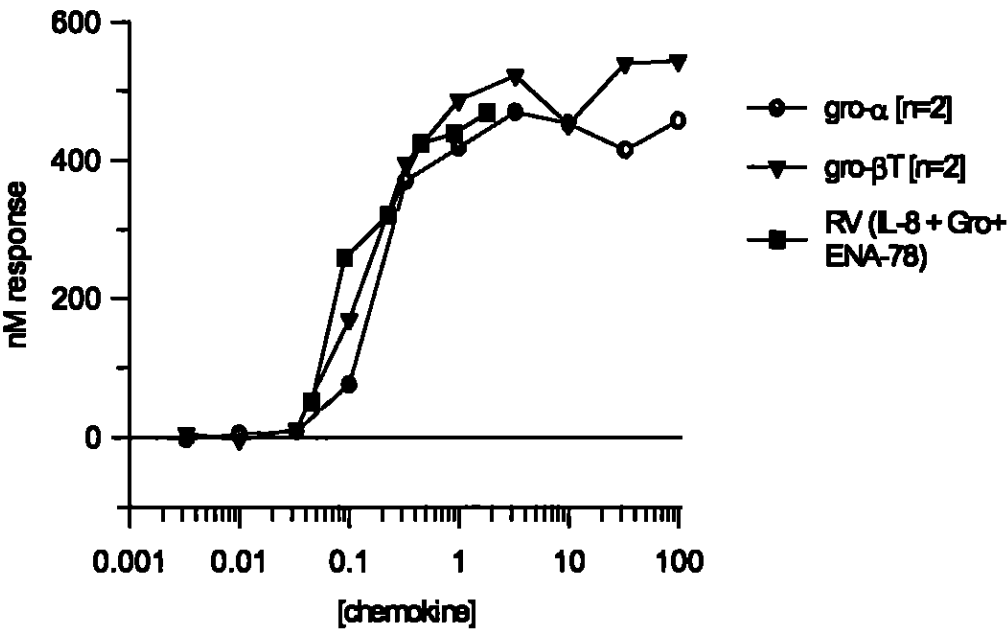
FIGURE II



Inhibition of Chemotaxis

Figure III

RV, gro α , gro β , and gro β -T induced calcium mobilization in neutrophils



24
30

**USO DE ANTAGONISTAS DE LOS RECEPTORES DE IL-8 EN EL
TRATAMIENTO DE INFECCIONES VIRALES**

5

CAMPO DEL INVENTO

Este invento se relaciona con el uso de moduladores de IL-8, GRO α , GRO β ,
10 GRO γ , NAP-2, y ENA-78 en el tratamiento de infecciones virales.

FUNDAMENTO DEL INVENTO

El rinovirus humano (HRV), la causa más frecuente de resfriado común, está
15 crecientemente asociado con secuelas más serias incluyendo exacerbaciones de asma,
bronquitis crónica, COPD, otitis media, y sinusitis. Estudios recientes publicados en
adultos y adolescentes, utilizando PCR para asistir en detección viral, han mostrado que
entre 50 y 80% de las exacerbaciones de asma están asociadas con infección viral de
vías aéreas altas, y que el rinovirus es el virus de resfriado más común.

20 El HRV infecta las células epiteliales nasales. Evidencia reciente indica que el
virus también puede infectar el epitelio bronquial. Los síntomas prodrómicos de
resfriado son manifiestos dentro de las 24 horas después de infección, se vuelven muy
aparentes en los días 2 a 5, y se resuelven a los días 7 a 14. Sin embargo, los efectos
pueden ser más duraderos en algunos individuos. Mientras el virus puede desaparecer,
25 los síntomas a menudo persisten. Se cree que los síntomas provienen más de la
respuesta del hospedero a la infección, que del efecto citotóxico agudo, puesto que
solamente una pequeña fracción de las células epiteliales respiratorias superiores son
demostrablemente infectadas, y hay daño celular epitelial mínimo. Niveles aumentados
intranasales de quininas, IL-1, IL-8, IL-6, IL-11, y neutrófilos son encontrados en
30 individuos normales infectados con el rinovirus. Una correlación entre la concentración
de IL-8 y secreciones nasales con nivel de mieloperoxidasa local así como también la
severidad de los síntomas ha sido demostrada en varios estudios recientes. Las
concentraciones intranasales de IL-1 y IL-6 han sido correlacionadas con la severidad
de los síntomas también. La infección de rinovirus experimental también resulta en

23/31

reacciones alérgicas de fase inmediata y tardía, y en infiltración aumentada de linfocitos-T y eosinófilos en vías aéreas bajas. En atópicos y asmáticos, estos efectos persisten hasta dos meses después de la infección. Se ha demostrado que las líneas celulares epiteliales bronquiales humanas producen IL-1, IL-6, IL-8, IL-11 y GM-CSF en respuesta a infección por rinovirus. La producción temprana de quimioquinas mediante células epiteliales infectadas por rinovirus por lo tanto puede ser responsable de activar el reclutamiento de neutrófilos, células-T, y eosinófilos activados en las vías aéreas altas y bajas.

Adicionalmente, IL-1, IL-6 y IL-8 también son producidos en respuesta a la infección con otros virus respiratorios (influenza, virus sincitial respiratorio) el cual puede producir el resfriado común y las secuelas asociadas.

Varios nombres diferentes han sido utilizados para la Interleucina-8 (IL-8), tales como atrayente de neutrófilos/ proteína-1 de activación (NAP-1), factor quimiotáctico de neutrófilos monocito-derivado (MDNCF), factor activador de neutrófilos (NAF), factor quimiotáctico de linfocitos T. La interleucina-8 es un quimioatrayente para neutrófilos, basófilos, y un subgrupo de células-T. Es producido por una mayoría de células nucleadas incluyendo macrófagos, fibroblastos, células endoteliales y epiteliales expuestas a TNF, IL-1 α , IL-1 β o LPS, y los neutrófilos mismos cuando son expuestos a LPS o factores quimiotácticos tales como FMLP. M. Baggiolini, J. Clin. Invest. 84, 1045 (1989); J. Schroder J. Immunol. 139, 3474 (1987) y J. Immunol. 144, 2223 (1990); Strieter, Science 243, 1467 (1989) y J. Biol. Chem. 264, 10621 (1989); Cassatella, J. Immunol. 148, 3216 (1992).

GRO α , GRO β , GRO γ y NAP-2 también pertenecen a la familia de las quimioquinas. Como la IL-8, estas quimioquinas también han sido conocidas con diferentes nombres. Por ejemplo GRO α , β , γ han sido conocidas como MGSA α , β , y γ respectivamente (Actividad de Estimulación de Crecimiento de Melanoma), ver Richmond, J. Cell Physiology 129, 375 (1986) y Chang, J. Immunol 148, 451 (1992). Todas las quimioquinas de la familia- α que poseen el motivo ELR directamente antes del motivo CXC se unen al receptor IL-8 B (CXCR2).

La IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2, y ENA-78 estimulan un número de funciones in vitro. Todas han demostrado tener propiedades quimioatrayentes para neutrófilos, mientras IL-8 y GRO α han demostrado atraer linfocitos-T, y actividad quimiotáctica basofílica. Además la IL-8 puede inducir la liberación de histamina de

36
32

basófilos en individuos tanto normales como atópicos. GRO- α e IL-8 pueden además, inducir liberación de enzimas lisosomales y explosión respiratoria de neutrófilos. La IL-8 también ha demostrado aumentar la expresión de superficie de Mac-1 (CD11b/CD18) sobre neutrófilos sin síntesis proteica de novo.

5 In vitro, IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ y NAP-2 inducen un cambio de forma de neutrófilos, quimiotaxis, liberación de gránulos, y explosión respiratoria, por unión y activación de receptores de la familia proteína G-unida de siete transmembranas, en particular por unión a receptores de IL-8, más notablemente el receptor de IL-8 β (CXCR2). Thomas, J. Biol. Chem. 266, 14839 (1991); y Holmes, Science 253, 1278
10 (1991).

Dos receptores de IL-8 humano de alta afinidad (homología del 77%) han sido caracterizados: IL-8RA, el cual se une solamente al IL-8 con alta afinidad, y IL-8RB, el cual tiene alta afinidad para IL-8 así como también para GRO α , GRO β , GRO γ y NAP-2. Ver Holmes, supra; Murhy, Science 253, 1280 (1991); Lee, J. Biol. Chem. 267, 16283 (1992); La Rosa J. Biol. Chem. 267 25402 (1992); y Gayle, J. Biol. Chem. 268, 7283 (1993).

La interferencia con los procesos bioquímicos de células epiteliales que resulta de la infección viral representa un blanco terapéutico nuevo viable para un antagonista del receptor de la IL-8. El presente invento está dirigido al descubrimiento novedoso de
20 tratamiento de este blanco terapéutico.

RESUMEN DE LA INVENTO

El presente invento suministra un método para tratar una enfermedad mediada por quimioquinas, en donde la quimioquina es tal que se une a un receptor A o B de la
25 IL-8 y cuyo método comprende la administración de una cantidad efectiva de un antagonista del receptor de la IL-8, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. El presente invento además se relaciona con el uso de un antagonista del receptor de la IL-8 para el tratamiento, incluyendo profilaxis y prevención/reducción de la severidad de la condición subyacente, de una infección viral incluyendo pero sin limitar al
30 rinovirus humano, enterovirus, coronavirus, virus de influenza, virus de parainfluenza, virus sincitial respiratorio, y adenovirus, en un humano en necesidad del mismo, cuyo método comprende la administración a dicho humano de una cantidad efectiva de un antagonista del receptor de la IL-8.

32
33

DESCRIPCIÓN DETALLADA DEL INVENTO

La IL-8 y otras quimioquinas afectan una amplia variedad de células y tejidos y estas quimioquinas así como otras quimioquinas derivadas de leucocitos son mediadores inflamatorios importantes y críticos responsables de los síntomas de muchas infecciones virales. La inhibición de estas quimioquinas es de beneficio para controlar, reducir y aliviar muchos de estos síntomas de infecciones virales respiratorias. Además, el presente invento está dirigido al tratamiento de síntomas producidos por infección viral en un humano la cual es producida por el rinovirus humano, otro enterovirus, coronavirus, herpesvirus, virus de influenza, virus de parainfluenza, virus sincitial respiratorio o un adenovirus. Además, el presente invento está dirigido a infecciones virales respiratorias, que exacerban condiciones crónicas subyacentes tales como asma, bronquitis crónica, infección pulmonar obstructiva crónica, otitis media, y sinusitis. Se debe anotar también que la infección viral respiratoria tratada en la presente puede estar asociada con la infección bacteriana secundaria, tal como otitis media, sinusitis o neumonía.

El presente invento demostrará que los antagonistas de los receptores de IL-8 son útiles en el tratamiento de síntomas asociados con infección viral respiratoria y prevención/reducción de la severidad de exacerbaciones de las condiciones subyacentes, incluyendo asma y otitis media, COPD, sinusitis, bronquitis crónica, etc entre otras.

Los inhibidores apropiados de IL-8 son bien conocidos en el estado de la técnica, y un ensayo para determinar la inhibición de IL-8 también es fácilmente disponible. Por ejemplo, ver patentes U.S. 5886044, 5780483, 6005008, 5929250, 6015908; 5919776, solicitudes U.S. 09/111663, 09/125279, 09/240354, 09/202570, 09/202586, 09/202569, 09/202568, 09/230120, 09/230290, 09/230952, 09/230977, 09/230981, 09/230980, 09/242187, 09/341378, 09/341382, 09/341262, 09/463673, 09/508039, 09/486986, WO99/65310, WO 0012489, WO 0009511, WO 9942464, WO 9942463, WO 9942461, WO00/05216, WO99/36069, WO99/36070, WO00/06557, PCT/US99/23776, PCT/US99/29940, Solicitudes Provisionales U.S. 60/134728, 60/136666, 60/136665, 60/136717, 60/136667, 60/139675, 60/139680, 60/139678, 60/139673, 60/140024, 60/139677, 60/139674, 60/140025, 60/145756, 60/164350, 60/186239, 60/186183, 60/186182,

38
34

60/188410,60/188243,60/189176,60/189175,60/189848,60/192132,o
60/196022.

5 El antagonista del receptor de IL-8 también puede ser administrado con un
segundo agente terapéutico. El segundo agente terapéutico puede ser un agente antiviral
tal como ribavirina, amantidina, rimantidina, relenza, tamiflu, BTA 188, RWJ-270210
(BCX-1812), SICAM-1, tICAM453, Pleconaril o AG 8088; también puede ser una
antihistamina, tal como Benadril, clorfeniramina y sales de la misma, etc,
bromfeniramina o sales de la misma, etc, un descongestionante, tal como
10 fenilpropanolamina y sales de la misma, pseudoefedrina y sales de la misma; esteroides,
tales como dexametasona, prednisona, o prednisolona, etc; varios antibióticos, tales
como las quinolonas, inhibidores de β -lactamasa, etc.; agentes anti-inflamatorios, tales
como inhibidores de CSAIDS, COX-1 o COX-2, ASA, o indometacina, etc.

15 DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura I- Inhibición del desplazamiento de calcio inducido por RV o Gro- beta en
neutrófilos humanos por el X antagonista de CXCR2.

20 Figura II- inhibición de quimiotaxis inducida por RV de neutrófilos humanos por el
antagonista X de CXCR2.

Figura III - desplazamiento de calcio en neutrófilos inducido por RV, gro α , gro β , y
gro β -T.

25 MÉTODO DE TRATAMIENTO

El presente antagonista del receptor de IL-8, o una sal farmacéuticamente
aceptable del mismo, puede ser utilizado en la fabricación de una medicina para el
tratamiento profiláctico o terapéutico de síntomas o secuelas de infección viral en un
30 humano, u otro mamífero, los cuales son exacerbados o causados por la producción
excesiva o no regulada de la quimioquina IL-8 por células de tal mamífero, tales como
pero sin limitar a monocitos y/o macrófagos, u otras quimioquinas las cuales se unen al
receptor A ó B de IL-8, también conocido como receptor tipo I o tipo II.

8A
35

Por consiguiente, el presente invento suministra un método para tratar una infección viral, en donde la quimioquina es aquella que se une a un receptor A o B de IL-8 y cuyo método comprende la administración de una cantidad efectiva de un inhibidor presente o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En particular, las quimioquinas son IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 o ENA-78.

Con el objeto de utilizar un antagonista actual del receptor de IL-8 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en terapia, éste normalmente será formulado en una composición farmacéutica según la práctica farmacéutica estándar. Por lo tanto, este invento también se relaciona con una composición farmacéutica que comprende una cantidad efectiva no tóxica de un antagonista actual del receptor de IL-8 y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Los antagonistas actuales de receptores de IL-8, sales farmacéuticamente aceptables de los mismos y composiciones farmacéuticas que incorporan estos pueden convenientemente ser administrados mediante cualquiera de las rutas convencionalmente utilizadas para administración de drogas, por ejemplo, oral, tópica, parenteral o mediante inhalación. Pueden ser administrados en formas de dosificación convencional preparadas mediante combinación de un compuesto actual con vehículos farmacéuticos estándares según procedimientos convencionales. También pueden ser administrados en dosis convencionales en combinación con un segundo compuesto terapéuticamente activo conocido. Estos procedimientos pueden involucrar mezclado, granulación y compresión o disolución de los ingredientes según sea apropiado para la preparación deseada. Se apreciará que la forma y carácter del vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable es dictada por la cantidad de ingrediente activo con la cual va a ser combinado, la ruta de administración y otras variables bien conocidas. El vehículo debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación y no perjudicial para el receptor mismo.

El vehículo farmacéutico empleado puede ser, por ejemplo, un sólido o líquido. Ejemplos de vehículos sólidos son lactosa, yeso, sacarosa, talco, gelatina, agar, pectina, acacia, estearato de magnesio, ácido esteárico y similares. Ejemplos de vehículos líquidos son jarabe, aceite de cacahuete, aceite de oliva, agua y similares. De manera similar, el vehículo o diluyente puede incluir material retardante bien conocido en el estado la técnica, tal como monoestearato de glicerilo o distearato de glicerilo solo o con una cera.

Se puede emplear una amplia variedad de formas farmacéuticas. Así, si se utiliza

un vehículo sólido, la preparación puede ser en forma de tabletas, colocada en una cápsula de gelatina dura en forma de polvo o pelets o en forma de una gragea o pastilla. La cantidad de vehículo sólido variará ampliamente pero preferiblemente estará entre 25mg y 1g aproximadamente. Cuando se utiliza un vehículo líquido, la preparación

5 estará en forma de un jarabe, emulsión, cápsula de gelatina suave, líquido inyectable estéril tal como una ampolla o suspensión líquida no acuosa.

Los actuales antagonistas pueden ser administrados tópicamente, es decir mediante administración no sistémica. Esto incluye la aplicación de un compuesto actual externamente a la epidermis o la cavidad bucal y la instilación de tal compuesto

10 en el oído, ojo y nariz, de manera tal que el compuesto no entre significativamente en el torrente sanguíneo. En contraste, la administración sistémica se refiere a administración oral, e intravenosa, intraperitoneal e intramuscular.

Las formulaciones apropiadas para administración tópica incluyen preparaciones líquidas o semi-líquidas apropiadas para penetración a través de la piel hacia el sitio de inflamación tales como linimentos, lociones, cremas, ungüentos o pastas, y gotas

15 apropiadas para administración al oído o nariz, soluciones o suspensiones apropiadas para inhalación. El ingrediente activo puede comprender, para administración tópica, entre 0.001% y 10% por peso, por ejemplo entre 1 y 2% por peso de la formulación. Sin embargo éste puede comprender tanto como 10% por peso pero preferiblemente

20 comprenderá menos de 5% por peso, más preferiblemente entre 0.1% y 1% por peso de la formulación.

Las lociones según el presente invento incluyen aquellas apropiadas para aplicación a la piel u ojos. Una solución para ojos puede comprender una solución acuosa estéril opcionalmente conteniendo un bactericida y puede ser preparada

25 mediante métodos similares a aquellos para preparación de gotas. Las lociones o linimentos para aplicación a la piel también pueden incluir un agente para acelerar el secado y para refrescar la piel, tal como un alcohol o acetona, y/o un humectante tal como glicerol o un aceite tal como aceite de ricino o aceite de ajonjolí.

Cremas, ungüentos o pastas según el presente invento son formulaciones semi

30 sólidas del ingrediente activo para aplicación externa. Se pueden preparar mezclando el ingrediente activo en forma de polvo o finamente dividido, sólo o en solución o suspensión en un fluido acuoso o no acuoso, con la ayuda de maquinaria apropiada, con una base grasosa o no grasosa. La base puede comprender hidrocarburos tales como parafina dura, suave o líquida, glicerol, cera de abejas, un jabón metálico; un mucílago;

37X

un aceite de origen natural tal como aceite de almendra, maíz, ajonjolí, ricino u oliva; lanolina o sus derivados o un ácido graso tal como ácido estérico u oléico junto con un alcohol tal como glicol de propileno o un macrogel. La formulación puede incorporar cualquier agente tensoactivo apropiado tal como un surfactante aniónico, catiónico o no-
5 iónico tal como un éster de sorbitán o un derivado de polioxietileno del mismo. Agentes de suspensión tales como gomas naturales, derivados de celulosa o materiales inorgánicos tales como sílices silíceos, y otros ingredientes tales como lanolina, también pueden ser incluidos.

Gotas según el presente invento pueden comprender soluciones o suspensiones
10 acuosas o aceitosas estériles pueden ser preparadas disolviendo el ingrediente activo en una solución acuosa apropiada de un agente bactericida y/o fungicida y/o cualquier otro preservativo apropiado, y preferiblemente incluyendo un agente tensoactivo. La solución resultante puede luego ser aclarada mediante filtración, transferida a un recipiente apropiado el cual es luego sellado y esterilizado en autoclave por filtración y
15 transferida al recipiente mediante una técnica aséptica. Ejemplos de agentes bactericidas y fungicidas apropiados para inclusión en las gotas son acetato o nitrato fenilmercúrico (0.002%), cloruro de benzaconio, (0.01%), y acetato de clorhexidina (0.01%). Solventes apropiados para la preparación de una solución aceitosa incluyen glicerol, alcohol diluido y glicol de propileno.

20 Los actuales antagonistas pueden ser administrados parenteralmente, es decir mediante administración intravenosa, intramuscular, subcutánea, intranasal, intrarectal, intravaginal o intraperitoneal. Las formas subcutánea e intramuscular de administración parenteral generalmente son preferidas. Formas de dosificación apropiadas para tal administración pueden ser preparadas mediante técnicas convencionales. Los actuales
25 antagonistas también pueden ser administrados mediante inhalación es decir mediante administración intranasal e inhalación oral. Formas apropiadas de dosificación para tal administración, tal como una formulación de aerosol o un inhalador de dosis medida, pueden ser preparadas mediante técnicas convencionales.

Para todos los métodos de uso divulgados en la presente para los actuales
30 antagonistas el régimen de dosificación oral diaria preferiblemente estará entre aproximadamente 0.01 y 80 mg/kg del peso total del cuerpo. El régimen de dosificación parenteral diario preferiblemente estará entre 0.001 y aproximadamente 80 mg/kg del peso total del cuerpo. El régimen de dosificación tópica diario preferiblemente estará entre 0.1 mg y 150 mg, administrado entre uno y cuatro, preferiblemente entre dos y

tres veces al día. El régimen de dosificación de inhalación diario preferiblemente estará entre 0.01 mg/kg y aproximadamente 1 mg/kg por día. También será reconocido por alguien de habilidad en el estado de la técnica que la cantidad óptima y espaciado entre dosis individuales de un antagonista actual o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo será determinado por la naturaleza y medida de la condición tratada, la forma, ruta y sitio de administración, el paciente particular tratado, y que tales óptimos pueden ser determinados mediante técnicas convencionales. También será apreciado por alguien con habilidad en el estado de la técnica que el curso óptimo de tratamiento, es decir, el número de dosis de un compuesto actual o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo dado por día durante un número definido de días, puede ser indagado por aquellos con habilidad en el estado de la técnica utilizando pruebas convencionales de determinación de curso de tratamiento.

El invento será ahora descrito como referencia a los siguientes ejemplos biológicos, los cuales son meramente ilustrativos y no van a ser interpretados como una limitación del alcance del presente invento.

EJEMPLOS BIOLÓGICOS

Los efectos inhibitorios de las quimioquinas IL-8 y GRO- α de los compuestos del presente invento son determinados mediante el siguiente ensayo *in vitro*:

Ensayos de Unión de Receptores:

La [^{125} I]IL-8 (recombinante humano) es obtenida en Amersham Corp., Arlington Heights, IL, con una actividad específica de 2000 Ci/mmol. La GRO- α es obtenida en NEN - New England Nuclear. Todos los otros químicos son de calidad analítica. Altos niveles de receptores tipo α y β de la IL-8 recombinante humana fueron expresados en células de ovario de hamster chino tal como se describió anteriormente (Holmes, *et al.*, Science, 1991, 253, 1278). Las membranas de ovarios de hamster chino fueron homogenizadas según un protocolo previamente descrito (Haour, *et al.*, J. Biol. Chem., 249 pp 2195-2205 (1974)). Con la excepción que el buffer de homogenización es cambiado a 10mM Tris-HCL, 1mM MgSO₄, 0.5mM EDTA (ácido etilendiaminatetracético), 1mM PMSF (fluoruro de α -toluenosulfonilo), 0.5 mg/L Leupeptina, pH 7.5. La concentración de la proteína de membrana es determinada utilizando un equipo de micro-ensayo Pierce Co. usando seroalbúmina bovina como un estándar. Todos los ensayos son realizados en un formato de microplaca de 96 pozos. Cada mezcla de reacción contiene ^{125} I IL-8 (0.25 nM) ó ^{125} I GRO- α y 0.5 μ g/ml de

membranas de IL-8R α ó 1.0 μ g/ml de membranas de IL-8R β en buffers de 20 mM Bis-Trispropano y 0.4 mM Tris HCl, pH 8.0, los cuales contienen 1.2 mM MgSO₄, 0.1 mM EDTA, 25 mM NA y 0.03% CHAPS. Adicionalmente, el fármaco o compuesto de interés es añadido el cual ha sido previamente disuelto en DMSO para así alcanzar una concentración final de 0.01 nM hasta 100 μ M. El ensayo es iniciado al añadir ¹²⁵I IL-8. Luego de una hora a temperatura ambiente, la placa es cosechada usando un cosechador de 96 pozos marca Tomtec sobre un *filtermat* (placa de filtración) de fibra de vidrio con polietilenimina al 1%/ BSA al 0.5% y lavado 3 veces con 25 mM NaCl, 10 mM de TrisHCl, 1mM de MgSO₄, 0.5 mM EDTA, 0.03% CHAPS, pH 7.4. El filtro es luego secado y contado en un contador de centelleo líquido Betaplate. El receptor de IL-8R α , ó Tipo I, también se le conoce en la presente como el receptor no permisivo y el receptor de IL-8R β , ó Tipo II, es conocido como el receptor permisivo.

Ensayo de Quimiotaxis:

Las propiedades inhibitorias *in vitro* de estos compuestos son determinados en el ensayo de quimiotaxis de neutrófilos tal como se describe en Protocolos Actuales en Inmunología, Volumen I, Suppl. 1, Unidad 6.12.3., cuya divulgación está incorporada en la presente como referencia en su totalidad. Los neutrófilos fueron aislados a partir de sangre humana tal como se describe en Protocolos Actuales en Inmunología, Volumen I, Suppl. 1, Unidad 7.23.1., cuya divulgación está incorporada en la presente como referencia en su totalidad. Los quimioatrayentes IL-8, GRO- α , GRO- β , GRO- γ y NAP-2 son colocados en la cámara inferior de una cámara múltiple de 48 pozos (Neuro Probe, Cabin John, MD) a una concentración entre 0.1 y 100 nM. Las dos cámaras están separadas por un filtro de policarbonato de 5 μ M. Al probar compuestos de este invento, ellos son mezclados con las células (0.001-1000 nM) justo antes de la adición de las células a la cámara superior. Se permite proceder con la incubación por 45 minutos hasta 90 minutos a una temperatura de aproximadamente 37°C en un incubador húmedo con 5% CO₂. Al finalizar el periodo de incubación, la membrana de policarbonato es retirada y el lado superior es lavado; luego la membrana es teñida usando el protocolo de teñido Dic Quick (Baxter Products, McGaw Park, IL, USA). Las células que se hayan desplazado (quimiotaxis) hacia la quimioquina son visualmente contados usando un microscopio. Generalmente, cuatro campos son contados para cada muestra, estos números son promediados para dar el número promedio de células que hayan migrado. Cada muestra es probada en triplicado y cada

compuesto es repetido por lo menos cuatro veces. A ciertas células (células de control positivo), no se les añade compuesto, estas células representan la máxima respuesta quimiotáctica de las células. En el caso donde se desee un control negativo (no estimulado), no se añade ninguna quimioquina a la cámara inferior. La diferencia entre el control positivo y el control negativo representa la actividad quimiotáctica de las células.

Ensayo de Liberación de Elastasa:

Los compuestos de este invento son probados para medir su capacidad de prevenir la liberación de elastasa a partir de neutrófilos humanos. Los neutrófilos son aislados a partir de sangre humana tal como se describe en Protocolos Actuales en Inmunología, Volumen I, Suppl. 1, Unidad 7.23.1. 0.88×10^6 células PMN (polimorfonucleares) son suspendidas en Solución Ringer (NaCl 118, KCl 4.56, NaHCO_3 25, KH_2PO_4 1.03, Glucosa 11.1, HEPES 5 Mm, pH 7.4) y colocadas en cada pozo de una placa de 96 pozos en un volumen de 50 μl . A esta placa se le añade el compuesto de prueba (0.001 - 1000 nM) en un volumen de 50 μl , Citochalasina B en un volumen de 50 μl (20 $\mu\text{g}/\text{ml}$) y buffer Ringer en un volumen de 50 μl . Se permite que estas células se calienten (37°C, 5% CO_2 , 95% RH) por 5 minutos antes de añadir IL-8, GRO- α , GRO- β , GRO- γ ó NAP-2 a una concentración final de 0.01-1000 nM. Se permite que la reacción avance por 45 minutos antes de centrifugar la placa de 96 pozos (800 xg 5 minutos) y luego 100 μl del sobrenadante es removido. Este sobrenadante es añadido a una segunda placa de 96 pozos luego de un substrato de elastasa artificial (MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-AMC, Nova Biochem, La Jolla, CA) a una concentración final de 6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ disuelto en solución salina amortiguada con fosfato. Inmediatamente, la placa es colocada en un lector fluorescente de placa de 96 pozos (Cytofluor 2350, Millipore, Bedford, MA) y los datos son recolectados a intervalos de 3 minutos según el método de Nakajima et al., *J. Biol. Chem.*, 254 4027 (1979). La cantidad de Elastasa liberada a partir de los PMNs es calculada al medir la tasa de degradación de MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-AMC.

Métodos para Rinovirus:

Líneas celulares y rinovirus serotipo 39 fueron adquiridos en American Type Culture Collection (ATCC). Las células BEAS-2B fueron cultivadas según las instrucciones suministradas por ATCC usando BEGM (medio de crecimiento epitelial bronquial) adquirido en Clonetics Corp. Los cultivos celulares HELA, usados para detección y titulación del virus, fueron mantenidos en medios esenciales mínimos Eagle

41 45

que contenía suero fetal de ternera al 10%, 2 mM de l-glutamina, y 10 mM de buffer HEPES (MEM).

Una modificación del método reportado por Subauste et al., *Supra*, para infección in vitro de células epiteliales bronquiales humanas con rinovirus fue utilizado en estos estudios . Las células BEAS-2B (2×10^5 /pozo) fueron cultivadas en pozos revestidos con colágeno por 24 horas antes de infectarse con rinovirus. El rinovirus serotipo 39 fue añadido a los cultivos celulares por una hora en incubación a 34°C después de lo cual el inóculo fue reemplazado con medio fresco y los cultivos fueron incubados por otras 72 horas a 34°C. Los sobrenadantes recolectados a las 72 horas después de la infección fueron evaluados para medir la concentración proteica de quimioquina mediante ELISA usando equipos comercialmente disponibles (R&D Systems). El rendimiento viral también fue determinado a partir de los sobrenadantes de los cultivos usando un ensayo de microtitulación en cultivos celulares HELA (*Subauste et al., supra 1995*). En los cultivos que fueron cultivados con inhibidores de IL-8, se añadió droga 30 minutos antes de realizar la infección. Se prepararon concentrados de compuestos en DMSO (10 mM droga) y se almacenó a -20°C.

Para detectar inhibición de IL-8R, los cultivos fueron incubados en medios basales sin factores de crecimiento y aditivos para reducir los niveles endógenos del IL-8 activado. Los sobrenadantes fueron cosechados en diferentes puntos de tiempo después de la adición del rinovirus y luego concentrados. Los concentrados fueron fraccionados en columnas Superose 6. Los sobrenadantes fueron concentrados más de 50 veces usando un concentrador Amicon con restricción a 5,000 de peso molecular. Una única inyección (0.5 ml) fue aplicada a una columna de fraccionamiento Superose 6 la cual fue eluida a una tasa de flujo única (0.2 ml/minuto). Las fracciones de 0.5 ml fueron recolectadas y evaluadas para medir actividad de movilidad de Ca^{2+} en PMN's humanos aislados con poca antelación con FURA-2.

Resultados:

30 ***Caracterización de las quimioquinas producidas a partir de células epiteliales humanas BEAS-2B infectadas con rinovirus.***

Bajo condiciones de descanso, las células epiteliales humanas BEAS-2B produjeron pequeñas cantidades de por lo menos tres quimioquinas conocidas, Gro α ,

42/46

IL-8, y ENA-78. Cuando estas células están infectadas con el rinovirus, la producción de las quimioquinas ELR se aumenta entre 6.6 y 20 veces por encima de condiciones en descanso (Tabla 1).

5 Tabla 1. Producción de quimioquinas ELR a partir de células epiteliales BEAS-2B bajo condiciones en descanso e infectadas (n=6).

Tratamiento	Groα (pg/ml)	IL-8 (pg/ml)	ENA-78 (pg/ml)
Control	1568 ± 402	143 ± 86	164 ± 33
Rinovirus Humano - 39	12135 ± 3599	2870 ± 645	1083 ± 194

10 Cuando el sobrenadante de células epiteliales infectadas por el HRV-39 (rinovirus humano) es sometido a un fraccionamiento por exclusión de tamaño sobre una columna superose 6, resulta en un único pico de actividad móvil de Ca²⁺ al evaluarse utilizando neutrófilos humanos (Figura III) o una línea celular transfectada con el receptor CXCR1 ó CXCR2. La movilización de Ca²⁺ en el neutrófilo ocurre en las mismas fracciones como la elusión de las quimioquinas IL-8, ENA-78 y Groα.

15 Para determinar si otras quimioquinas son producidas a partir de BEAS-2B infectadas con HRV-39 para lo cual no existe equipos ELISA, el sobrenadante BEAS-2B fue evaluado comparando con otras células periféricas humanas aisladas con poca antelación, las cuales expresaron una variedad de receptores de quimioquinas incluyendo CCR1, CCR2, CCR3, y CCR5. Cuando las anteriores fracciones activas
20 derivadas de las células epiteliales BEAS-2B fueron evaluadas para medir el desplazamiento de Ca²⁺ usando eosinófilos cargados con Fura-2 o células mononucleares de sangre periférica (PBL, *por su sigla en inglés*), ninguna de las fracciones desplazó el Ca²⁺. Esto indica que las quimioquinas, excepto IL-8, ENA-78 y Groα, no están presentes en concentraciones significantes para fomentar el
25 desplazamiento de Ca²⁺.

Para determinar el potencial de otras quimioquinas PMN activadoras y para la posibilidad de que IL-8 active los PMNs vía CXCR2, hemos determinado la capacidad de los antagonistas de receptores de IL-8 en inhibir el desplazamiento de Ca²⁺ inducido por Groβ, sobrenadante de BEAS-2B concentrado, o fracciones activas derivadas de

4347

una separación de columna superose 6 en PMNs cargados con Fura-2. Como se puede observar en la Figura 1, la dosis del compuesto X de manera dependiente y completa inhibió el sobrenadante concentrado de rinovirus y fracciones que contengan las quimioquinas a partir de una columna superose 6 con valores IC_{50} entre 1.7 y 2 nM.

- 5 Este valor IC_{50} es similar al IC_{50} derivado con Groß por sí solo, ($IC=5$ nM) e indica que toda la actividad desplazadora de Ca^{2+} comprendida en las fracciones o concentrado está trabajando a través de receptor CXCR2.

- 10 Para determinar si el sobrenadante del RV solamente trabaja a través del receptor CXCR2, nosotros determinamos que la correlación de rango de un número de antagonistas selectivos de CXCR2 existe por su capacidad de inhibir el desplazamiento de Ca^{2+} , inducido por un sobrenadante de RV concentrado y Groß. Existe una excelente correlación de rango para un conjunto divergente de antagonistas CXCR2 y sus habilidades de inhibir el desplazamiento del Ca^{2+} inducido por el RV y Groß, indicando así que la actividad desplazadora de Ca^{2+} del sobrenadante de RV trabaja solamente a
- 15 través del receptor CXCR2 en polimorfonucleares.

La inhibición de la quimiotaxis de los PMNs también fue determinado, tanto en la muestra RV fraccionada como la concentrada. La quimiotaxis fue inhibida mediante antagonistas del CXCR2 específicos tal como se muestra en la Figura II.

- 20 Estos resultados demuestran que las células BEAS-2B producen una variedad de quimioquinas ELR que actúan a través del receptor CXCR2 y que pueden ser bloqueadas mediante un antagonista del CXCR2 selectivo. Aunque el IL-8 está presente en el sobrenadante, también queda completamente bloqueado por el antagonista CXCR2. Esto es inverosímil debido a su bajo nivel comparado con Groß.

- 25 Todas las publicaciones, incluyendo pero no limitándose a patentes y solicitudes de patentes, citadas en esta especificación, están en la presente incorporadas como referencia.

- La anterior descripción divulga totalmente el invento incluyendo realizaciones preferidas del mismo. Las modificaciones y mejoras de las realizaciones específicamente divulgadas en la presente están dentro del alcance de las siguientes
- 30 reivindicaciones. Sin más por añadir, se estima que aquel con destrezas en el estado de la técnica, usando la anterior descripción, podrá utilizar el presente invento hasta su máxima expresión. Por lo tanto, los Ejemplos en la presente deben ser considerados como meramente ilustrativos y no como limitación del alcance del presente de ninguna

AA/8

manera. Las realizaciones del invento en donde una propiedad o privilegio exclusivo es reivindicado, se definen de la siguiente manera.

#45

REIVINDICACIONES:

1. Un método para tratar la sintomatología del resfriado común causada por rinovirus humano, otros enterovirus, herpes virus, coronavirus, virus de la influenza,
5 virus de la parainfluenza, virus sincitial respiratorio, o infección por adenovirus en un humano, en necesidad del tal tratamiento; el método comprende administrar a dicho humano una cantidad efectiva de un antagonista del receptor de la IL-8.
2. El método según la reivindicación 1 en donde la infección viral respiratoria
10 exacerba el asma.
3. El método según la reivindicación 1 en donde la infección viral respiratoria exacerba la bronquitis crónica.
- 15 4. El método según la reivindicación 1 en donde la infección viral respiratoria exacerba la EPOC (enfermedad pulmonar obstructiva crónica.)
5. El método según la reivindicación 1 en donde la infección viral respiratoria exacerba la otitis media.
20
6. El método según la reivindicación 1 en donde la infección viral respiratoria exacerba la sinusitis.
7. El método según la reivindicación 1 en donde la infección viral respiratoria está
25 asociada con una infección bacteriana secundaria, tales como la otitis media, la sinusitis, o la neumonía.
8. El método según cualquiera de las reivindicaciones 1-7 en donde el antagonista del receptor IL-8 es administrado con un segundo agente terapéutico.
30
9. El método según la Reivindicación 1 en donde el segundo agente terapéutico es seleccionado a partir del grupo que consiste de un agente antiviral, un antihistamínico, un descongestionante, un esteroide, un antibiótico, y un agente anti-inflamatorio.

30
46

10. El método según cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en donde el agente terapéutico es administrado por vía oral, tópica (intranasal), o por inhalación (aerosol), o por vía tanto tópica como por inhalación.
- 5 11. El método según la Reivindicación 10 en donde el compuesto es administrado con un segundo agente terapéutico.
12. El método según la Reivindicación 11 en donde el segundo agente terapéutico es seleccionado a partir del grupo que consiste de un agente antiviral, un antihistamínico,
10 un descongestionante, un esteroide, un antibiótico, y un agente anti-inflamatorio.
13. El método según la Reivindicación 1 en donde el antagonista del receptor de IL-8 es seleccionado a partir de un compuesto divulgado en:
patentes U.S. 5886044, 5780483, 6005008, 5929250, 6015908; 5919776, solicitudes U.S.
15 09/111663, 09/125279, 09/240354, 09/202570, 09/202586, 09/202569, 09/202568,
09/230120, 09/230290, 09/230952, 09/230977, 09/230981, 09/230980, 09/242187,
09/341378, 09/341382, 09/341262, 09/463673, 09/508039, 09/486986,
WO99/65310, WO 0012489, WO 0009511, WO 9942464, WO 9942463,
WO 9942461, WO00/05216, WO99/36069, WO99/36070, WO00/06557,
20 PCT/US99/23776, PCT/US99/29940, Solicitudes Provisionales U.S.
60/134728, 60/136666, 60/136665, 60/136717, 60/136667, 60/139675,
60/139680, 60/139678, 60/139673, 60/140024, 60/139677, 60/139674,
60/140025, 60/145756, 60/164350, 60/186239, 60/186183, 60/186182,
60/188410, 60/188243, 60/189176, 60/189175, 60/189848, 60/192132, o
25 60/196022.

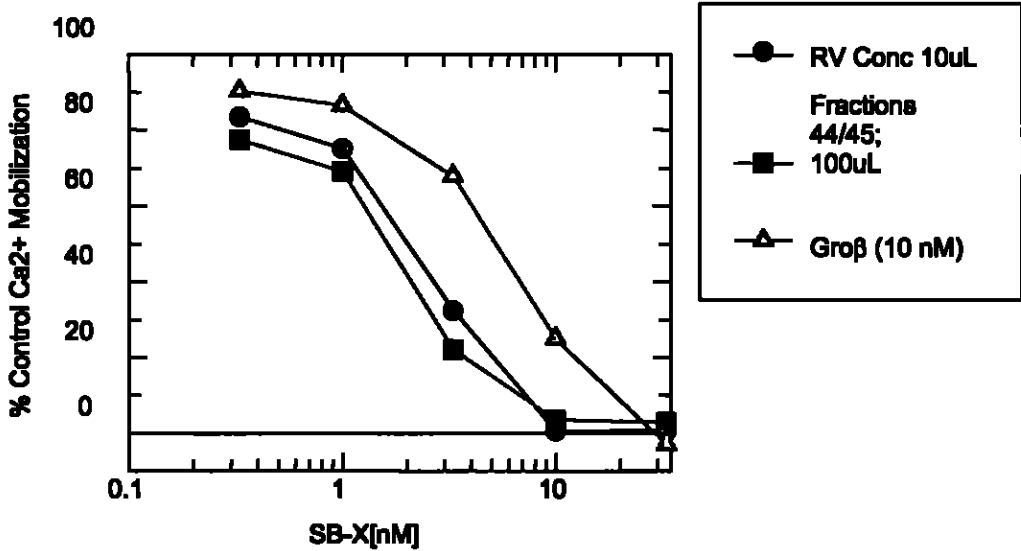
5/17

RESUMEN DE LA DIVULGACIÓN

El presente invento está relacionado con el uso novedoso de un antagonista del
5 receptor de IL-8 para el tratamiento de infecciones virales humanas y la exacerbación de
los síntomas asociados con tales infecciones.

19
5/20

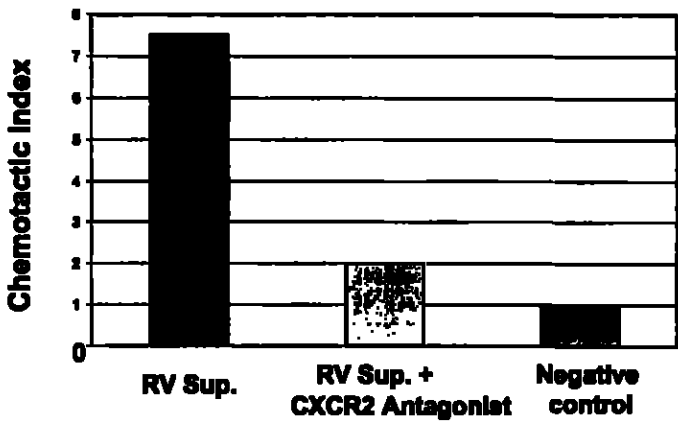
FIGURA I



5

3/3/21

FIGURE II (INHIBICIÓN DE LA QUIMIOTAXIS)



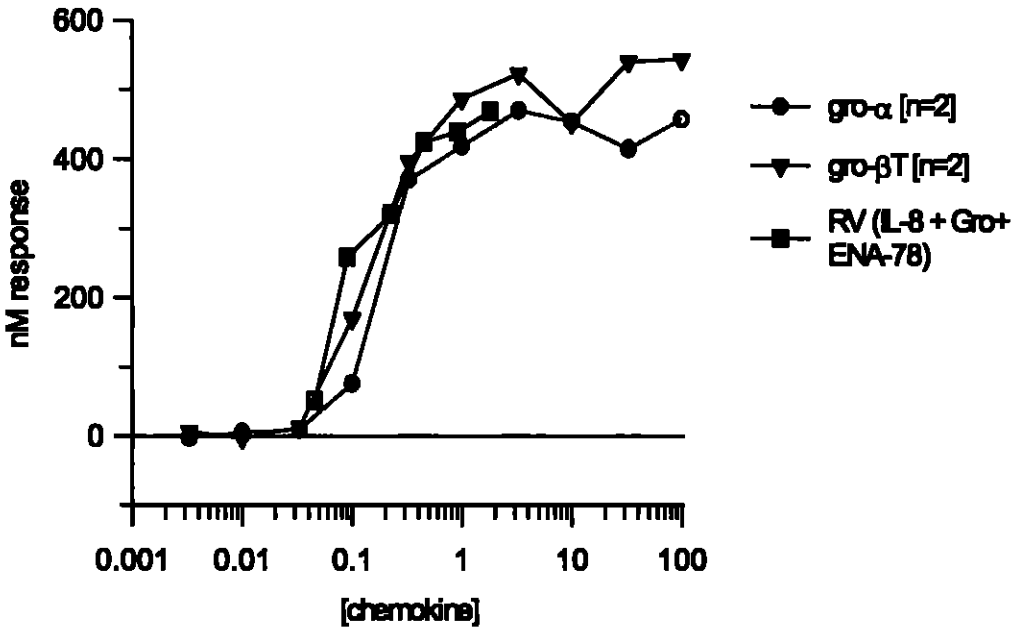
Inhibition of Chemotaxis

24/50

FIGURA III
(Desplazamiento de calcio inducido por rinovirus, gro α , gro β , y gro β -T en neutrófilos)

5

RV, gro α , gro β , and gro β -T Induced calcium mobilization in neutrophils



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US01/22328

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(6) : A61K 31/38, 31/47, 31/425

US CL : 514/311, 369, 445, 583, 586, 596

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)

U.S. : 514/311, 369, 445, 583, 586, 596

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)
USPATFALL PCTFULL EUROPATFALL WPIDS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 5,547,979 A (CHRISTENSEN, IV et al) 20 August 1996 (20.08.1996), col. 1 line 20, col. 4 lines 37-38, claims 1-7.	9-13
X	US 5,886,044 A (WIDDOWSON et al) 23 March 1999 (23.03.1999), abstract, col. 1-2, claims 7 and 16.	1-8
Y		9-13

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ 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

"T" earlier application or patent 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 aimed 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

"A" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

14 August 2001 (14.08.2001)

Date of mailing of the international search report

23 OCT 2001

Name and mailing address of the ISA/US

Comptroller of Patents and Trademarks

Box PCT

Washington, D.C. 20531

Facsimile No. (703)305-3730

Authorized officer

Miron Moenda

Telephone No. (703)305-1235

PATENT COOPERATION TREATY

5752

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:
STEPHEN VENETIANER
UW2220
709 SWEDELAND ROAD
KING OF PRUSSIA, PA 19406

PCT

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT OR THE DECLARATION

(PCT Rule 44.1)

Applicant's or agent's file reference P31157	Date of Mailing (day/month/year) 23 OCT 2001
International application No. PCT/US01/22328	International filing date (day/month/year) 16 July 2001 (16.07.2001)
Applicant SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION	

1. ☒ The applicant is hereby notified that the international search report has been established and is transmitted herewith.
 Filing of amendments and statement under Article 19:
 The applicant is entitled, if he so wishes, to amend the claims of the international application (see Rule 46):
 When? The time limit for filing such amendments is normally 2 months from the date of transmittal of the international search report; however, for more details, see the notes on the accompanying sheet.
 Where? Directly to the International Bureau of WIPO
 34, chemin des Colombettes
 1211 Geneva 20, Switzerland
 Facsimile No.: (41-22) 740.14.33
 For more detailed instructions, see the notes on the accompanying sheet.
2. ☐ The applicant is hereby notified that no international search report will be established and that the declaration under Article 17(2)(a) to that effect is transmitted herewith.
3. ☐ With regard to the protest against payment of (an) additional fee(s) under Rule 40.2, the applicant is notified that:

☐ the protest together with the decision thereon has been transmitted to the International Bureau together with the applicant's request to forward the texts of both the protest and the decision thereon to the designated Offices.
☐ no decision has been made yet on the protest; the applicant will be notified as soon as a decision is made.
4. Further action(s): The applicant is reminded of the following:
 Shortly after 18 months from the priority date, the international application will be published by the International Bureau.
 If the applicant wishes to avoid or postpone publication, a notice of withdrawal of the international application, or of the priority claim, must reach the International Bureau as provided in rules 90 bis 1 and 90 bis 3, respectively, before the completion of the technical preparations for international publication.
 Within 19 months from the priority date, a demand for international preliminary examination must be filed if the applicant wishes to postpone the entry into the national phase until 30 months from the priority date (in some Offices even later).
 Within 30 months from the priority date, the applicant must perform the prescribed acts for entry into the national phase before all designated Offices which have not been elected in the demand or in a later election within 19 months from the priority date or could not be elected because they are not listed by Chapter II.

Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703)305-3230	Authorized officer Minna Moore Telephone No. (703)305-1235
--	--

Form PCT/ISA/220 (July 1998)

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference P51157	FOR FURTHER ACTION	see Notification of Transmittal of International Search Report (Form PCT/ISA/220) as well as, where applicable, item 5 below.
International application No. PCT/US01/22324	International filing date (day/month/year) 16 July 2001 (16.07.2001)	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 18 July 2000 (18.07.2000)
Applicant SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 2 sheets.



It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the Report

a. With regard to the language, the international search was carried out on the basis of the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.



the international search was carried out on the basis of a translation of the international application furnished to this Authority (Rule 23.1(b)).

b. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of the sequence listing:



contained in the international application in written form.



filed together with the international application in computer readable form.



furnished subsequently to this Authority in written form.



furnished subsequently to this Authority in computer readable form.



the statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.



the statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

2. ☐ Certain claims were found unsearchable (See Box I).

3. ☐ Unity of invention is lacking (See Box II).

4. With regard to the title,



the text is approved as submitted by the applicant.



the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the abstract,



the text is approved as submitted by the applicant.



the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box III. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.

6. The figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No. ____



as suggested by the applicant.



because the applicant failed to suggest a figure.



because this figure better characterizes the invention.



None of the figures

54

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US01/22328

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(6) : A61K 31/38, 31/47, 31/423 US CL : 514/311, 369, 443, 585, 586, 596 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) U.S. : 514/311, 369, 443, 585, 586, 596 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) USPATFULL PCTFULL EUROPATFALL WPIDS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 5,547,979 A (CHRISTENSEN, IV et al) 20 August 1996 (20.08.1996), col.1 line 20, col.4 lines 37-38, claims 1-7.	9-13
X	US 5,886,044 A (WIDDOWSON et al) 23 March 1999 (23.03.1999), abstract, col.1-2, claims 7 and 16.	1-8
Y		9-13
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ 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	"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	
"E" earlier application or patent published on or after the international filing date	"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	
"L" document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"A" document member of the same patent family	
"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 14 August 2001 (14.08.2001)	Date of mailing of the international search report 23 OCT 2001	
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20531 Facsimile No. (703)305-3230	Authorized officer Miss Moezie Telephone No. (703)305-1235	

REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACION Y AGILIZACION DEL
 TRAMITE

	USUARIO	RADICADOR
PATENTE DE INVENCION		
MODELO DE UTILIDAD	()	(X)
- Indicación de que se solicita la concesión de una patente.	()	(X)
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud	()	(X)
- Descripción de la invención.	()	(X)
- Dibujos de ser estos pertinentes.	()	(X)
- Comprobante de Pago de las tasas establecidas.	()	(X)
COMPLETA ()		
INCOMPLETA ()	(X)	
DISEÑO INDUSTRIAL ()		
- Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial	()	()
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud.	()	()
- Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del Material que incorpora el diseño.	()	()
- Comprobante de pago de las tasas establecidas	()	()
COMPLETA ()		
INCOMPLETA ()	()	()
ESQUEMA DE TRAZADO ()		
- Indicación de que solicita el registro de un Esquema de trazado.	()	()
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta La solicitud.	()	()
- Representación gráfica del esquema de trazado	()	()
- Comprobante de pago de las tasas establecidas.	()	()
COMPLETA ()		
INCOMPLETA ()	()	()

Edwina Navarro
 Firma Responsable:

20-01-2003
 Fecha:

folios 61 y 62
extracto:
Junio 2004
lsf



56
63

2020
Bogotá, D.C.,

Doctor:
Carlos R. Olarte
Apoderado
Smithkline Beecham Corporation

Oficio N° 07729

ASUNTO:	Radicación N°	03-3341
	Solicitud internacional	PCT/US01/22328
	Fecha inicio fase nacional	18/02/2003
	Trámite	011
	Evento	379
	Actuación	430
	Folios	001

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

- ☐ La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante. (Art. 26-k) Decisión 486).

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única N° 10 de 2001.


ALIX CARMENZA OESPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones.

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha.

19 SET. 2003