

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202092250** (13) **A1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**(43) Дата публикации заявки  
2020.12.11(22) Дата подачи заявки  
2017.02.02

(51) Int. Cl. *A61K 31/437* (2006.01)  
*A61K 31/7056* (2006.01)  
*A61P 31/12* (2006.01)  
*A61K 39/395* (2006.01)  
*A61K 31/41* (2006.01)  
*A61K 31/4184* (2006.01)  
*A61K 31/52* (2006.01)  
*A61K 31/53* (2006.01)  
*A61K 31/5377* (2006.01)  
*A61K 31/55* (2006.01)  
*A61K 31/5513* (2006.01)  
*A61K 31/70* (2006.01)  
*A61K 31/519* (2006.01)

(54) **КОМБИНИРОВАННЫЕ ПРОДУКТЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ RSV**

(31) 16154035.6

(32) 2016.02.03

(33) EP

(62) 201891655; 2017.02.02

(71) Заявитель:  
**ЯНССЕН САЙЕНСИЗ АЙРЛЭНД  
ЮСИ (IE)**

(72) Изобретатель:

**Исебарт Нина, Гуйвартс Неле Иса Э.,  
Ройманс Дирк Андре Э., Коул Анил  
(BE)**

(74) Представитель:

**Медведев В.Н. (RU)**

(57) Изобретение направлено на комбинацию ингибирующего RSV соединения А, т.е. 3-({5-хлор-1-[3-(метилсульфонил)пропил]-1Н-индол-2-ил}метил)-1-(2,2,2-трифторэтил)-1,3-дигидро-2Н-имидазо[4,5-с]пиридин-2-она, и одного или нескольких ингибирующих RSV соединений В, выбранных из рибавирина, GS-5806, MDT-637, BTA-9881, BMS-433771, YM-543403, A-60444, TMC-353121, RFI-641, CL-387626, MBX-300, AZ-27, MEDI8897, CR9501, паливизумаба, 3-({5-хлор-1-[3-(метилсульфонил)пропил]-1Н-бензимидазол-2-ил}метил)-1-циклопропил-1,3-дигидро-2Н-имидазо[4,5-с]пиридин-2-она, 3-[[7-хлор-3-(2-этилсульфонилэтил)имидазо[1,2-а]пиридин-2-ил]метил]-1-циклопропилимидазо[4,5-с]пиридин-2-она, N-(2-фтор-6-метилфенил)-6-(4-(5-метил-2-(7-окса-2-азаспиро[3.5]нонан-2-ил)никотинамидо)бензоил)-5,6-дигидро-4Н-бензо[б]тиено[2,3-д]азепин-2-карбоксамид и 4-амино-8-[3-[[2-(3,4-диметоксифенил)этил]амино]пропил]-6,6-диметил-2-(4-метил-3-нитрофенил)-3Н-имидазо[4,5-н]изохинолин-7,9-(6Н,8Н)-диона, предназначенную для лечения или уменьшения интенсивности RSV-инфекции. Настоящее изобретение дополнительно относится к комбинированному продукту на основе соединения А и одного или нескольких соединений В, к фармацевтическому продукту, содержащему соединение А и одно или несколько соединений В, к применению комбинации соединения А и одного или нескольких соединений В или фармацевтического продукта, содержащего соединение А и одно или несколько соединений В, для лечения RSV-инфекции и к способу лечения или уменьшения интенсивности RSV-инфекции у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающему введение комбинации соединения А и одного или нескольких соединений В в эффективном количестве указанному субъекту.

A1

202092250

202092250

A1

**КОМБИНИРОВАННЫЕ ПРОДУКТЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ RSV**

[0001] Настоящее изобретение направлено на комбинацию ингибирующего RSV соединения А, т. е. 3-({5-хлор-1-[3-(метилсульфонил)пропил]-1Н-индол-2-ил}метил)-1-(2,2,2-трифторэтил)-1,3-дигидро-2Н-имидазо[4,5-с]пиридин-2-она, и одного или нескольких ингибирующих RSV соединений В, выбранных из рибавирина, GS-5806, MDT-637, BTA-9881, BMS-433771, YM-543403, A-60444, TMC-353121, RFI-641, CL-387626, MBX-300, AZ-27, MEDI8897, CR9501, паливизумаба, 3-({5-хлор-1-[3-(метилсульфонил)пропил]-1Н-бензимидазол-2-ил}метил)-1-циклопропил-1,3-дигидро-2Н-имидазо[4,5-с]пиридин-2-она, 3-[[7-хлор-3-(2-этилсульфонилэтил)имидазо[1,2-а]пиридин-2-ил]метил]-1-циклопропилимидазо[4,5-с]пиридин-2-она, N-(2-фтор-6-метилфенил)-6-(4-(5-метил-2-(7-окса-2-азаспиро[3.5]нонан-2-ил)никотинамидо)бензоил)-5,6-дигидро-4Н-бензо[b]тиено[2,3-d]азепин-2-карбоксамид и 4-амино-8-[3-[[2-(3,4-диметоксифенил)этил]амино]пропил]-6,6-диметил-2-(4-метил-3-нитрофенил)-3Н-имидазо[4,5-h]изохинолин-7,9(6Н,8Н)-диона, предназначенную для лечения или уменьшения интенсивности RSV-инфекции. Настоящее изобретение дополнительно относится к комбинированному продукту на основе соединения А и одного или нескольких соединений В, к фармацевтическому продукту, содержащему соединение А и одно или несколько соединений В, к применению комбинации соединения А и одного или нескольких соединений В или фармацевтического продукта, содержащего соединение А и одно или несколько соединений В, для лечения RSV-инфекции и к способу лечения или уменьшения интенсивности RSV-инфекции у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающему введение комбинации соединения А и одного или нескольких соединений В в эффективном количестве указанному субъекту.

[0002] RSV, или респираторно-синцитиальный вирус человека, представляет собой крупный РНК-вирус, входящий в семейство Pneumoviridae рода Orthopneumovirus вместе с RSV-вирусом крупного рогатого скота. RSV человека вызывает ряд заболеваний

дыхательных путей у людей всех возрастов во всем мире. Он является основной причиной заболеваний нижних дыхательных путей в младенчестве и детстве. Более половины всех младенцев сталкиваются с RSV в свой первый год жизни и почти все - в течение их первых двух лет. Инфекция у маленьких детей может приводить к повреждению легких, которое сохраняется годами и может способствовать развитию хронического заболевания легких в дальнейшей жизни (хроническая бронхолегочная обструкция, астма). Подростки и взрослые часто страдают от (сильной) простуды при RSV-инфекции. В старости восприимчивость вновь возрастает, и RSV был вовлечен во множество вспышек пневмонии у пожилых людей, что приводило в результате к значительной смертности.

**[0003]** На данный момент было одобрено только три лекарственных средства для применения против RSV-инфекции. Первым таковым является рибавирин, нуклеозидный аналог, который обеспечивает аэрозольное средство для лечения тяжелой RSV-инфекции у госпитализированных детей. Другие два лекарственных средства, RespiGam® (RSV-IG) и Synagis® (паливизумаб), иммуностимуляторы на основе поликлональных и моноклональных антител, предназначены для профилактического применения. Оба являются очень дорогостоящими и требуют парентерального введения. Ряд соединений, предназначенных для лечения RSV-инфекции, находится на стадии клинических испытаний. Одно из таких соединений представляет собой 3-({5-хлор-1-[3-(метилсульфонил)-пропил]-1H-индол-2-ил}метил)-1-(2,2,2-трифторэтил)-1,3-дигидро-2H-имидазо[4,5-с]пиридин-2-он, раскрытый в WO-2012/080447 как соединение P55.

**[0004]** В настоящее время было обнаружено, что комбинация 3-({5-хлор-1-[3-(метилсульфонил)пропил]-1H-индол-2-ил}метил)-1-(2,2,2-трифторэтил)-1,3-дигидро-2H-имидазо[4,5-с]пиридин-2-она (далее в настоящем документе называемого соединением А) и одного или нескольких соединений В, причем соединение В обладает свойствами ингибирования репликации RSV, обеспечивает улучшенную терапию при лечении RSV-инфекции.

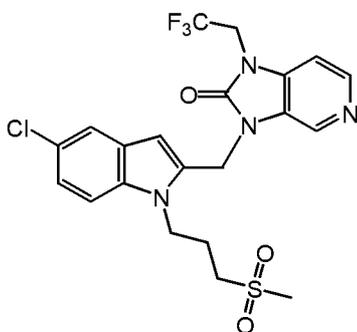
**[0005]** Некоторые варианты осуществления, раскрытые в

настоящем документе, относятся к комбинации соединения А и одного или нескольких соединений В и к применению данной комбинации для лечения или уменьшения интенсивности RSV-инфекции у субъекта, нуждающегося в этом.

[0006] Другие варианты осуществления относятся к фармацевтическому продукту, содержащему комбинацию соединения А и одного или нескольких соединений В, и к применению указанного фармацевтического продукта для лечения или уменьшения интенсивности RSV-инфекции.

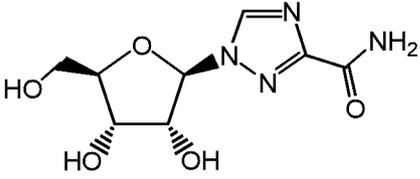
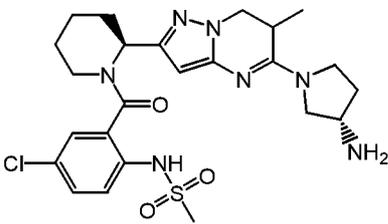
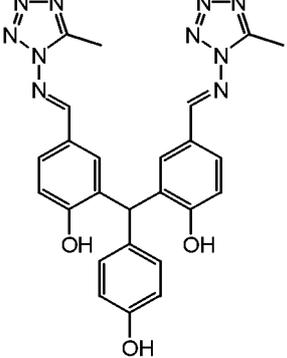
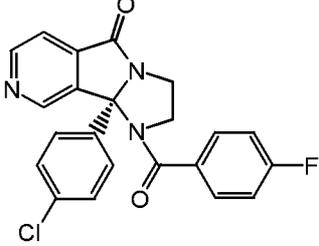
[0007] Еще одни варианты осуществления относятся к способу лечения или уменьшения интенсивности RSV-инфекции у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающему введение комбинации соединения А и одного или нескольких соединений В в эффективном количестве указанному субъекту.

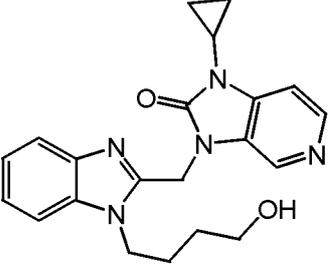
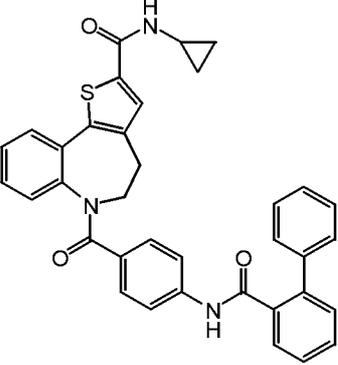
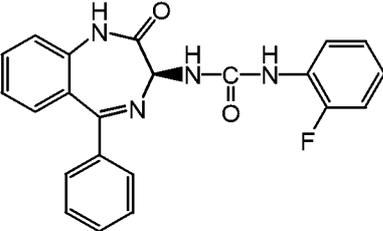
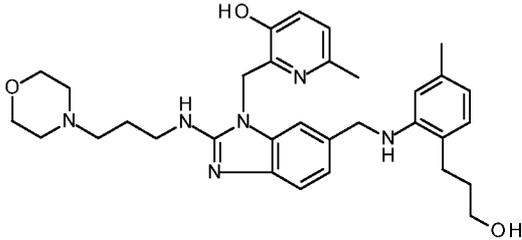
[0008] Соединение А представляет собой 3-({5-хлор-1-[3-(метилсульфонил)пропил]-1*H*-индол-2-ил}метил)-1-(2,2,2-трифторэтил)-1,3-дигидро-2*H*-имидазо[4,5-с]пиридин-2-он, раскрытый в WO-2012/080447 как соединение P55, имеющее следующую структуру:

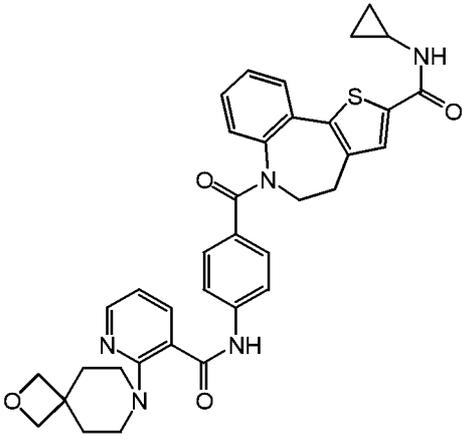
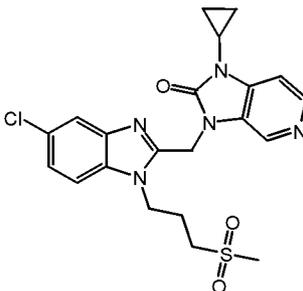


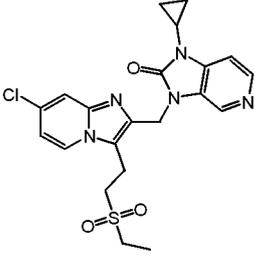
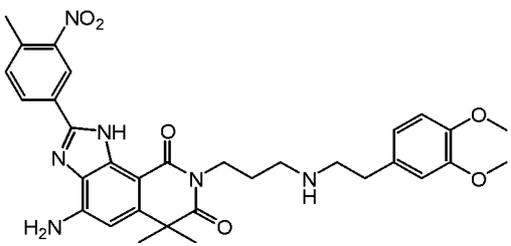
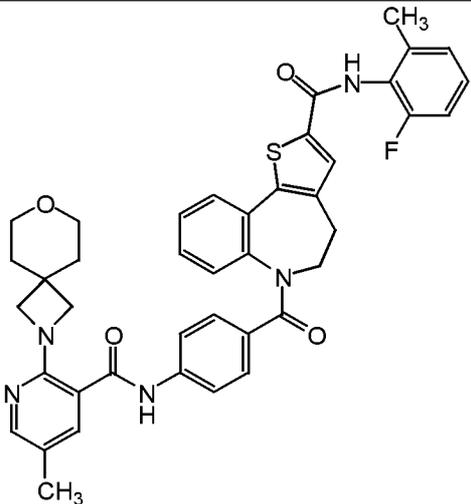
[0009] Одно или несколько ингибирующих RSV соединений В по отдельности выбраны из рибавирина, GS-5806, MDT-637, BTA-9881, BMS-433771, YM-543403, A-60444, TMC-353121, RFI-641, CL-387626, MBX-300, AZ-27, MEDI8897, CR9501, паливизумаба, 3-({5-хлор-1-[3-(метилсульфонил)пропил]-1*H*-бензимидазол-2-ил}метил)-1-циклопропил-1,3-дигидро-2*H*-имидазо[4,5-с]пиридин-2-она, 3-[ [7-хлор-3-(2-этилсульфонилэтил)имидазо[1,2-а]пиридин-2-ил]метил]-1-циклопропилимидазо[4,5-с]пиридин-2-она, N-(2-фтор-6-метилфенил)-6-(4-(5-метил-2-(7-окса-2-азаспиро[3.5]нонан-2-ил)никотинамидо)бензоил)-5,6-дигидро-4*H*-бензо[b]тиено[2,3-

d) азепин-2-карбоксамид и 4-амино-8-[3-[[2-(3,4-диметоксифенил)этил]амино]пропил]-6,6-диметил-2-(4-метил-3-нитрофенил)-3H-имидазо[4,5-h]изохинолин-7,9(6H,8H)-диона.

Структура или регистрационный номер согласно CAS соединений В	Альтернативное название	Научное название
	Рибавирин	1-β-D-рибофуранозил-1H-1,2,4-триазол-3-карбоксамид
	GS-5806	N-(2-((S)-2-(5-((S)-3-аминопирролидин-1-ил)-6-метилпиразоло[1,5-a]пиримидин-2-ил)пиперидин-1-карбонил)-4-хлорфенил)метансульфонамид
	MDT-637 (VP-14637)	2,2'-[(4-гидроксифенил)-метилен]бис[4-[[5-метил-1H-тетразол-1-ил]имино]метил]фенол
	VTA-9881	(9bS)-9b-(4-хлорфенил)-1-(пиридин-3-илкарбонил)-1,2,3,9b-тетрагидро-5H-имидазо[10,20:1,2]пирроло[3,4-c]пиридин-5-он

	BMS-433771	1-циклопропил-3-[[1-(4-гидроксибутил)-1H-бензимидазол-2-ил]метил]-1,3-дигидроимидазо[4,5-с]пиридин-2-он
	YM-53403	6-[4-[[[1,1'-бифенил]-2-илкарбонил)амино]бензоил]-N-циклопропил-5,6-дигидро-4H-тиено[3,2-d][1]бензазепин-2-карбоксамид
	A-60444 (= RSV604)	(S)-1-(2-фторфенил)-3-(2-оксо-5-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[e][1,4]дiazепин-3-ил)мочевина
	TMC-353121	2-[[[6-[[[2-(3-гидроксипропил)-5-метилфенил]амино]метил]-2-[[3-(морфолин-4-ил)-пропил]амино]бензимидазол-1-ил]метил]-6-метилпиридин-3-ол
<p>Регистрационный номер согласно CAS 197366-24-8</p>	RFI-641	[1,1'-бифенил]-2,2'-дисульфоновой кислоты 4,4'-бис[[4,6-бис[[3-[[бис(2-амино-2-оксоэтил)амино]сульфонил]фенил]амино]-1,3,5-триазин-2-ил]амино]динатриевая

		соль
Регистрационный номер согласно CAS 197365-88-1	CL-387626	[1,1'-бифенил]-2,2'- дисульфоновой кислоты 4,4'-бис[[4,6-бис[[3- [[бис(3-амино-3- оксопропил)амино]суль фонил]фенил]амино]- 1,3,5-триазин-2- ил]амино]динатриевая соль
Регистрационный номер согласно CAS 199601-01-9	MBX-300 или NMSO3	$\alpha$ -нейраминовой кислоты N-ацетил-2-O- [3-(докозилокси)-2- [(докозилокси)метил]- 2-метилпропил]- 4,7,8,9- тетраakis(гидросульфат )пентанатриевая соль
	AZ-27	N-циклопропил-5,6- дигидро-6-[4-[[[2-(2- окса-7- азаспиро[3.5]нон-7- ил)-3- пиридинил]карбонил]- амино]бензоил]-4H- тиено[3,2- d][1]бензазепин-2- карбоксамид
		3-({5-хлор-1-[3- (метилсульфонил)пропи л]-1H-бензимидазол-2- ил}метил)-1- циклопропил-1,3- дигидро-2H- имидазо[4,5-

		с] пиридин-2-он
		3-[[7-хлор-3-(2-этилсульфонилэтил)имидазо[1,2-а]пиридин-2-ил]метил]-1-циклопропилимидазо[4,5-с]пиридин-2-он
моноклональное антитело	MEDI8897	
моноклональное антитело	CR9501	
моноклональное антитело, CAS 188039-54-5	паливизумаб	
	CAS 851658-10-1	4-амино-8-[3-[2-(3,4-диметоксифенил)этил]амино]пропил]-6,6-диметил-2-(4-метил-3-нитрофенил)-3Н-имидазо[4,5-н]изохинолин-7,9(6Н,8Н)-дион
	пульмоцид	N-(2-фтор-6-метилфенил)-6-(4-(5-метил-2-(7-окса-2-азаспиро[3.5]нонан-2-ил)никотинамидо)бензоил)-5,6-дигидро-4Н-бензо[b]тиено[2,3-d]азепин-2-карбоксамид

[0010] При использовании далее в настоящем документе выражение "соединение А", "соединение В", "одно или несколько соединений В", "соединения В" или подобные выражения предназначены для включения как соединения А и/или соединения В в своей форме свободного основания, так и их форм фармацевтически приемлемых солей.

[0011] Соединение А или соединения В можно применять в формах фармацевтически приемлемых солей или в свободной (т. е. несольевой) форме. Формы солей могут быть получены путем обработки свободной формы кислотой или основанием. Интерес представляют фармацевтически приемлемые соли присоединения кислоты и основания, которые подразумеваются как включающие формы терапевтически активных нетоксичных солей присоединения кислоты и основания, которые данные соединения способны образовывать. Фармацевтически приемлемые соли присоединения кислоты соединения А или соединений В можно легко получать посредством обработки свободной формы такой соответствующей кислотой. Соответствующие кислоты предусматривают, например, неорганические кислоты, такие как галогенводородные кислоты, такие как бромистоводородная кислота или, в частности, хлористоводородная кислота; или серная, азотная, фосфорная и подобные кислоты; или органические кислоты, такие как, например, уксусная, пропановая, гидроксипропановая, молочная, пировиноградная, шавелевая, малоновая, янтарная, малеиновая, фумаровая, яблочная (т. е. гидроксипропановая кислота), винная, лимонная, метансульфоновая, этансульфоновая, бензолсульфоновая, п-толуолсульфоновая, цикламовая, салициловая, п-аминосалициловая, паминовая и подобные кислоты. Соединение А или соединения В также можно превращать в формы фармацевтически приемлемых солей присоединения металлов или аминов посредством обработки соответствующими органическими или неорганическими основаниями. Соответствующие формы основных солей включают, например, соли аммония, соли щелочных и щелочноземельных металлов, например, соли лития, натрия или калия; или соли магния или кальция; соли органических оснований, например, соли бензатина, N-метил-D-глюкамина, гидрабамина, и соли аминокислот, таких как, например, аргинин, лизин и подобные. Выражение "форма соли присоединения" также подразумевает включение любых сольватов, которые соединение А или соединения В могут образовывать, а также их соли. Такими сольватами являются, например, гидраты, алкогольаты, например, этанолаты, и подобные.

[0012] Первая группа соединений В представляет собой

группу, где соединение В выбрано из рибавирина, GS-5806, MDT-637, A-60444, AZ-27, CR9501, паливизумаба, N-(2-фтор-6-метилфенил)-6-(4-(5-метил-2-(7-окса-2-азаспиро[3.5]нонан-2-ил)никотинамидо)бензоил)-5,6-дигидро-4H-бензо[b]тиено[2,3-d]азепин-2-карбоксамид и 4-амино-8-[3-[[2-(3,4-диметоксифенил)этил]амино]пропил]-6,6-диметил-2-(4-метил-3-нитрофенил)-3H-имидазо[4,5-h]изохинолин-7,9(6H,8H)-диона.

[0013] Вторая группа соединений В представляет собой группу, где соединение В выбрано из моноклонального антитела MEDI8897, CR9501 и паливизумаба; в частности, соединение В представляет собой паливизумаб.

[0014] Третья группа соединений В представляет собой группу, где соединение В выбрано из рибавирина, GS-5806, MDT-637, A-60444 и AZ-27.

[0015] Четвертая группа соединений В представляет собой группу, где соединение В выбрано из N-(2-фтор-6-метилфенил)-6-(4-(5-метил-2-(7-окса-2-азаспиро[3.5]нонан-2-ил)никотинамидо)бензоил)-5,6-дигидро-4H-бензо[b]тиено[2,3-d]азепин-2-карбоксамид и 4-амино-8-[3-[[2-(3,4-диметоксифенил)этил]амино]пропил]-6,6-диметил-2-(4-метил-3-нитрофенил)-3H-имидазо[4,5-h]изохинолин-7,9(6H,8H)-диона.

[0016] В варианте осуществления количество соединения А и количество соединения В в комбинациях по настоящему изобретению являются таковыми, что в отношении RSV обеспечивается синергический противовирусный эффект.

[0017] Количества соединения А в комбинациях по настоящему изобретению, которые вводят ежедневно, могут варьироваться от приблизительно 10 мг до приблизительно 2500 мг, от приблизительно 50 мг до приблизительно 1000 мг или от приблизительно 50 мг до приблизительно 500 мг.

[0018] Количества одного или нескольких соединений В в комбинациях по настоящему изобретению, которые вводят ежедневно, могут варьироваться от приблизительно 10 мг до приблизительно 2500 мг, от приблизительно 50 мг до приблизительно 1000 мг или от приблизительно 50 мг до приблизительно 500 мг от общего количества одного или нескольких

соединений В.

[0019] Все количества, которые упоминаются в данном и следующих абзацах, относятся к свободной форме (т. е. несолевой форме). Приведенные выше значения представляют эквиваленты свободной формы, т. е. величины, соответствующие предполагаемому введению свободной формы. При введении солей количества должны быть рассчитаны в зависимости от соотношения молекулярных масс солевой формы и свободной формы.

[0020] Указанные выше суточные дозы рассчитаны для средней массы тела, составляющей приблизительно 70 кг, и должны быть пересчитаны в случае применения в педиатрии или в случае применения у пациентов со значительным отклонением массы тела.

[0021] Дозировки могут быть представлены в виде одной, двух, трех или четырех или более частей дозы, вводимых через определенные интервалы в течение суток. Применяемая дозировка предпочтительно соответствует суточному количеству соединения А и одного или нескольких соединений В, указанному выше, или его части дозы, такой как его  $1/2$ ,  $1/3$  или  $1/4$ . Лекарственная форма может содержать соединение А и одно или несколько соединений В в количестве, эквивалентном диапазонам или величинам, указанным в предыдущих абзацах, либо в отдельных составах, либо в комбинированном составе. Такой комбинированный состав является предпочтительным.

[0022] В случае, если соединение А и одно или несколько соединений В подлежат введению один раз в сутки, оно может быть выполнено посредством введения объединенной комбинации с фиксированной дозой, содержащей соединение А и одно или несколько соединений В. Лекарственные формы, которые можно вводить, описаны далее в настоящем документе, при этом лекарственные формы для перорального применения, в частности, растворы для перорального приема, являются предпочтительными.

[0023] Активные ингредиенты могут быть составлены в фармацевтических композициях либо по отдельности, либо в виде объединенной фармацевтической композиции. В последнем случае предусмотрена фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективное количество соединения А или его

фармацевтически приемлемой соли и одного или нескольких соединений В или их фармацевтически приемлемых солей и фармацевтически приемлемый носитель. Терапевтически эффективное количество в данном контексте представляет собой количество, достаточное для стабилизации или снижения интенсивности RSV-инфекции у инфицированных субъектов. Терапевтически эффективные количества могут, в частности, соответствовать количествам, указанным выше, для введения ежесуточно или их частям дозы для удобства нескольких ежесуточных введений.

**[0024]** В дополнительном аспекте настоящее изобретение относится к способу получения фармацевтической композиции, указанной в настоящем документе, который предусматривает тщательное смешивание фармацевтически приемлемого носителя с терапевтически эффективным количеством соединения А или его фармацевтически приемлемой соли и эффективным количеством одного или нескольких соединений В или их фармацевтически приемлемых солей.

**[0025]** Комбинации, представленные в настоящем документе, также можно составлять в виде комбинированного препарата для одновременного или последовательного применения в терапии против RSV. В таком случае соединение А составлено в фармацевтической композиции, содержащей другие фармацевтически приемлемые наполнители, и одно или несколько соединений В составлены отдельно в фармацевтической композиции, содержащей другие фармацевтически приемлемые наполнители. Условно говоря, данные отдельные фармацевтические композиции могут представлять собой часть набора для одновременного или последовательного применения.

**[0026]** Отдельные компоненты комбинации по настоящему изобретению можно вводить одновременно или раздельно в разные моменты времени в ходе терапии или параллельно в разделенных или единых комбинированных формах.

**[0027]** Следовательно, соединение А и одно или несколько соединений В отдельно или в комбинации можно составлять в различные фармацевтические композиции, которые подходят для целей введения. В таких композициях терапевтически эффективное

количество каждого из конкретных соединений А и В объединено с фармацевтически приемлемым носителем, причем носитель может принимать широкое разнообразие форм в зависимости от необходимой для введения формы препарата. Фармацевтические композиции можно получать в виде лекарственных препаратов, предназначенных для перорального, парентерального (в том числе подкожного, внутримышечного и внутривенного), ректального, трансбуккального или интраназального введения. Подходящие композиции для перорального введения включают порошки, грануляты, агрегаты, таблетки, прессованные или покрытые пилюли, драже, саше, твердые или желатиновые капсулы, сиропы и суспензии. Подходящие композиции для парентерального введения включают водные или неводные растворы или эмульсии, при этом подходящие композиции для ректального введения включают суппозитории с гидрофильной или гидрофобной средой-носителем. Для интраназальной доставки можно применять подходящие системы аэрозольной доставки.

[0028] Например, при получении композиций для перорального введения можно использовать любую обычную фармацевтическую среду, такую как, например, вода, гликоли, масла, спирты и им подобные, в случае жидких композиций для перорального введения, таких как суспензии, сиропы, эликсиры, эмульсии и растворы; или твердые носители, такие как крахмалы, сахара, каолин, смазывающие вещества, связующие, разрыхлители и им подобные, в случае твердых композиций. В случае композиций для парентерального введения носитель будет, как правило, содержать стерильную воду, по меньшей мере в значительной степени, хотя в носитель могут добавляться другие ингредиенты, такие как солюбилизаторы, эмульгаторы или дополнительные вспомогательные средства. Могут быть получены инъекционные растворы, в которых носитель содержит физиологический раствор, раствор глюкозы или смесь и первого, и второго. Также можно получать суспензии для инъекций, в случае которых можно использовать соответствующие жидкие носители, суспендирующие средства и т. п. Также включены препараты в твердой форме, которые предназначены для превращения непосредственно перед применением в препараты в жидкой форме, такие как порошки для растворения.

[0029] Фармацевтические композиции для удобства могут быть представлены в стандартной лекарственной форме для простоты введения и однородности дозы. Примеры включают таблетки (в том числе делимые или покрытые оболочкой таблетки), капсулы, пилюли, суппозитории, пакеты с порошком, пластинки, растворы или суспензии для инъекций и им подобные, а также их отдельные множества.

[0030] Комбинация соединения А и одного или нескольких соединений В, указанных в настоящем документе, подходит для лечения теплокровных животных, в частности людей, инфицированных RSV.

[0031] Настоящее изобретение также относится к способу лечения или уменьшения интенсивности RSV-инфекции у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающему введение комбинации соединения А и одного или нескольких соединений В или фармацевтически приемлемой соли любого из вышеуказанного в терапевтически эффективном количестве указанному субъекту. Количество соединения А может находиться в диапазоне от 5 мг/кг до 50 мг/кг, и количество соединения В может находиться в диапазоне от 5 мг/кг до 50 мг/кг.

[0032] В варианте осуществления настоящее изобретение дополнительно относится к способу лечения или уменьшения интенсивности RSV-инфекции у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающему введение комбинации соединения А и одного или нескольких соединений В или фармацевтически приемлемой соли любого из вышеуказанного, где количество соединения А и количество соединения являются таковыми, что в отношении RSV обеспечивается синергический противовирусный эффект.

[0033] Другие варианты осуществления относятся к способу лечения или уменьшения интенсивности RSV-инфекции, предусматривающему приведение клетки, инфицированной RSV-вирусом, в контакт с эффективным количеством комбинации соединения А и одного или нескольких соединений В или фармацевтически приемлемой соли любого из вышеуказанного.

[0034] Используемые в настоящем документе выражения "лечить", "лечащий", "лечение", "терапевтический" и "терапия"

необязательно означают полное излечение или устранение заболевания или состояния. Любое снижение значения вирусной нагрузки или облегчение любых нежелательных признаков или симптомов заболевания или состояния до некоторой степени можно рассматривать как лечение и/или терапию.

[0035] Выражения "терапевтически эффективное количество" и "эффективное количество" применяют для обозначения количества активного соединения или фармацевтического средства, которое вызывает отмечаемый биологический или медицинский ответ. Например, терапевтически эффективное количество соединения может представлять собой количество, необходимое для предупреждения, облегчения или уменьшения интенсивности симптомов заболевания, снижения значения вирусной нагрузки или продления продолжительности жизни субъекта, подвергаемого лечению. Данный ответ может возникать в ткани, системе, животном или человеке и включает снижение значения вирусной нагрузки, облегчение признаков или симптомов заболевания, которое лечат. Определение эффективного количества вполне соответствует квалификации специалистов в данной области техники с учетом раскрытия, представленного в настоящем документе. Терапевтически эффективное количество соединений, раскрытых в настоящем документе, требуемое в качестве дозы, будет зависеть от пути введения, вида животного, в том числе человека, подвергаемого лечению, и физических характеристик конкретного рассматриваемого животного. Доза может быть изменена для достижения необходимого эффекта, но будет зависеть от факторов, таких как вес, рацион, параллельное применение лекарственных препаратов и другие факторы, которые будут понятны специалистам в области медицины.

[0036] Различные показатели, предназначенные для определения эффективности способа лечения инфекции, вызываемой респираторно-синцитиальным вирусом (RSV), известны специалистам в данной области техники. Пример подходящих показателей включает без ограничения снижение значения вирусной нагрузки, снижение репликации вируса, сокращение времени до сероконверсии (вирус, который невозможно обнаружить в сыворотке пациента), снижение заболеваемости или смертности в клинических исходах и/или другой

показатель ответа заболевания.

**[0037]** В некоторых вариантах осуществления комбинация соединения А и одного или нескольких соединений В или фармацевтически приемлемых солей вышеуказанных соединений может обеспечивать снижение значений титра вируса до необнаруживаемых уровней, например, менее  $1,7 \log_{10}$  эквивалента бляшкообразующих единиц (PFUe)/мл или менее  $0,3 \log_{10}$  эквивалента бляшкообразующих единиц (PFUe)/мл. В некоторых вариантах осуществления комбинация соединений, описанная в настоящем документе, может обеспечивать снижение значения вирусной нагрузки по сравнению со значением вирусной нагрузки до введения комбинации (например, через 60 часов после получения начальной дозы комбинации). В некоторых вариантах осуществления комбинация соединений, описанная в настоящем документе, может обеспечивать снижение значения вирусной нагрузки до значения менее  $1,7 \log_{10}$  (PFUe)/мл или менее  $0,3 \log_{10}$  (PFUe)/мл. В некоторых вариантах осуществления комбинация соединений, описанная в настоящем документе, может обеспечивать снижение титра вируса в сыворотке субъекта в диапазоне от приблизительно 1,5-кратного логарифмического до приблизительно 2,5-кратного логарифмического снижения, от приблизительно 3-кратного логарифмического до приблизительно 4-кратного логарифмического снижения или более чем приблизительно 5-кратного логарифмического снижения по сравнению со значением вирусной нагрузки до введения комбинации. Например, значение вирусной нагрузки измеряют перед введением комбинации и через несколько часов после получения начальной дозы комбинации (например, через 60 часов после получения начальной дозы комбинации).

**[0038]** В некоторых вариантах осуществления комбинация соединения А и одного или нескольких соединений В или фармацевтически приемлемых солей вышеуказанных соединений может обеспечивать по меньшей мере 1-, 2-, 3-, 4-, 5-, 10-, 15-, 20-, 25-, 50-, 75-, 100-кратное или большее снижение репликации RSV относительно уровней перед осуществлением лечения у субъекта, определенное через несколько часов после получения начальной дозы комбинации (например, через 60 часов после получения

начальной дозы комбинации). В некоторых вариантах осуществления комбинация, описанная в настоящем документе, может обеспечивать снижение репликации RSV относительно уровней перед осуществлением лечения в диапазоне от приблизительно 2- до приблизительно 5-кратного, от приблизительно 10- до приблизительно 20-кратного, от приблизительно 15- до приблизительно 40-кратного или от приблизительно 50- до приблизительно 100-кратного снижения. В некоторых вариантах осуществления комбинация, описанная в настоящем документе, может обеспечивать снижение репликации RSV в диапазоне от 1- до 1,5-кратного логарифмического, от 1,5-кратного логарифмического до 2-кратного логарифмического, от 2-кратного логарифмического до 2,5-кратного логарифмического, от 2,5- до 3-кратного логарифмического, от 3-кратного логарифмического до 3,5-кратного логарифмического или от 3,5- до 4-кратного логарифмического или большего снижения репликации RSV по сравнению со снижением RSV, достигаемым благодаря применению одного средства против RSV, вводимого в виде монотерапии, или может достигаться такое же снижение за более короткий период времени.

[0039] Через некоторое время возбудители инфекции могут проявлять устойчивость к одному или нескольким терапевтическим средствам. Выражение "устойчивость", используемое в настоящем документе, относится к вирусному штамму, демонстрирующему отложенный, уменьшенный и/или нулевой ответ на терапевтическое (терапевтические) средство (средства). Например, после лечения противовирусным средством значение вирусной нагрузки субъекта, инфицированного устойчивым вирусом, может быть снижено в меньшей степени по сравнению с величиной, проявляемой при снижении значения вирусной нагрузки субъектом, инфицированным неустойчивым штаммом. В некоторых вариантах осуществления комбинацию соединения А и одного или нескольких соединений В или фармацевтически приемлемых солей вышеуказанных соединений можно вводить субъекту, инфицированному RSV, который является устойчивым к одному или нескольким различным средствам против RSV (например, рибавирину). В некоторых вариантах осуществления развитие устойчивых штаммов RSV может быть

отложено при лечении субъектов с помощью комбинации соединений, описанной в настоящем документе, по сравнению с развитием штаммов RSV, устойчивых к другим средствам против RSV, вводимым в виде монотерапии.

[0040] В некоторых вариантах осуществления комбинация соединения А и одного или нескольких соединений В или фармацевтически приемлемых солей вышеуказанных соединений может снижать процент субъектов, которые испытывают осложнения от вирусной инфекции, вызванной RSV, по сравнению с процентом субъектов, которые испытывают осложнение при лечении одним средством против RSV. Например, процент субъектов, подвергаемых лечению комбинацией соединений, описанной в настоящем документе, которые испытывают осложнения, может составлять на 5%, 10%, 25%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% и 90% меньше по сравнению со значением для субъектов, подвергаемых лечению лишь одним средством против RSV, вводимым в виде монотерапии.

[0041] Потенциальное преимущество использования комбинации соединения А и одного или нескольких соединений В или фармацевтически приемлемых солей вышеуказанных соединений может представлять собой снижение требуемого (требуемых) количества (количеств) соединения А или его фармацевтически приемлемой соли и/или одного или нескольких соединений В или их фармацевтически приемлемых солей, которое (которые) является (являются) эффективным (эффективными) в лечении RSV-инфекции по сравнению с количеством, требуемым для достижения такого же терапевтического результата при применении одного или нескольких соединений (В) или их фармацевтически приемлемых солей и/или соединения А или его фармацевтически приемлемой соли. Например, количество соединения А или его фармацевтически приемлемой соли и/или одного или нескольких соединений В или их фармацевтически приемлемых солей может быть меньшим по сравнению с количеством вышеуказанных соединений, необходимым для достижения такого же значения снижения вирусной нагрузки при введении в виде монотерапии. Другое потенциальное преимущество использования комбинации, описанной в настоящем документе, заключается в том, что применение двух или более соединений,

имеющих различный механизм действия, может создать более высокий барьер для развития устойчивых вирусных штаммов по сравнению с барьером при введении соединения в виде монотерапии. Дополнительные преимущества использования комбинации, описанной в настоящем документе, могут включать перекрестную устойчивость к соединениям комбинации - от незначительной до ее отсутствия; различные пути выведения соединений комбинации; перекрывание профилей токсичности соединений комбинации - от небольшой степени до его отсутствия; эффекты на цитохром P450 - от небольших до незначительных; и/или фармакокинетические взаимодействия соединений комбинации - от небольших до их отсутствия.

#### **Примеры**

[0042] Следующие примеры предназначены для иллюстрации настоящего изобретения, а не для его ограничения.

#### **Пример 1. Анализ в отношении RSV**

[0043] Черные 384-луночные титрационные микропланшеты с прозрачным дном (Corning, Амстердам, Нидерланды) заполняли путем звукового выталкивания капли с использованием устройства для манипуляций с жидкостями Echo (Labcyte, Саннивейл, Калифорния). 200 нл исходных растворов соединений (100% DMSO) переносили в планшеты для исследования. Соединение (А) или его фармацевтически приемлемую соль серийно разводили (1:3) с получением 12 различных концентраций "в горизонтальном направлении" в 384-луночной планшете и соединение (В) или его фармацевтически приемлемую соль серийно разводили (1:3) с получением 12 различных концентраций "в вертикальном направлении" в 384-луночной планшете. Также было выделено пространство для титрования каждого из соединений по отдельности для применения в качестве эталонных контролей. Анализ инициировали путем добавления 10 мкл среды для культивирования в каждую лунку (среда RPMI без фенолового красного, 10% FBS, инактивированной нагреванием, 0,04% гентамицина (50 мг/мл). Все дополнительные стадии выполняли с использованием многоканального дозатора (Thermo Scientific, Эрембодегем, Бельгия). Затем вирус rgRSV224 (MOI=1), разведенный в среде для культивирования,

вносили в планшеты. Вирус rgRSV224 представляет собой сконструированный вирус, который включает в себя дополнительный ген GFP (Hallak LK, Spillmann D, Collins PL, Peeples ME. Glycosaminoglycan sulfation requirements for respiratory syncytial virus infection; Journal of virology (2000), 74(22), 10508-13), и лицензия на который была приобретена у NIH (Бетесда, Мэриленд, США). В конечном итоге, вносили 20 мкл суспензии клеток HeLa (3000 клеток/лунка). Среду, инфицированные вирусом контрольные образцы и контрольные образцы с имитацией инфицирования включали в каждый тест. Лунки содержали 0,05% DMSO на объем. Клетки инкубировали при 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. Через три дня после воздействия вируса количественно оценивали вирусную репликацию путем измерения экспрессии GFP в клетках с помощью собственной разработки - лазерного микроскопа MSM (Tibotec, Берсе, Бельгия). EC<sub>50</sub> определяли как 50% ингибирующую концентрацию для экспрессии GFP.

#### Анализ жизнеспособности клеток

**[0044]** Параллельно инкубировали соединения в течение трех суток в наборе белых 384-луночных титрационных микропланшетов (Corning) и определяли цитотоксичность соединений в клетках HeLa путем измерения содержания АТФ в клетках с применением набора ATPLite (Perkin Elmer, Завентем, Бельгия) в соответствии с инструкциями изготовителя. CC<sub>50</sub> определяли как 50% концентрацию для цитотоксичности.

#### Анализ данных

**[0045]** Каждый эксперимент осуществляли при N=3 как в отношении активности против RSV, так и в отношении жизнеспособности клеток. Получали среднее процентное ингибирование величин содержания репликонов из 3 экспериментов и в отношении активности против RSV рассчитывали показатель аддитивности (CI) с помощью программы из пакета программного обеспечения CalCuSyn от Biosoft (Biosoft, Великобритания):  $CI = [(D)1 / (Dx)1] + [(D)2 / (Dx)2]$ . Комбинацию определяли как: CI < 1: синергия; CI > 1: антагонизм; CI = 1: аддитивность. Более подробный диапазон CI представлен в таблице ниже.

Диапазон CI	Описание	Символы
< 0,1	Очень сильный синергизм	++++++
0,1-0,3	Сильный синергизм	++++
0,3-0,7	Синергизм	+++
0,7-0,85	Умеренный синергизм	++
0,85-0,90	Легкий синергизм	+
0,90-1,10	Практически аддитивность	+/-
1,10-1,20	Легкий антагонизм	-
1,20-1,45	Умеренный антагонизм	--
1,45-3,3	Антагонизм	---
3,3-10	Сильный антагонизм	----
>10	Очень сильный антагонизм	-----

**Пример 2. Исследования комбинации – RSV с репортерным геном Renilla**

[0046] RSV, экспрессирующий люциферазу Renilla (A2-RL-lin19F), был получен доктором Мартином Муром из Университета Эмори, Атланта, Джорджия, США. *In vitro* вирусная кинетика A2-RL-lin19F подобна таковой RSV дикого типа. Линию HEp-2 клеток-хозяев приобретали у ATCC (№ по кат. CCL-23) и клетки культивировали в 1х 50/50 DMEM/среда Хэма F-12, содержащей L-глутамин и 15 мМ HEPES (Mediatech, № по кат. 10-092-CM). В среду дополнительно добавляли 5% (об./об.) FBS (Mediatech, № по кат. 35-010-CV) и 1% (об./об.) пенициллина/стрептомицина (Mediatech, № по кат. 30-002-CI). Клетки HEp-2 выдерживали при 37°C в увлажненной атмосфере с 5% CO<sub>2</sub>.

Обработка лекарственным средством и введение доз вируса

[0047] Для определения эффекта комбинации соединений следовали следующей процедуре. В первые сутки высевали 20000 клеток HEp-2/лунка в 96-луночном планшете. На следующие сутки тестируемые образцы солибилизировали в 100% DMSO до необходимой конечной тестовой концентрации, составляющей 200х. Затем соединение (А) или его фармацевтически приемлемую соль серийно

разводили (1:3) с получением 9 различных концентраций "в горизонтальном направлении" в 96-луночной планшете и соединение (В) или его фармацевтически приемлемую соль серийно разводили (1:3) с получением 7 различных концентраций "в вертикальном направлении" в 96-луночной планшете. Серийно разведенные тестируемые образцы 200х затем разводили 1:10 в питательной среде для клеток с получением тестируемых образцов 20х. Аликвоту, составляющую 5 мкл, тестируемых образцов 20х добавляли в шахматном порядке к клеткам с 90 мкл существующей среды. Также было выделено пространство для титрования каждого из соединений по отдельности для применения в качестве эталонных контролей. После 12-часовой предварительной инкубации тестируемых образцов в планшет добавляли A2-RL-line19F при MOI, составляющей 0,5, и дополнительно инкубировали в течение 2 суток при 37°C в 5% CO<sub>2</sub>.

#### Определение активности против RSV

[0048] Систему анализа с использованием люциферазы Renilla (Promega, № по кат. E2820) применяли для измерения активности против RSV. Анализируемые планшеты подготавливали, как указано выше. Люминесценцию регистрировали с использованием многометочного счетчика Victor3V от Perkin Elmer.

#### Анализ жизнеспособности клеток

[0049] Люминесцентный анализ жизнеспособности клеток CellTiter-Glo (Promega, № по кат. G7572) применяли для измерения жизнеспособности клеток. Люминесцентный анализ жизнеспособности клеток CellTiter-Glo® представляет собой однофазный способ определения числа жизнеспособных клеток в культуре на основе определения количества присутствующего аденозинтрифосфата (АТФ), который сигнализирует о наличии метаболически активных клеток. Анализируемые планшеты подготавливали при таких же условиях, что и для анализа в отношении RSV, за исключением того, что вирус не добавляли при анализе жизнеспособности клеток. Аликвоту 100 мкл реагента CellTiter-Glo добавляли в каждую лунку и инкубировали при комнатной температуре в течение 8 минут. Люминесценцию регистрировали с использованием многометочного счетчика Victor3V от Perkin Elmer.

Анализ данных

[0050] Каждый эксперимент осуществляли при  $N=5$  как в отношении активности против RSV, так и в отношении жизнеспособности клеток. Получали среднее процентное ингибирование величин содержания репликонов из 5 экспериментов и активность против RSV анализировали с применением двух моделей анализа взаимодействия лекарственных средств, анализа изоболограммы и/или модели Причарда.

Анализ изоболограммы

[0051] Эффекты комбинаций "лекарственное средство-лекарственное средство" оценивали с помощью модели аддитивности Леве, в которой экспериментальные данные анализировали с применением CalcuSyn (Biosoft, Фергюсон, Миссури), компьютерной программы на основе метода Чжоу-Талалэя. Для каждой экспериментальной комбинации рассчитывали величину показателя аддитивности (CI) и изоболограмму. Величины CI, составляющие соответственно  $<1$ ,  $1$  и  $>1$ , указывают на синергию, аддитивный эффект и антагонизм. В рамках категории синергии:  $CI < 0,1$  предусматривает очень сильный синергизм;  $CI 0,1-0,3$  - сильный синергизм;  $CI 0,3-0,7$  - синергизм и  $CI 0,7-0,85$  - умеренный синергизм. Анализ изоболограммы, который графически представляет аддитивный, синергический и антагонистический эффекты лекарственных средств, также применяли для моделирования взаимодействия противовирусных активностей. В данном представлении величина эффективной концентрации (EC) одного лекарственного средства нанесена на одну ось, а соответствующая величина EC второго лекарственного средства нанесена на вторую ось; при этом линия, соединяющая данные две точки, представляет собой количество каждого лекарственного средства в комбинации, которое может потребоваться для достижения эквивалентной величины EC, при условии, что их эффекты являются аддитивными.

Модель Причарда (Mac Synergy II)

[0052] Программное обеспечение MacSynergy II было любезно предоставлено доктором М. Причардом (Мичиганский университет). Данная программа позволяет проводить трехмерное исследование взаимодействия лекарственных средств во всех точках данных,

полученных от комбинации в шахматном порядке двух ингибиторов с помощью модели независимого анализа межлекарственных взаимодействий по Блисссу. Доверительные пределы определяли из дублированных данных. Если 95% доверительных пределов (CL) не перекрывают теоретическую аддитивную поверхность, то взаимодействие между двумя лекарственными средствами существенно отличается от аддитивного. Размеры синергии или антагонизма можно определять и графически изображать в трех измерениях и представлять относительную величину синергизма или антагонизма на одно изменение концентраций двух лекарственных средств. Размеры синергии и антагонизма основаны на модели независимого анализа межлекарственных взаимодействий по Блисссу, которая предполагает, что оба соединения действуют независимо друг от друга на разные цели. Набор расчетных фракционных ответов  $fa_{AB}$  в соответствии с моделью независимого анализа межлекарственных взаимодействий по Блисссу рассчитывают как  $fa_{AB} = fa_A + fa_B - fa_A \cdot fa_B$ , при этом  $fa_A$  и  $fa_B$  представляют собой фракцию возможных ответов, например, % ингибирования соединений А и В соответственно при количествах  $dA$  и  $dB$ , и он описывает % ингибирования комбинации соединений А и В при количестве  $(dA+dB)$ . Если  $fa_{AB} > fa_A + fa_B - fa_A \cdot fa_B$ , то получается синергия по Блисссу; если  $fa_{AB} < fa_A + fa_B - fa_A \cdot fa_B$ , то получается антагонизм по Блисссу. 95% размеров синергии/антагонизма представляет собой суммирование значений разности между наблюдаемым ингибированием и 95% доверительным пределом при прогнозировании  $fa_{AB}$  в соответствии с моделью независимого анализа межлекарственных взаимодействий по Блисссу. В таблице 1 показаны размеры и соответствующие описания размеров для результатов независимого анализа межлекарственных взаимодействий по Блисссу. Для анализа данных применяли MacSynergy II.

Таблица 1. Описание размеров с помощью MacSynergy II

Размер (мкМ <sup>2</sup> %)	Описание размера
< 25	аддитивность
25-50	незначительный синергизм
50-100	значительный синергизм

&gt; 100

сильный синергизм

**Пример 3. Эксперименты в отношении анализируемой комбинации для RSV**

[0053] Для оценивания их объединенного противовирусного эффекта в отношении RSV проводили исследования комбинации *in vitro* с JNJ-53718678 ("соединение А") и различными соединениями с различными механизмами действия ("соединение В"). Вкратце, 9 концентраций соединения А объединяли с 6 или 7 концентрациями определенного соединения В. Клетки HeLa инфицировали с помощью rgRSV224, разработанного штамма RSV, который кодирует eGFP (Hallak LK, Spillmann D, Collins PL, Peeples ME. Glycosaminoglycan sulfation requirements for respiratory syncytial virus infection; Journal of Virology (2000), 74(22), 10508-13), в присутствии различных концентраций соединения А и соединения В по отдельности или в комбинации.

[0054] Исходные растворы соединений представляли собой 5 мМ в 100% DMSO со следующими исключениями: рибавирин, 20 мМ; А 60444, 10 мМ; CR9501, 141 мкМ в PBS; паливизумаб, 156 мкМ в PBS; MDT 637, 100 мкМ в метаноле. Во-первых, соединения серийно разводили в 3-кратных сериях разведения в DMSO; CR9501 и паливизумаб серийно разводили в клеточной культуральной среде и MDT 637 - в метаноле. Серию концентраций разводили 100-кратно в клеточной культуральной среде с достижением комбинированной матрицы. 10 мкл данных растворов соединения переносили в черные 384-луночные обработанные культурой тканей планшеты с прозрачным дном. Затем добавляли 10 мкл суспензии клеток HeLa с концентрацией 150000 клеток на мл для достижения концентрации 3000 клеток в лунке. Наконец, добавляли 10 мкл разведенного исходного раствора, содержащего вирус, для достижения MOI, составляющей 1. Конечная концентрация DMSO во всех лунках составляла 0,5% DMSO за исключением случая эксперимента с MDT 637, где она составляла 0,25% DMSO+0,25% метанола. Каждую комбинацию концентраций соединений тестировали в 4 повторностях на 3 отдельных планшетах с получением в общей сложности 12 повторностей. Планшеты инкубировали в течение 3 суток при 37°C в

увлажненной атмосфере при 5% CO<sub>2</sub>. Сигнал GFP измеряли с помощью устройства EnVision от PerkinElmer с применением фильтра 405 нм.

[0055] Для статистического анализа наблюдаемый сигнал GFP нормализовали с применением вирусных контролей (VC) и клеточных контролей (CC) на соответствующем планшете:  $\text{ответ} = (\text{GFP} - \text{CC}) / (\text{VC} - \text{CC})$ , где CC вычисляли как медианное значение GFP для всех холостых лунок (без вируса) и VC вычисляли как медианное значение GFP для всех контрольных лунок (без соединения).

[0056] Для оценивания синергии применяли метод Харброна (Statistics in Medicine, 2010, DOI:10.1002/sim3916). Применяя определение Лева, два соединения определяют как являющиеся аддитивными, синергическими или антагонистическими с помощью выражения:

$$\frac{d_1}{D_{y,1}} + \frac{d_2}{D_{y,2}} \begin{cases} = 1, & \text{аддитивность} \\ < 1, & \text{синергия} \\ > 1, & \text{антагонизм,} \end{cases}$$

[0057] где  $d_1$  и  $d_2$  представляют собой дозы двух соединений, которые в комбинации обеспечивают эффект  $y$ , и  $D_{y,1}$  и  $D_{y,2}$  представляют собой дозы двух соединений, которые обеспечивают такой же эффект  $y$  при введении в виде монотерапии. ЗРЛ-модель (3-параметрическую логарифмически-логистическую модель) применяли для данных о зависимости "доза-эффект" при монотерапии, где исходный уровень ответа устанавливали на уровне единицы.

[0058] В соответствии с подходом Харброна следующие модели приспособляли к данным:

"аддитивная": исходя из отсутствия взаимодействия между двумя соединениями;

"однородная": исходя из постоянного показателя взаимодействия  $\tau$  во всех комбинациях доз;

"линейная А": исходя из того, что показатель взаимодействия линейно зависит от  $\log_{10}$  дозы соединения А:  $\tau = \tau_1 + \tau_2 \log_{10}(d_A)$ ;

"отдельная А": исходя из того, что показатель взаимодействия  $\tau$  принимает отдельное значение для каждой дозы

соединения А.

Последние две модели также рассматривали для соединения В:

"линейная В": исходя из того, что показатель взаимодействия  $\tau$  линейно зависит от  $\log_{10}$  дозы соединения В:  $\tau = \tau_1 + \tau_2 \log_{10}(d_B)$ ;

"отдельная В": исходя из того, что показатель взаимодействия  $\tau$  принимает отдельное значение для каждой дозы соединения В.

[0059] "Отдельная А" модель была выбрана из всех тестируемых комбинаций на основании информационного критерия Акаике (AIC). Результаты тестов для комбинаций соединения А с различными соединениями В представлены ниже.

**Комбинация: соединение А и пульмоцидное соединение (N-(2-фтор-6-метилфенил)-6-(4-(5-метил-2-(7-окса-2-азаспиро[3.5]нонан-2-ил)никотинамидо)бензоил)-5,6-дигидро-4Н-бензо[b]тиено[2,3-d]азепин-2-карбоксамид) в качестве соединения В**

Таблица 2. Нормализованные данные для соединения А в комбинации с пульмоцидным соединением (среднее из 12 повторностей)

	A=0	A=0,19	A=0,57	A=1,7	A=5,1	A=15	A=46	A=139	A=417	A=1250
V=0	0,94	0,96	0,92	0,78	0,56	0,43	0,36	0,20	0,11	0,06
V=0,058	0,99	0,99	0,93	0,81	0,56	0,39	0,28	0,17	0,08	0,04
V=0,17	0,99	0,99	0,91	0,74	0,51	0,37	0,23	0,16	0,08	0,04
V=0,52	1,04	0,96	0,87	0,70	0,45	0,31	0,23	0,14	0,07	0,04
V=1,6	0,91	0,87	0,75	0,46	0,27	0,18	0,11	0,06	0,04	0,02
V=4,7	0,20	0,14	0,12	0,06	0,03	0,01	0,01	-0,00	-0,00	-0,00
V=14	0,02	0,01	-0,00	-0,01	-0,01	-0,01	-0,02	-0,01	-0,01	-0,01
V=42	0,02	0,01	0,01	0,00	-0,00	-0,01	-0,01	-0,00	-0,00	-0,00

В таблице 3 показано, что показатель взаимодействия ( $\tau$ ) оценивается с 95% доверительными интервалами (CI) для "отдельной А" модели. При условии, что степень синергии варьируется в зависимости от доз соединения А, обнаруживается значительная степень синергии при дозах, составляющих 0,57 нМ и выше. В целом степень синергии увеличивается с повышением уровней дозы при плато примерно от 5,1 до 139 нМ.

Таблица 3. Оценочные значения показателей взаимодействия при 95% CI для "отдельной А" модели. Показатель взаимодействия

при значении EC50 аппроксимировали посредством линейной интерполяции оценок  $\tau_{au}$ .

	Доза (нМ)	Оценка	95% CI
$\tau_1$	0,19	1,013	(0,955, 1,075)
$\tau_2$	0,57	0,93	(0,875, 0,989)
$\tau_3$	1,7	0,636	(0,601, 0,674)
$\tau_4$	5,1	0,479	(0,449, 0,51)
$\tau_5$	15	0,484	(0,443, 0,528)
$\tau_6$	46	0,544	(0,479, 0,618)
$\tau_7$	139	0,51	(0,412, 0,632)
$\tau_8$	417	0,234	(0,198, 0,277)
$\tau_9$	1250	0,073	(0,06, 0,088)
$\tau_{EC 50}$	9,79	0,481	(н. д., н. д.)

**Комбинация: соединение А и паливизумаб в качестве соединения В**

Таблица 4. Нормализованные данные для соединения А в комбинации с паливизумабом в качестве соединения В (среднее из 12 повторностей)

	A=0	A=0,19	A=0,57	A=1,7	A=5,1	A=15	A=46	A=139	A=417	A=1250
B=0	1,11	1,04	0,98	0,86	0,57	0,38	0,28	0,17	0,09	0,05
B=0,0061	1,05	0,99	0,93	0,77	0,51	0,34	0,26	0,15	0,08	0,04
B=0,018	1,01	0,94	0,88	0,74	0,44	0,30	0,19	0,12	0,06	0,03
B=0,055	0,97	0,90	0,84	0,69	0,42	0,26	0,20	0,12	0,06	0,03
B=0,165	1,01	0,93	0,82	0,64	0,32	0,16	0,11	0,06	0,03	0,02
B=0,494	0,89	0,78	0,61	0,25	0,08	0,04	0,02	0,00	0,00	0,00
B=1,482	0,33	0,13	0,08	0,02	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
B=4,447	0,06	0,03	0,02	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

В таблице 5 показано, что показатель взаимодействия ( $\tau$ ) оценивается с 95% доверительными интервалами (CI) для "отдельной А" модели. Следует заметить, что модель была подобрана посредством установления наклона в ЗРЛ-модели для соединения В с оценкой, полученной в результате подбора монотерапии. При условии, что степень синергии варьируется в зависимости от доз соединения А, обнаруживается значительная степень синергии для

всех рассматриваемых уровней дозы. В целом степень синергии увеличивается с повышением уровней дозы при плато примерно от 5,1 до 139 нМ.

Таблица 5. Оценочные значения показателей взаимодействия при 95% CI для "отдельной А" модели. Показатель взаимодействия при значении EC50 аппроксимировали посредством линейной интерполяции оценок тау.

	Доза (нМ)	Оценка	95% CI
$\tau_1$	0,19	0,788	(0,726, 0,855)
$\tau_2$	0,57	0,626	(0,579, 0,678)
$\tau_3$	1,7	0,386	(0,357, 0,418)
$\tau_4$	5,1	0,248	(0,224, 0,273)
$\tau_5$	15	0,237	(0,206, 0,273)
$\tau_6$	46	0,31	(0,253, 0,38)
$\tau_7$	139	0,274	(0,185, 0,407)
$\tau_8$	417	0,101	(0,044, 0,232)
$\tau_9$	1250	0,036	(0,018, 0,076)
$\tau$ EC 50	7,6	0,245	(н. д., н. д.)

**Комбинация: соединение А и AZ-27 в качестве соединения В**

Таблица 6. Нормализованные данные для соединения А в комбинации с AZ-27 в качестве соединения В (среднее из 12 повторностей)

	A=0	A=0,19	A=0,57	A=1,7	A=5,1	A=15	A=46	A=139	A=417	A=1250
V=0	0,99	0,98	0,96	0,89	0,71	0,45	0,25	0,17	0,07	0,04
V=17	1,03	0,98	0,97	0,86	0,60	0,34	0,20	0,12	0,05	0,03
V=51	1,00	0,93	0,90	0,72	0,45	0,23	0,13	0,07	0,03	0,02
V=154	0,53	0,43	0,38	0,22	0,10	0,05	0,03	0,02	0,01	0,01
V=463	0,07	0,05	0,04	0,03	0,00	-0,01	-0,00	-0,01	-0,01	-0,00
V=1389	0,01	0,00	0,00	-0,01	-0,01	-0,01	-0,00	-0,00	-0,00	-0,00
V=4167	0,00	0,00	0,00	-0,00	-0,01	-0,01	-0,00	0,00	-0,00	0,00

В таблице 7 показано, что показатель взаимодействия ( $\tau$ ) оценивается с 95% CI для "отдельной А" модели. При условии, что степень синергии варьируется в зависимости от доз соединения А, обнаруживается значительная степень синергии для всех рассматриваемых уровней дозы. В целом степень синергии

увеличивается с повышением уровней дозы при плато примерно от 5,1 до 139 нМ.

Таблица 7. Оценочные значения показателей взаимодействия при 95% CI для "отдельной А" модели. Показатель взаимодействия при значении EC50 аппроксимировали посредством линейной интерполяции оценок тау.

	Доза (нМ)	Оценка	95% CI
$\tau_1$	0,19	0,922	(0,896, 0,949)
$\tau_2$	0,57	0,894	(0,867, 0,923)
$\tau_3$	1,7	0,755	(0,724, 0,788)
$\tau_4$	5,1	0,609	(0,579, 0,642)
$\tau_5$	15	0,537	(0,499, 0,578)
$\tau_6$	46	0,582	(0,515, 0,658)
$\tau_7$	139	0,57	(0,43, 0,755)
$\tau_8$	417	0,312	(0,171, 0,57)
$\tau_9$	1250	0,126	(0,093, 0,17)
$\tau$ EC 50	11,99	0,559	(н. д., н. д.)

**Комбинация: соединение А и GS-5806 в качестве соединения В**

Таблица 8. Нормализованные данные для соединения А в комбинации с GS-5806 в качестве соединения В (среднее из 12 повторностей)

	A=0	A=0,19	A=0,57	A=1,7	A=5,1	A=15	A=46	A=139	A=417	A=1250
B=0	1,06	0,99	0,93	0,83	0,47	0,30	0,21	0,11	0,06	0,03
B=0,051	0,99	0,96	0,91	0,71	0,44	0,23	0,17	0,09	0,05	0,03
B=0,15	0,98	0,91	0,87	0,68	0,39	0,22	0,17	0,08	0,05	0,02
B=0,46	0,83	0,82	0,74	0,50	0,32	0,21	0,13	0,08	0,04	0,01
B=1,4	0,36	0,39	0,27	0,21	0,18	0,17	0,13	0,08	0,04	0,01
B=4,2	0,19	0,13	0,09	0,07	0,06	0,08	0,12	0,08	0,04	0,02
B=12,5	0,06	0,05	0,06	0,03	0,03	0,04	0,04	0,04	0,04	0,03
B=37,5	0,05	0,03	0,03	0,03	0,03	0,02	0,02	0,03	0,04	0,03

В таблице 9 показано, что показатель взаимодействия ( $\tau$ ) оценивается с 95% доверительными интервалами (CI) для "отдельной А" модели. При условии, что степень синергии варьируется в зависимости от доз соединения А, обнаруживается значительная степень синергии при дозах, составляющих от 0,57 до 15 нМ.

Следует заметить, что показатель взаимодействия при самой высокой концентрации не поддавался оцениванию.

Таблица 9. Оценочные значения показателей взаимодействия при 95% CI для "отдельной А" модели. Показатель взаимодействия при значении EC50 аппроксимировали посредством линейной интерполяции оценок тау.

	Доза (нМ)	Оценка	95% CI
$\tau_1$	0,19	1,063	(0,985, 1,148)
$\tau_2$	0,57	0,895	(0,832, 0,963)
$\tau_3$	1,7	0,728	(0,678, 0,78)
$\tau_4$	5,1	0,678	(0,621, 0,74)
$\tau_5$	15	0,783	(0,684, 0,897)
$\tau_6$	46	1,321	(1,091, 1,598)
$\tau_7$	139	0,938	(0,469, 1,878)
$\tau_8$	417	0,037	(0,007, 0,204)
$\tau_9$	1250	0	(н. д., н. д.)
$\tau$ EC 50	5,17	0,679	(н. д., н. д.)

**Комбинация: соединение А и MDT-637 в качестве соединения В**

Таблица 10. Нормализованные данные для соединения А в комбинации с MDT-637 в качестве соединения В (среднее из 12 повторностей)

	A=0	A=0,19	A=0,57	A=1,7	A=5,1	A=15	A=46	A=139	A=417	A=1250
B=0	1,01	0,98	0,97	0,85	0,43	0,26	0,16	0,06	0,02	-0,00
B=0,038	1,01	0,98	0,90	0,76	0,41	0,22	0,11	0,04	0,01	-0,01
B=0,12	0,99	0,95	0,89	0,72	0,39	0,17	0,09	0,03	-0,00	-0,02
B=0,35	0,95	0,93	0,86	0,65	0,36	0,15	0,09	0,04	-0,01	-0,01
B=1	0,93	0,89	0,80	0,58	0,30	0,16	0,07	0,03	-0,00	-0,02
B=3,1	0,75	0,69	0,59	0,38	0,23	0,12	0,07	0,03	0,00	-0,01
B=9,3	0,14	0,11	0,10	0,10	0,11	0,11	0,08	0,04	0,00	-0,01
B=28	0,01	0,00	-0,00	-0,01	0,04	0,08	0,08	0,05	0,02	0,00

Следует заметить, что для отдельной А модели показатели взаимодействия при двух самых высоких концентрациях не поддавались оцениванию ( $\tau_8$  и  $\tau_9$ ), и результаты основаны на значении локального оптимума. В таблице 11 показано, что показатель взаимодействия ( $\tau$ ) оценивается с 95% доверительными

интервалами (CI) для "отдельной А" модели. При условии, что степень синергии варьируется в зависимости от доз соединения А, обнаруживается значительная степень синергии при дозах, составляющих от 0,19 до 15 нМ.

Таблица 11. Оценочные значения показателей взаимодействия при 95% CI для "отдельной А" модели. Показатель взаимодействия при значении EC50 аппроксимировали посредством линейной интерполяции оценок тау.

	Доза (нМ)	Оценка	95% CI
$\tau_1$	0,19	0,93	(0,87, 0,995)
$\tau_2$	0,57	0,865	(0,811, 0,924)
$\tau_3$	1,7	0,756	(0,709, 0,806)
$\tau_4$	5,1	0,668	(0,615, 0,726)
$\tau_5$	15	0,756	(0,665, 0,859)
$\tau_6$	46	1,081	(0,875, 1,334)
$\tau_7$	139	1,111	(0,542, 2,278)
$\tau_8$	417	0,225	(н. д., н. д.)
$\tau_9$	1250	0	(н. д., н. д.)
$\tau$ EC 50	4,85	0,674	(н. д., н. д.)

**Комбинация: соединение А и 4-амино-8-[3-[[2-(3,4-диметоксифенил)этил]амино]пропил]-6,6-диметил-2-(4-метил-3-нитрофенил)-3Н-имидазо[4,5-*h*]изохинолин-7,9(6Н,8Н)-дион в качестве соединения В**

Таблица 12. Нормализованные данные для соединения А в комбинации с 4-амино-8-[3-[[2-(3,4-диметоксифенил)этил]амино]пропил]-6,6-диметил-2-(4-метил-3-нитрофенил)-3Н-имидазо[4,5-*h*]изохинолин-7,9(6Н,8Н)-дионом в качестве соединения В (среднее из 12 повторностей)

	A=0	A=0,19	A=0,57	A=1,7	A=5,1	A=15	A=46	A=139	A=417	A=1250
B=0	1,02	0,99	0,96	0,83	0,50	0,31	0,19	0,10	0,06	0,04
B=1,9	0,99	0,96	0,89	0,74	0,47	0,24	0,16	0,09	0,05	0,01
B=5,7	0,97	0,94	0,85	0,73	0,43	0,24	0,13	0,08	0,04	0,02
B=17	0,89	0,84	0,79	0,64	0,35	0,20	0,15	0,05	0,04	0,01

V=51	0,74	0,65	0,60	0,47	0,22	0,18	0,09	0,05	0,02	0,01
V=154	0,38	0,38	0,34	0,22	0,11	0,05	0,03	0,02	0,01	0,01
V=463	0,05	0,03	0,04	0,03	0,01	0,01	0,01	-0,00	-0,00	-0,00
V=1389	0,01	0,01	0,00	0,00	-0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Следует заметить, что в столбце 1 в планшете 3 был обнаружен дефект изготовления, соответствующий данным о монотерапии для соединения В, и что такие данные не учитывались в анализе (этим обусловлено наличие 10 вместо 12 повторностей). В таблице 13 показано, что показатель взаимодействия ( $\tau$ ) оценивается с 95% доверительными интервалами (CI) для "отдельной А" модели. При условии, что степень синергии варьируется в зависимости от доз соединения А, обнаруживается значительная степень синергии при концентрациях, составляющих от 0,57 до 46 нМ.

Таблица 13. Оценочные значения показателей взаимодействия при 95% CI для "отдельной А" модели. Показатель взаимодействия при значении EC50 аппроксимировали посредством линейной интерполяции оценок  $\tau_{50}$ .

	Доза (нМ)	Оценка	95% CI
$\tau_1$	0,19	0,954	(0,878, 1,037)
$\tau_2$	0,57	0,89	(0,821, 0,964)
$\tau_3$	1,7	0,72	(0,668, 0,776)
$\tau_4$	5,1	0,49	(0,449, 0,534)
$\tau_5$	15	0,512	(0,453, 0,579)
$\tau_6$	46	0,682	(0,57, 0,816)
$\tau_7$	139	0,762	(0,548, 1,061)
$\tau_8$	417	0,847	(0,454, 1,583)
$\tau_9$	1250	0,85	(0,34, 2,129)
$\tau$ EC 50	5,39	0,49	(н. д., н. д.)

**Комбинация: соединение А и моноклональное антитело CR9501 в качестве соединения В**

Таблица 14. Нормализованные данные для соединения А в комбинации с CR9501 в качестве соединения В (среднее из 12 повторностей)

	A=0	A=0,19	A=0,57	A=1,7	A=5,1	A=15	A=46	A=139	A=417	A=1250
B=0	1,06	1,05	1,01	0,89	0,64	0,41	0,28	0,21	0,10	0,06
B=0,002	1,06	0,98	0,94	0,80	0,51	0,37	0,26	0,17	0,06	0,04
B=0,0061	0,99	0,94	0,89	0,73	0,43	0,30	0,21	0,13	0,05	0,04
B=0,018	0,93	0,88	0,79	0,67	0,39	0,26	0,18	0,10	0,04	0,02
B=0,055	0,99	0,92	0,80	0,52	0,24	0,15	0,07	0,04	0,02	0,01
B=0,164	0,77	0,66	0,49	0,26	0,07	0,03	0,01	0,00	0,00	0,00
B=0,493	0,28	0,18	0,09	0,03	0,01	-0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
B=1,48	0,04	0,02	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

В таблице 15 показано, что показатель взаимодействия ( $\tau$ ) оценивается с 95% доверительными интервалами (CI) для "отдельной А" модели. При условии, что степень синергии варьируется в зависимости от доз соединения А, обнаруживается значительная степень синергии для всех значений концентрации.

Таблица 15. Оценочные значения показателей взаимодействия при 95% CI для "отдельной А" модели. Показатель взаимодействия при значении EC50 аппроксимировали посредством линейной интерполяции оценок  $\tau_{50}$ .

	Доза (нМ)	Оценка	95% CI
$\tau_1$	0,19	0,844	(0,772, 0,921)
$\tau_2$	0,57	0,599	(0,55, 0,652)
$\tau_3$	1,7	0,375	(0,343, 0,41)
$\tau_4$	5,1	0,21	(0,187, 0,235)
$\tau_5$	15	0,217	(0,186, 0,253)
$\tau_6$	46	0,245	(0,195, 0,308)
$\tau_7$	139	0,243	(0,161, 0,367)
$\tau_8$	417	0,059	(0,009, 0,407)
$\tau_9$	1250	0,023	(0,003, 0,176)
$\tau_{EC 50}$	8,93	0,212	(н. д., н. д.)

**Комбинация: соединение А и рибавирин в качестве соединения**

**В**

Таблица 16. Нормализованные данные для соединения А в комбинации с рибавирином в качестве соединения В (среднее из 12 повторностей)

	A=0	A=0,19	A=0,57	A=1,7	A=5,1	A=15	A=46	A=139	A=417	A=1250
--	-----	--------	--------	-------	-------	------	------	-------	-------	--------

V=0	1,01	0,97	0,95	0,87	0,63	0,39	0,25	0,15	0,08	0,04
V=69	1,00	0,99	0,93	0,81	0,54	0,33	0,23	0,15	0,07	0,05
V=206	0,98	0,95	0,85	0,77	0,51	0,34	0,23	0,14	0,07	0,04
V=617	0,98	0,88	0,86	0,72	0,49	0,29	0,20	0,13	0,06	0,04
V=1852	0,97	0,91	0,83	0,69	0,46	0,22	0,16	0,11	0,05	0,03
V=5556	0,94	0,91	0,83	0,63	0,34	0,16	0,13	0,07	0,04	0,03
V=16667	0,83	0,72	0,62	0,39	0,17	0,08	0,06	0,04	0,03	0,02
V=50000	0,13	0,12	0,09	0,05	0,02	0,01	0,02	0,02	0,01	0,01

В таблице 17 показано, что показатель взаимодействия ( $\tau$ ) оценивается с 95% доверительными интервалами (CI) для "отдельной А" модели. Следует заметить, что 2PL-модель с нижней границей, установленной на нуле, была подобрана для данных о монотерапии для соединения В. При условии, что степень синергии варьируется в зависимости от доз соединения А, обнаруживается значительная степень синергии для значений концентрации от 0,19 до 139 нМ.

Таблица 17. Оценочные значения показателей взаимодействия при 95% CI для "отдельной А" модели. Показатель взаимодействия при значении EC50 аппроксимировали посредством линейной интерполяции оценок  $\tau_{A50}$ .

	Доза (нМ)	Оценка	95% CI
$\tau_1$	0,19	0,911	(0,852, 0,974)
$\tau_2$	0,57	0,812	(0,761, 0,867)
$\tau_3$	1,7	0,61	(0,572, 0,651)
$\tau_4$	5,1	0,407	(0,377, 0,44)
$\tau_5$	15	0,338	(0,303, 0,376)
$\tau_6$	46	0,486	(0,419, 0,563)
$\tau_7$	139	0,648	(0,511, 0,822)
$\tau_8$	417	0,652	(0,378, 1,126)
$\tau_9$	1250	0,934	(0,347, 2,52)
$\tau_{EC50}$	9,04	0,379	(н. д., н. д.)

**Комбинация: соединение А и А-60444 в качестве соединения В**

Таблица 18. Нормализованные данные для соединения А в комбинации с А-60444 в качестве соединения В (среднее из 12 повторностей).

	A=0	A=0,19	A=0,57	A=1,7	A=5,1	A=15	A=46	A=139	A=417	A=1250
--	-----	--------	--------	-------	-------	------	------	-------	-------	--------

V=0	0,97	0,96	0,95	0,83	0,55	0,38	0,28	0,14	0,07	0,04
V=34	1,00	0,97	0,92	0,82	0,59	0,36	0,23	0,15	0,09	0,04
V=103	1,00	0,96	0,87	0,82	0,58	0,34	0,23	0,14	0,07	0,04
V=309	0,96	0,93	0,88	0,75	0,52	0,30	0,22	0,16	0,07	0,04
V=926	0,93	0,92	0,86	0,73	0,55	0,30	0,22	0,16	0,08	0,03
V=2778	0,93	0,92	0,83	0,71	0,52	0,27	0,17	0,12	0,07	0,03
V=8333	0,75	0,72	0,62	0,45	0,16	0,08	0,05	0,03	0,02	0,01
V=25000	0,39	0,31	0,24	0,12	0,04	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00

В таблице 19 показано, что показатель взаимодействия ( $\tau$ ) оценивается с 95% доверительными интервалами (CI) для "отдельной А" модели. Следует заметить, что 2PL-модель с нижней границей, установленной на нуле, была подобрана для данных о монотерапии для соединения В. При условии, что степень синергии варьируется в зависимости от доз соединения А, обнаруживается значительная степень синергии для значений концентрации от 0,57 до 139 нМ.

Таблица 19. Оценочные значения показателей взаимодействия при 95% CI для "отдельной А" модели. Показатель взаимодействия при значении EC50 аппроксимировали посредством линейной интерполяции оценок  $\tau_{50}$ .

	Доза (нМ)	Оценка	95% CI
$\tau_1$	0,19	1,072	(0,976, 1,177)
$\tau_2$	0,57	0,844	(0,769, 0,926)
$\tau_3$	1,7	0,635	(0,579, 0,696)
$\tau_4$	5,1	0,407	(0,368, 0,45)
$\tau_5$	15	0,308	(0,27, 0,351)
$\tau_6$	46	0,409	(0,346, 0,484)
$\tau_7$	139	0,631	(0,502, 0,792)
$\tau_8$	417	0,858	(0,585, 1,257)
$\tau_9$	1250	1,403	(0,768, 2,562)
$\tau_{EC50}$	7,89	0,379	(н. д., н. д.)

**ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Комбинация, предназначенная для лечения или ослабления инфекции, вызванной респираторно-синцитиальным вирусом (RSV), содержащая

3-({5-хлор-1-[3-(метилсульфонил)пропил]-1*H*-индол-2-ил}метил)-1-(2,2,2-трифторэтил)-1,3-дигидро-2*H*-имидазо[4,5-с]пиридин-2-он или его фармацевтически приемлемую соль в качестве соединения А и

паливизумаб или его фармацевтически приемлемую соль в качестве соединения В,

где количество соединения А и количество соединения В являются таковыми, что в отношении RSV обеспечивается синергический противовирусный эффект.

2. Комбинация по п.1, где количество соединения А составляет от 10 мг до 2500 мг, и количество соединения В составляет от 10 мг до 2500 мг.

3. Фармацевтическая композиция, обладающая активностью против RSV, содержащая терапевтически эффективное количество комбинации по п. 1 или 2 и фармацевтически приемлемый носитель.

По доверенности

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/EP2017/052201

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER					
INV.	A61K31/437	A61K31/7056	A61P31/12	A61K39/395	A61K31/41
	A61K31/4184	A61K31/52	A61K31/53	A61K31/5377	A61K31/55
	A61K31/5513	A61K31/70	A61K31/519		

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K

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) EPO-Internal, WPI Data
--

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2012/080447 A1 (JANSSEN R & D IRELAND [IE]; COOYMANS LUDWIG PAUL [BE]; DEMIN SAMUEL DO) 21 June 2012 (2012-06-21) cited in the application	1,2,8, 11,13-18
A	page 55; compound P55 page 17, line 21 - line 28 page 4 - page 5 page 42  ----- -/--	3,4,9

Further documents are listed in the continuation of Box C.  See patent family annex.

\* Special categories of cited documents :

<p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>"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)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"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</p> <p>"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</p> <p>"&amp;" document member of the same patent family</p>
---	---

Date of the actual completion of the international search 23 June 2017	Date of mailing of the international search report 05/07/2017
---	--

Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Uryga-Polowy, V
--	---------------------------------------

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2017/052201

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>WYDE P R ET AL: "Comparison of the inhibition of human metapneumovirus and respiratory syncytial virus by ribavirin and immune serum globulin in vitro", ANTIVIRAL RESEARCH, ELSEVIER BV, NL, vol. 60, no. 1, 1 September 2003 (2003-09-01), pages 51-59, XP002291798, ISSN: 0166-3542, DOI: 10.1016/S0166-3542(03)00153-0 abstract figure 1 table 1</p>	1-3,11, 13-18
A	<p>WHIMBEY E ET AL: "COMBINATION THERAPY WITH AEROSOLIZED RIBAVIRIN AND INTRAVENOUS IMMUNOGLOBULIN FOR RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS DISEASE IN ADULT BONE MARROW TRANSPLANT RECIPIENTS", BONE MARROW TRANSPLANTATION, STOCKTON PRESS, GB, vol. 16, no. 3, 1 September 1995 (1995-09-01), pages 393-399, XP009035052, the whole document</p>	1-3,11, 13-18
A	<p>MICHEL PERRON ET AL: "GS-5806 Inhibits a Broad Range of Respiratory Syncytial Virus Clinical Isolates by Blocking the Virus-Cell Fusion Process", ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, vol. 60, no. 3, 14 December 2015 (2015-12-14), pages 1264-1273, XP055384299, ISSN: 0066-4804, DOI: 10.1128/AAC.01497-15 figure 1 table 1 page 1267, column 2</p>	1,2,4, 11,13-18
A	<p>JOHN P. DEVINCENZO ET AL: "Oral GS-5806 Activity in a Respiratory Syncytial Virus Challenge Study", NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE, THE - NEJM -, vol. 371, no. 8, 21 August 2014 (2014-08-21), pages 711-722, XP055384254, ISSN: 0028-4793, DOI: 10.1056/NEJMoa1401184 abstract tables 1, 2 figure 1 page 721</p>	1,2,4, 11,13-18
	----- -/--	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/EP2017/052201

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	MEJIAS ASUNCION ET AL: "New options in the treatment of respiratory syncytial virus disease", JOURNAL OF INFECTION, vol. 71, 25 April 2015 (2015-04-25), XP029231667, ISSN: 0163-4453, DOI: 10.1016/J.JINF.2015.04.025 page 582, column 2 table 1	1,2,8, 11,13-18
Y	----- S. GHOSH: "IDWeek 2015. San Diego, California, USA - October 7-11, 2015", DRUGS OF THE FUTURE, vol. 40, no. 11, 1 January 2015 (2015-01-01), page 765, XP055384274, ES ISSN: 0377-8282, DOI: 10.1358/dof.2015.040.11.2409822 page 765, column 2, paragraph 3 - page 766, column 1, paragraph 1	1,2,8, 11,13-18
A	----- LEONARD R KRILOV: "Palivizumab in the prevention of respiratory syncytial virus disease", EXPERT OPINION ON BIOLOGICAL THERAPY, vol. 2, no. 7, 1 October 2002 (2002-10-01) , pages 763-769, XP055384374, ASHLEY, LONDON; GB ISSN: 1471-2598, DOI: 10.1517/14712598.2.7.763 abstract table 1 page 765 - page 766	1,2,8, 11,13-18
A	----- JIA HU ET AL: "Treatment of respiratory syncytial virus with palivizumab: a systematic review", WORLD JOURNAL OF PEDIATRICS, vol. 6, no. 4, 1 November 2010 (2010-11-01), pages 296-300, XP055384380, CN ISSN: 1708-8569, DOI: 10.1007/s12519-010-0230-z abstract table 1	1,2,8, 11,13-18
A,P	----- WO 2016/055791 A1 (PULMOCIDE LTD [GB]) 14 April 2016 (2016-04-14) claims 1-3, 9, 13 page 34 - page 38 page 7, line 9 - line 20 -----	1,2,9, 11,13-18
	----- -/--	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/EP2017/052201

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2014/174018 A1 (CRUCELL HOLLAND BV [NL]) 30 October 2014 (2014-10-30) page 7 page 33 - page 34 -----	1,2,8, 11,13-18

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/EP2017/052201

## Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
  
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
  
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
  
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:  
  
3, 4, 8, 9(completely); 1, 2, 11, 13-18(partially)
  
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

### Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

**FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210**

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 3(completely); 1, 2, 11, 13-18(partially)

A combination comprising 3-({5-chloro-1-[3-(methylsulfonyl)propyl]-1 H-indol-2-yl}methyl)-1-(2,2,2-trifluoroethyl)-1,3-dihydro-2H-imidazo [4,5-c]pyridin-2-one, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, as compound A, and ribavirin, or a pharmaceutically acceptable salt thereof as compound B, for use in treating or ameliorating RSV infection

---

2. claims: 4(completely); 1, 2, 11, 13-18(partially)

A combination comprising 3-({5-chloro-1-[3-(methylsulfonyl)propyl]-1 H-indol-2-yl}methyl)-1-(2,2,2-trifluoroethyl)-1,3-dihydro-2H-imidazo [4,5-c]pyridin-2-one, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, as compound A, and GS-5806, or a pharmaceutically acceptable salt thereof as compound B, for use in treating or ameliorating RSV infection

---

3. claims: 5(completely); 1, 2, 11, 13-18(partially)

A combination comprising 3-({5-chloro-1-[3-(methylsulfonyl)propyl]-1 H-indol-2-yl}methyl)-1-(2,2,2-trifluoroethyl)-1,3-dihydro-2H-imidazo [4,5-c]pyridin-2-one, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, as compound A, and MDT-637, or a pharmaceutically acceptable salt thereof as compound B, for use in treating or ameliorating RSV infection

---

4. claims: 1, 11, 13-18(all partially)

A combination comprising 3-({5-chloro-1-[3-(methylsulfonyl)propyl]-1 H-indol-2-yl}methyl)-1-(2,2,2-trifluoroethyl)-1,3-dihydro-2H-imidazo [4,5-c]pyridin-2-one, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, as compound A, and BTA-9881, or a pharmaceutically acceptable salt thereof as compound B, for use in treating or ameliorating RSV infection

---

5. claims: 1, 11, 13-18(all partially)

A combination comprising 3-({5-chloro-1-[3-(methylsulfonyl)propyl]-1 H-indol-2-yl}methyl)-1-(2,2,2-trifluoroethyl)-1,3-dihydro-2H-imidazo [4,5-c]pyridin-2-one, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, as compound A, and BMS-433771, or a pharmaceutically acceptable salt thereof as compound B, for

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

use in treating or ameliorating RSV infection

---

6. claims: 6(completely); 1, 11, 13-18(partially)

A combination comprising 3-({5-chloro-1-[3-(methylsulfonyl)propyl]-1 H-indol-2-yl}methyl)-1-(2,2,2-trifluoroethyl)-1,3-dihydro-2H-imidazo [4,5-c]pyridin-2-one, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, as compound A, and YM-543403, or a pharmaceutically acceptable salt thereof as compound B, for use in treating or ameliorating RSV infection

---

7. claims: 7(completely); 1, 2, 11, 13-18(partially)

A combination comprising 3-({5-chloro-1-[3-(methylsulfonyl)propyl]-1 H-indol-2-yl}methyl)-1-(2,2,2-trifluoroethyl)-1,3-dihydro-2H-imidazo [4,5-c]pyridin-2-one, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, as compound A, and A-60444, or a pharmaceutically acceptable salt thereof as compound B, for use in treating or ameliorating RSV infection

---

8. claims: 1, 11, 13-18(all partially)

A combination comprising 3-({5-chloro-1-[3-(methylsulfonyl)propyl]-1 H-indol-2-yl}methyl)-1-(2,2,2-trifluoroethyl)-1,3-dihydro-2H-imidazo [4,5-c]pyridin-2-one, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, as compound A, and TMC-353121, or a pharmaceutically acceptable salt thereof as compound B, for use in treating or ameliorating RSV infection

---

9. claims: 1, 11, 13-18(all partially)

A combination comprising 3-({5-chloro-1-[3-(methylsulfonyl)propyl]-1 H-indol-2-yl}methyl)-1-(2,2,2-trifluoroethyl)-1,3-dihydro-2H-imidazo [4,5-c]pyridin-2-one, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, as compound A, and RFI-641 or CL-387626 , or a pharmaceutically acceptable salt thereof as compound B, for use in treating or ameliorating RSV infection

---

10. claims: 1, 11, 13-18(all partially)

A combination comprising 3-({5-chloro-1-[3-(methylsulfonyl)propyl]-1 H-indol-2-yl}methyl)-1-(2,2,2-trifluoroethyl)-1,3-dihydro-2H-imidazo [4,5-c]pyridin-2-one, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, as compound A, and MBX-300, or a

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

pharmaceutically acceptable salt thereof as compound B, for use in treating or ameliorating RSV infection

---

11. claims: 1, 2, 11, 13-18(all partially)

A combination comprising 3-({5-chloro-1-[3-(methylsulfonyl)propyl]-1H-indol-2-yl}methyl)-1-(2,2,2-trifluoroethyl)-1,3-dihydro-2H-imidazo [4,5-c]pyridin-2-one, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, as compound A, and AZ-27, or a pharmaceutically acceptable salt thereof as compound B, for use in treating or ameliorating RSV infection

---

12. claims: 8(completely); 1, 2, 11, 13-18(partially)

A combination comprising 3-({5-chloro-1-[3-(methylsulfonyl)propyl]-1H-indol-2-yl}methyl)-1-(2,2,2-trifluoroethyl)-1,3-dihydro-2H-imidazo [4,5-c]pyridin-2-one, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, as compound A, and MEDI8897, CR9501, palivizumab, or a pharmaceutically acceptable salt thereof as compound B, for use in treating or ameliorating RSV infection

---

13. claims: 1, 11, 13-18(all partially)

A combination comprising 3-({5-chloro-1-[3-(methylsulfonyl)propyl]-1H-indol-2-yl}methyl)-1-(2,2,2-trifluoroethyl)-1,3-dihydro-2H-imidazo [4,5-c]pyridin-2-one, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, as compound A, and 3-({5-chloro-1-[3-(methylsulfonyl)-propyl]-1H-benzimidazol-2-yl}methyl)-1-cyclopropyl-1,3-dihydro-2H-imidazo [4,5-c]pyridin-2-one, or 3-[[7-chloro-3-(2-ethylsulfonyl-ethyl)imidazo[1,2-a]pyridin-2-yl]methyl]-1-cyclopropyl-imidazo[4,5-c]pyridin-2-one, or a pharmaceutically acceptable salt thereof as compound B, for use in treating or ameliorating RSV infection

---

14. claims: 9(completely); 1, 2, 11, 13-18(partially)

A combination comprising 3-({5-chloro-1-[3-(methylsulfonyl)propyl]-1H-indol-2-yl}methyl)-1-(2,2,2-trifluoroethyl)-1,3-dihydro-2H-imidazo [4,5-c]pyridin-2-one, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, as compound A, and N-(2-fluoro-6-methylphenyl)-6-(4-(5-methyl-2-(7-oxa-2-azaspiro[3.5]nonan-2-yl)nicotinamido)benzoyl)-5,6-dihydro-4H-benzothieno[2,3-d]azepine-2-carboxamide, or a pharmaceutically acceptable salt thereof as compound B, for use in treating or ameliorating RSV infection

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

---

15. claims: 10, 12(completely); 1, 2, 11, 13-18(partially)

A combination comprising 3-({5-chloro-1-[3-(methylsulfonyl)propyl]-1H-indol-2-yl}methyl)-1-(2,2,2-trifluoroethyl)-1,3-dihydro-2H-imidazo [4,5-c]pyridin-2-one, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, as compound A, and 4-amino-8-[3-[[2-(3,4-dimethoxyphenyl)ethyl]amino]propyl]-6,6-dimethyl-2-(4-methyl-3-nitrophenyl)-3H-imidazo [4,5-h]isoquinoline-7,9(6H,8H)-dione, or a pharmaceutically acceptable salt thereof as compound B, for use in treating or ameliorating RSV infection

---

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2017/052201

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2012080447	A1	21-06-2012	AR 084335 A1 08-05-2013
			AU 2011343256 A1 02-05-2013
			BR 112013011949 A2 23-08-2016
			CA 2822000 A1 21-06-2012
			CL 2013001715 A1 20-12-2013
			CN 103347875 A 09-10-2013
			DK 2651922 T3 30-05-2016
			EA 201390883 A1 30-10-2013
			EP 2651922 A1 23-10-2013
			ES 2572258 T3 31-05-2016
			HR P20160533 T1 01-07-2016
			HU E028009 T2 28-11-2016
			IL 225641 A 29-09-2016
			JP 5945278 B2 05-07-2016
			JP 2014503525 A 13-02-2014
			JP 2016145236 A 12-08-2016
			KR 20140037800 A 27-03-2014
			MX 339944 B 17-06-2016
			NZ 609487 A 31-10-2014
			PL 2651922 T3 31-10-2016
			SG 189866 A1 31-07-2013
			SI 2651922 T1 31-08-2016
			SM T201600142 B 01-07-2016
			TW 201307325 A 16-02-2013
			UA 109792 C2 12-10-2015
			US 2013267555 A1 10-10-2013
			US 2015073013 A1 12-03-2015
			US 2016237083 A1 18-08-2016
			WO 2012080447 A1 21-06-2012
			ZA 201304423 B 23-12-2014
-----			
WO 2016055791	A1	14-04-2016	AU 2015329789 A1 09-03-2017
			KR 20170058921 A 29-05-2017
			SG 11201701184W A 30-03-2017
			WO 2016055791 A1 14-04-2016
			WO 2016055792 A1 14-04-2016
-----			
WO 2014174018	A1	30-10-2014	AR 096113 A1 09-12-2015
			AU 2014259474 A1 05-11-2015
			CA 2910067 A1 30-10-2014
			CL 2015003124 A1 13-05-2016
			CN 105188745 A 23-12-2015
			EA 201592048 A1 29-04-2016
			EP 2988780 A1 02-03-2016
			HK 1220124 A1 28-04-2017
			JP 2016520039 A 11-07-2016
			KR 20160002938 A 08-01-2016
			PE 18672015 A1 07-01-2016
			PH 12015502377 A1 22-02-2016
			SG 11201508567X A 27-11-2015
			TW 201520221 A 01-06-2015
			US 2016102123 A1 14-04-2016
			WO 2014174018 A1 30-10-2014
-----			