

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

(19) Всемирная Организация
Интеллектуальной Собственности
Международное бюро

(43) Дата международной публикации
13 июня 2019 (13.06.2019)

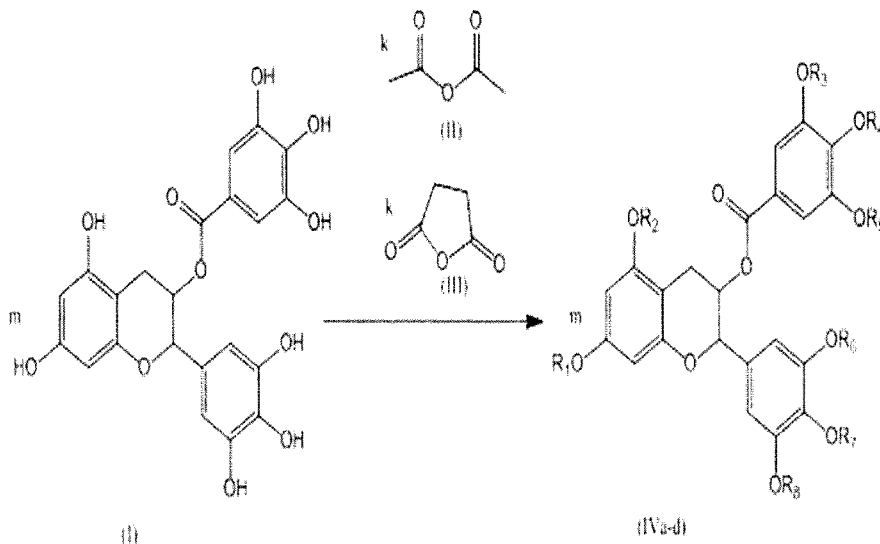


(10) Номер международной публикации
WO 2019/112464 A1

- (51) Международная патентная классификация :
A 61K 31/522 (2006.01) A 61K 47/12 (2006.01)
A 61K 31/353 (2006.01) A 61P 31/22 (2006.01)
A 61K 31/47 (2006.01) C40B 40/04 (2006.01)
A 61K 31/352 (2006.01)
- (21) Номер международной заявки : PCT/RU20 17/000920
- (22) Дата международной подачи :
08 декабря 2017 (08. 12.2017)
- (25) Язык подачи : Русский
- (26) Язык публикации : Русский
- (72) Изобретатели ; и
- (71) Заявители : ФАРБЕР , Борис Славинович (FARBER, Boris Slavinovich) [RU/RU]; проспект Кутузовский , 24, кв. 130А Москва , 121 15 1, Moscow (RU). ФАРБЕР , Софья Борисовна (FARBER, Sofya Borisovna) [RU/RU] ; проспект Кутузовский , 24, кв. 130А Москва , 121 15 1, Moscow (RU).
- (72) Изобретатель : МАРТЫНОВ , Артур Викторович (MARTYNOV, Artur Viktorovich); ул. Корчагинцев , 1, кв. 18 г. Харьков , 6 1171, g. Kharkov (UA).
- (74) Агент : ВАСИЛЬЕВА , Галина Семеновна и др. (VASYLEVA, Galina Semenovna et al.); а/я 121 Санкт - Петербург , 193 168, St.Petersburg (RU).
- (81) Указанные государства (если не указано иначе, для каждого вида национальной охраны) : АЕ, АG, АL, АМ, АО, АТ, АU, АZ, ВА, ВВ, ВG, ВН, ВN, ВR, ВW, ВY, ВZ, СА, СH, СL, СN, СO, СR, СU, СZ, DЕ, DJ, DK, DM, DО, DZ, EС, EЕ, EG, ES, FІ, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HН, HR, HU, Ш, ІL, ІN, ІR, ІS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP,

(54) Title: PHARMACEUTICAL FORMULATION FOR THE ELIMINATION OF CAUSATIVE AGENTS OF HERPESVIRAL INFECTIONS FROM THE TISSUES OF A MACROORGANISM

(54) Название изобретения : ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ ЭЛИМИНАЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ГЕРПЕСВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ ИЗ ТКАНЕЙ МАКРООРГАНИЗМА



$R_1-R_8 = \text{tat It, (b)-COCH}_2(\text{ct. COX1}_2\text{-CH}_2\text{COOH, Ia's}$
Combinatorial sum a+b+c

Фиг. 1

(57) **Abstract:** A pharmaceutical formulation is proposed which is designed to eliminate causative agents of herpesviral infections from the tissues of a macroorganism and which includes histone deacetylase inhibitors, derivatives of acyclovir and epigallocatechin gallate, and glycyrrhizin, said formulation being characterised in that it additionally comprises a supramolecular structure consisting of an unseparated mixture of combinatorial derivatives of epigallocatechin gallate and glycyrrhizin, obtained by means of the simultaneous modification of epigallocatechin gallate by at least two covalent modifying agents. The formulation can also include substances such as cholecalciferol, activators of toll-like receptors, acridone acetic acid, tilorone, zymosan, imidazoquinoline and imiquimod. The

[продолжение на следующей странице]



WO 2019/112464 A1

KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

- (84) Указанные государства (если не указано иначе, для каждого вида региональной охраны): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), евразийский (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), европейский патент (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Опубликована :

— с отчётом о международном поиске (статья 21.3)

following may be used as modifiers of the structures of epigallocatechin gallate and glycyrrhizin: succinic anhydride, acetic anhydride, propionic anhydride, butanoic anhydride, acetic propionic anhydride, acetic butanoic anhydride, glutaric anhydride, phthalic anhydride, cis-aconitic anhydride, trans-aconitic anhydride, citric anhydride, isocitric anhydride, acetyl chloride, acetyl fluoride, propionyl chloride, butyryl chloride, ethoxyoxalyl monochloride, monochloroacetic acid.

(57) Реферат : Предлагается фармацевтическая композиция , предназначенная для элиминации возбудителей герпесвирусных инфекций из тканей макроорганизма , включающая ингибиторы гистондеацетилазы , производные ацикловира , эпигалокатехина галлат и глицирризин , отличающаяся тем , что дополнительно содержит супрамолекулярную структуру из неразделенной смеси комбинаторных производных эпигалокатехина галлата и глицирризина , полученную путем одновременной модификации эпигалокатехина галлата как минимум двумя ковалентными модифицирующими агентами . Также в состав композиции могут входить такие вещества , как хорлекальциферол , активаторы α_1 -рецепторов акридонуксусная кислота , тилорон , зимозан , имидазохинолин , имиквимод . В качестве модификаторов структур эпигалокатехина галлата и глицирризина могут быть использованы : янтарный ангидрид , уксусный ангидрид , пропионовый ангидрид , бутановый ангидрид , уксусно - пропионовый ангидрид , уксусно - бутановый ангидрид , глутаровый ангидрид , фталевый ангидрид , цис - аконитовый ангидрид , транс - аконитовый ангидрид , лимонный ангидрид , изолимонный ангидрид , ацетилхлорид , ацетилфторид , пропионилхлорид , бутироилхлорид , этоксиоксалилмонохлорид , монохлороуксусная кислота .

Фармацевтическая композиция для элиминации возбудителей герпесвирусных инфекций из тканей макроорганизма

Область техники

5 Изобретение относится к фармации, органической и биорганической комбинаторной химии, а именно, к двум новым комбинаторным библиотекам производных эпигалокатехина и глицирризина в виде супрамолекулярных структур, которые при
10 использовании без разделения на отдельные компоненты в составе фармацевтической композиции обладают мощными противовирусными свойствами и способны приводить к элиминации возбудителей вирусных инфекций, вызванных представителями рода *Herpesviridae*.

Предшествующий уровень техники

Герпесвирусы Герпесвирусная инфекция может существовать у человека в различных
15 формах: пожизненная латентная персистенция, рецидивирующее течение, формирование иммунодефицитов, соматической иммунозависимой патологии, хронического воспаления, опухолевых процессов — и даже встраиваться в генный аппарат. Особенностью течения герпесвирусных инфекций является возможность вовлечения в инфекционный процесс многих органов и систем, чем и обусловлено
20 многообразие вызываемых герпесвирусами заболеваний, варьирующих от простых кожно-слизистых до угрожающих жизни генерализованных инфекций. Важное свойство герпесвирусов — способность после первичного инфицирования человека в детском возрасте пожизненно персистировать и реактивироваться под влиянием различных экзо- и эндогенных провоцирующих факторов. Герпесвирусная инфекция лучше всего
25 характеризуется одним образным выражением: «Однажды инфицирован — инфицирован на всю жизнь». Появляющиеся в ответ на внедрение вирусов герпеса специфические антитела зачастую не обеспечивают санацию от вирусов и часто не предупреждают рецидива заболевания. В связи с этим перед практикующими врачами — акушерами, педиатрами, терапевтами в первую очередь стоят задачи своевременной
30 диагностики инфекции и определения активности ее течения. Правильная оценка и интерпретация полученных результатов клинического, специфического лабораторного и инструментального исследования позволяют разработать адекватные и наиболее безопасные лечебные и реабилитационные мероприятия для инфицированных и больных — беременной женщины, плода, ребенка, взрослого пациента. При герпесе, как

и при других хронических заболеваниях с вирусной персистенцией, нередко развивается неполноценность иммунных реакций, обусловленная недостаточностью различных звеньев иммунной системы и ее неспособностью элиминировать вирус. Сохраняющиеся в течение всей жизни, иногда в довольно высоких титрах, низкоафинные вируснейтрализующие антитела хотя и препятствуют распространению вирусов, но не предупреждают возникновения рецидивов. Длительное нахождение герпесвирусов у человека становится возможным благодаря сложной стратегии противоборства и «ускользания» от иммунной системы хозяина. В достижении этого состояния можно выделить три пути стратегии возбудителя:

10 — «тайное присутствие», позволяющее длительно находиться не распознанным иммунной системой, локализуясь в латентном состоянии в нейронах (вирус простого герпеса — ВПГ), лимфоидных (вирус Эпштейна — Барр — ВЭБ) и гемопоэтических клетках (цитомегаловирус — ЦМВ); — «эксплуатация» — использование иммунных реакций в собственных интересах; — «саботаж» — повреждение механизмов иммунной

15 защиты. Именно стратегия «саботажа», как считают, лежит в основе индуцированной вирусом иммуносупрессии, препятствующей полному удалению патогена и, как следствие, поддерживающей хроническое течение инфекции. В настоящее время герпесвирусы четко классифицированы и объединены в обширное семейство *Herpesviridae*. Семейство *Herpesviridae* включает в себя более 100 представителей, 8 из

20 которых для человека наиболее патогенны (*human herpes virus* — HHV). Внешне сходство герпесвирусов настолько велико, что под электронным микроскопом их практически невозможно различить. Индивидуальность «родственников» начинает проявляться только тогда, когда дело доходит до антигенных свойств вирионных белков и степени гомологии ДНК. Герпесвирусы — филогенетически древнее семейство

25 крупных ДНК-вирусов и, в зависимости от типа клеток, в которых протекает инфекционный процесс, характера репродукции вируса, структуры генома, молекулярно-биологических и иммунологических особенностей, подразделяются на 3 подсемейства: α , β и γ . Подсемейство *Alpha-herpesvirinae* (α -герпесвирусы) включает ВПГ -1, -2 и -3 (*Varicella Zoster virus*), которые характеризуются быстрой репликацией

30 вируса и цитопатическим действием на культуры инфицированных клеток. Репродукция α -герпесвирусов протекает в различных типах клеток, особенно в эпителиальных, оказывая цитолитическое действие. В нейронах они вызывают латентную персистирующую инфекцию. Подсемейство *Beta-herpesvirinae* (β -герпесвирусы) видоспецифично, поражает различные виды клеток, которые при этом увеличиваются в

размерах (цитомегалия), могут вызывать иммуносупрессивные состояния. Инфекция может принимать генерализованную или латентную форму, в культуре клеток легко возникает персистенция инфекции. Вирусы этой группы характеризуются медленным ростом в эпителиальных клетках, оказывая «цитомегалическое» и лимфопролиферативное действие. Вирусы могут поддерживаться в латентном состоянии в клетках эпителия слюнных желез, миндалин, почек, лимфоцитах, секреторных железах, почках и других тканях. К этой группе относятся ЦМВ, ВПГ -6, ВПГ -7.

Подсемейство *Gamma-herpesvirinae* (γ -герпесвирусы) характеризуется тропностью к лимфоидным клеткам (Т- и В-лимфоциты), в которых они длительно персистируют с возможностью трансформироваться, вызывая лимфомы, саркомы. Инфекционный процесс часто останавливается на прелитической стадии, т.е. отсутствует образование вирусных частиц. Латентное потомство обнаруживается в лимфоидной ткани. В эту группу входят вирус Эпштейна — Барр и герпесвирус человека 8-го типа, ассоциированный с саркомой Капоши (KSHV). Заболевания, вызываемые ВПГ 1-го и 2-го типа, принято называть герпетической или ВПГ инфекцией, прочие представители семейства *Herpesviridae* — герпесвирусными. Представители *Herpesviridae*, несмотря на многие общие свойства, характерные для всего семейства, имеют и значимые различия. Сравнивая характеристики герпесвирусов, наиболее часто вызывающих заболевания у человека, обнаруживают большее число однотипных признаков, нежели различий. Так, имеют место одинаковая абсолютная патогенность, одинаковые пути заражения, восприимчивость, склонность к рецидивирующему течению с активацией на фоне интеркуррентных, в т.ч. инфекционных заболеваний, пожизненная персистенция в организме человека и невозможность их полной элиминации, способность «ускользать» от факторов иммунной защиты, в то же время способность подавления защитных функций человека. Вместе с тем имеются и различия: в первую очередь тропизм поражения и клинические характеристики. Согласно современным воззрениям инфектологии, человек, ввиду своей относительной эволюционной молодости, еще не успел образовать ни с одним из герпесвирусов равновесной системы, что делает их в разной степени патогенными. Однажды заразившись, человек фактически никогда с ними не расстается и всю жизнь как бы носит в себе «неразорвавшуюся бомбу». Разрыв «бомбы» (реактивация «спящего» паразита) может произойти при неблагоприятных ситуациях (стресс, вторичная инфекция, переохлаждение, травма, обострение хронического заболевания и т.д.) даже спустя многие годы, что и наблюдается при латентном течении герпетической и цитомегаловирусной инфекций, хламидиозе,

токсоплазмозе , ВИЧ -инфекции и т.д. Сегодня во многом определена значимость герпесвирусных инфекций в формировании соматических , казалось бы, неинфекционных заболеваний . Нередко при клинически выявленном медленном течении инфекционного процесса ,резвившемся вследствие герпесвирусной инфекции во
5 внутриутробном периоде , манифестация его проявлений наблюдается не в периоде новорожденности , а в более старшем возрасте . Выявлено , что у большинства детей , умерших в возрасте до 14 лет от различных причин , фоновым заболеванием были именно внутриутробная инфекция и связанное с ней иммунодефицитное состояние . И это диагностировалось только тогда , когда наступил летальный исход . Следовательно ,
10 выявление и изучение латентно текущей инфекции , уходящей корнями во внутриутробный период , — актуальная задача не только педиатрии , но и всего здравоохранения . Данный раздел остается самым трудным и практически неизученным . В настоящее время имеется множество свидетельств того , что персистирующие герпесвирусные инфекции являются этиологическим и патогенетическим факторами в
15 развитии хронических соматических заболеваний — кардитов , аритмий сердца , бронхиальной астмы , аутоиммунных процессов , хронических и рецидивирующих обструктивных заболеваний легких , язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки , рефрактерных форм хронического гломерулонефрита , сахарного диабета , синдрома хронической усталости , атеросклероза с поражением органов
20 кровообращения , шизофрении и даже преждевременного старения . Многие из этих заболеваний даже в крупных руководствах по-прежнему описываются как идиопатические , неизвестной этиологии . Появляется все больше данных о роли герпесвирусов в формировании онкологических заболеваний . Еще в 1910 году великий провидец И.И. Мечников печатает в газете «Русское слово » статью , в которой пишет
25 буквально следующее : «Одна причина рака , безусловно , находится в самом организме , но другая попадает в него в виде экзогенного начала , скорее всего — вируса ...» В 1911 г. американский ученый Пейтон Раус (1879-1970) обнаружил , что куриная саркома (саркома Рауса) может переливаться не только клетками , но и субмикроскопическими агентами , экстрагируемыми из клеток , т.е. вызываться вирусами . В 1933 г. Шоуп открыл
30 вирус папилломы , поражающий кроликов в Северной Америке , в 1936 г. Дж. Биттнер доказал вирусное происхождение рака молочной железы у мышей , в 1951 г. Л. Гроссом открыл вирус лейкоза мышей , в 1964 г. В. Ярретом — вирус лейкоза домашних кошек , а затем и вирус лейкоза обезьян . В 1946 г. советский вирусолог Л.А. Зильбер предложил вирусогенетическую теорию рака . Согласно этой теории , при онкогенезе ДНК вирусного

происхождения внедряется (интегрируется) как фрагмент в ДНК клетки и становится составной частью клеточного генома. Эта интеграция — начальное звено в цепи процессов дальнейшего превращения нормальной клетки в раковую. «Каким бы путем опухолеродный вирус ни проник в организм человека, долгое время он ничем не проявляет своего присутствия. В этом нет ничего удивительного. Он мало болезнетворен. Ему нужны особые условия, чтобы проявить болезнетворность, и пока этих условий нет, вирус вполне безобиден» (Л.А. Зильбер). Л.А. Зильбер писал: «...можно считать доказанным, что механизм действия ДНК или РНК вирусов на клетку заключается в основном в интеграции их нуклеиновой кислоты с геномом клетки, благодаря чему в клетке возникают наследственные изменения, выводящие клетку из соподчинения системам, регулирующим клеточный рост». В настоящее время установлено, что к вирусам, причастным к раковым заболеваниям человека, относятся ДНК-содержащие вирусы, в частности вирусы Эпштейна — Барр и другие герпесвирусы. Вирус Эпштейна — Барр присутствует в клетках 10-20 % от всех раковых опухолей желудка. Маркеры вирусов простого герпеса 1-го и 2-го типов, цитомегаловируса, вируса Эпштейна — Барр и вируса герпеса человека 6-го типа обнаружены в крови и костном мозге большинства больных острыми лейкозами в период индукционной полихимиотерапии. В ходе масштабного исследования возбудителей инфекционных заболеваний, отнесенных Международным агентством по изучению рака (International Agency for Research on Cancer, Лион, Франция) к разряду канцерогенных для человека, выявлено, что из 12,7 млн впервые выявленных случаев злокачественных опухолей, имевших место в 2008 г., доля инфекционно-обусловленных случаев составила 16,1 %, т.е. около 2 млн. У женщин рак шейки матки составил около половины случаев инфекционно-обусловленных вспышек раковых заболеваний, у мужчин рак желудка и печени составил более 80 %. С герпесвирусами (ВЭБ) были связаны злокачественные новообразования носоглотки, неходжкинская лимфома, саркома Капоши. Многообразие патологических процессов и различных заболеваний, связанных с персистирующими внутриклеточными патогенами, в том числе и с герпесвирусами, явилось основанием того, что в 2003 году Европейское региональное бюро ВОЗ отнесло группу персистирующих внутриклеточных инфекций к числу болезней, определяющих будущее как инфекционной, так и соматической патологии человеческой популяции. Еще несколько десятков лет назад ведущими среди причин детской заболеваемости и смертности были острые инфекции. Грипп, кишечные, менингококковые инфекции, сепсис, пневмонии, инфекции мочевыводящих путей и связанные с ними заболевания

были основной патологией , определяющей продолжительность жизни как детского , так и взрослого населения . Прошло совсем немного времени , и человечество вооружилось мощнейшими противомикробными средствами , среди которых основными стали антибиотики и вакцины . И теперь диагнозы «холера » , «чума » , «сепсис » , «менингит » , «пневмония » уже не являются смертным приговором для больного . Сегодня в большинстве случаев возможно не только излечение , более того , можно предотвратить само заболевание , вызванное этими инфекциями . Человечество начало смотреть в будущее с надеждой на избавление от инфекционных заболеваний . Наша самоуверенность дошла до того , что в 60-70-х годах прошлого века , т.е. 40-50 лет тому назад , известные ученые публично заявляли о конце века инфекций : «...книгу инфекций можно закопать глубоко в землю , они теперь не страшны ...» Ведь практически побеждена страшная «испанка » начала XX века , унесшая больше жизней , чем Первая мировая война , уходят как страшный сон обездвиженность полиомиелита , малярийные ознобы , столбняк и многие страшные проявления инфекций . Но полыхнула «стафилококковая чума » , пришли «забытые » полиомиелит , дифтерия ; грянули ВИЧ и СПИД , лихорадка Эбола , птичий и свиной грипп и т.д. А сегодня это герпесвирусные инфекции , и их роль во влиянии на здоровье человека еще предстоит узнать . Ведь знаем мы об этих весьма распространенных инфекциях еще крайне мало , да и к науке об окружающем нас микро - и макромире лишь прикоснулись , причем только к ее самому близкому краю . Сегодня мы не имеем общепринятых подходов к диагностике заболеваний , связанных с герпесвирусными инфекциями , не разработаны достоверные критерии , показания и характер проведения рациональной и адекватной терапии , а также отсутствуют достаточно эффективные лекарственные средства , проникающие внутрь клетки и способные к нейтрализации данной группы патогенов . Надеясь в цикле статей по проблемам герпесвирусных инфекций в какой -то мере ответить на некоторые , наиболее часто задаваемые вопросы [Юлиш Е. И. //Здоровье ребенка . 2015. №. 3 (63).]

Роль ингибиторов гистондеацетилазы в «проявлении » латентных герпесвирусов , потенцирование эффектов ацикловира

30

Индукция литической фазы EBV-инфекции в сочетании с воздействием антигерпетического лекарственного средства представляет собой перспективный целевой терапевтический подход к терапии EBV-ассоциированных лимфом и других патологий , ассоциированных с латентными герпесвирусами . Короткоцепочечные

жирные кислоты и другие вещества были использованы для индуцирования экспрессии генов литической фазы EBV в культурах клеток и у животных, но эти исследования, как правило, не были переведены в клиническое применение. Недавний успех клинического испытания с использованием аргинина бутирата - ингибитора пан-HDAC (пан-HDAC) и ганцикловира для лечения EBV-лимфомы стимулировал проведение изучения потенциала нескольких ингибиторов HDAC для стимуляции экспрессии генов литической фазы EBV человека в клетках лимфомы. Представленные результаты исследования включали такие препараты: жирные кислоты с короткой цепью (бутират натрия и вальпроевая кислота); гидроксамовые кислоты (оксафлатин, Scriptaid, субероил анилид гидроксамовая кислота, panobinostat [LBH589] и belinostat [PXD101]); бензамид MS275; циклический тетрапептид апицидин; и недавно обнаруженный ингибитор HDAC-лейлазола. За исключением субероил-анилид-гидроксамовой кислоты и PXD101, все другие ингибиторы HDAC эффективно сенсibiliзировали клетки EBV-лимфомы к ганцикловиру. LBH589, MS275 и крупказол были эффективны при наномолярных концентрациях и от 104 до 110 раз более эффективны, чем бутират. Эффективность этих ингибиторов HDAC делают их потенциально применимыми в качестве сенсibiliзаторов к противовирусным препаратам для лечения EBV-ассоциированных лимфом [Blood. 2012;119(4):1008-1017]

В другой статье также показано, что комбинированное лечение инфицированных клеток ацикловиrom (ACV) и вальпроевой кислотой (VPA) выявило 50-250-кратное потенцирование противовирусной активности ACV. [Iran J Med Sci 2002; 27(4): 180-187.]

Эпигаллокатехин галлат как ингибитор гистондеацетилазы

Поскольку опосредованное p300 / CBP гиперацетилирования RelA (p65) имеет решающее значение для активации ядерного фактора KB (NF-KB), ослабление ацетилирования p65 является потенциальной молекулярной мишенью для предотвращения хронического воспаления, играющего важную роль в патологии атеросклероза и рака. Во время скринингового исследования для идентификации природных соединений с активностью ингибитора гистоновой ацетилтрансферазы (HDAC) был идентифицирован эпигаллокатехин-3-галлат (EGCG) в качестве нового HDACi, эффективный для ингибирования большинства HDAC, включая HDAC, SIRT1 и HMTase. В дозе 100 Ммоль / л EGCG аннулирует p300-индуцированное ацетилирование p65 in vitro и in vivo, повышает уровень цитозольного ИКБА и подавляет индуцированную NF-KB активацию фактора некроза опухоли (TNFA). Также было

показано , что EGCG ингибирует транслокацию p65 к ядру , индуцированную TNF α , подтверждая , что гиперацетилирование имеет решающее значение для трансдукции NF- κ B, а также его активности . Кроме того , обработка EGCG ингибировала ацетилирование p65 и экспрессию генов -мишеней NF- κ B в ответ на различные раздражители . Наконец ,
5 было показано , что EGCG уменьшает связывание pAC с промоторной областью гена интерлейкина -6, что подчеркивает важность баланса между HAT и гистондеацетилазами в опосредованной NF- κ B воспалительной сигнальной реакции . Важно отметить , что EGCG при 50 Ммоль / л полностью блокирует экспрессию цитокинов , индуцированных инфекцией EBV, а затем трансформацию В-лимфоцитов ,
10 индуцированную EBV. Эти результаты показывают решающую роль ацетилирования в развитии воспалительных заболеваний . [Cancer Res 2009;69(2):583-92]

Глицирризиновая кислота

Для глицирризиновой кислоты показана противовирусная активность в отношении
15 латентных вирусов , таких как вирус Эпштейна -Барр и Саркома Капоши - ассоциированного вируса . Это единственный противовирусный препарат , обладающий способностью полностью элиминировать вирусы герпеса из В-лимфоцитов даже в том случае , когда эти вирусы находятся в латентном состоянии . Также глицирризин проявил
антивирусную активность в отношении цитомегловируса , вирусов герпеса 1 и 2 типов ,
20 гриппа , коронавируса CAPC . [Lin J-C, Cheng J-M, Hung M-S, Baltina L a, Baltina L, Kondratenko R. Antiviral Res. 2008;79(1):6-11. doi:10.1016/j.antiviral.2008.01.160.]

Терминология

Ацилирование - введение ацильного остатка RCO- (ацила) в состав органического соединения , как правило , путём замещения атома водорода , введение остатка уксусной
25 кислоты CH₃CO - называют ацетилированием , бензойной C₆H₅CO- — бензоилированием , муравьиной HCO - — формилированием . В зависимости от атома , к которому присоединяется ацильный остаток , выделяют С-ацилирование , N-ацилирование , O-ацилирование . В качестве ацилирующих агентов используют галогенангидриды и ангидриды кислот .

30 Алкилирование - введение алкильного заместителя в молекулу органического соединения . Типичными алкилирующими агентами являются алкилгалогениды , алкены ,

эпоксисоединения , спирты , реже альдегиды , кетоны , эфиры , сульфиды , диазоалканы . Катализаторами алкилирования являются минеральные кислоты , кислоты Льюиса а также цеолиты .Алкилирование широко применяется в химической и нефтехимической промышленности .

5 Комбинаторный синтез - синтез методами комбинаторной химии , включает одновременную реакцию между тремя и более реагентами с образованием комбинаторного продукта синтеза , состоящего из десятков производных . Эти производные затем разделяют хроматографически , подтверждают их структуру и изучают биологическую активность .

10 Одновременная комбинаторная модификация двумя модификаторами - если в реакции комбинаторного синтеза используют полифункциональную молекулу , имеющую более двух доступных для модификации групп и в реакцию сразу вводят два модифицирующих агента , например , уксусный ангидрид и янтарный ангидрид . В результате реакции образуется смесь ацилированных производных в разных положениях
15 - ацетил -сукцинил производных .

Комбинаторная библиотека (combinatorial library) [лат. combinare — соединять , сочетать ; греч. biblion — книга и theke — хранилище] — набор большого числа всевозможных химических соединений , белков , генов или олигонуклеотидов , позволяющий осуществлять в нем быстрый поиск целевых генов или белков -мишеней .

20 Например , набор , состоящий из миллионов различных химических веществ , или совокупность рекомбинантных молекул ДНК , полученная встраиванием в вектор кДНК легкой и тяжелой цепей различных антител , и др .

25 Деацетилазы гистонов (англ. Histone deacetylases, HDACs), (К Ф 3.5.1) — ферменты , катализирующие удаление ацетильной группы ϵ -N-ацетил -лизина гистонов , внесенные ферментами гистонацетилазами (histone acetylases, HATs) в остатки К 3 и К 14 гистона Н 3 и К 5, К 8, К 12 и К 16 гистона Н 4, а также остатки некоторых лизинов гистонов Н 2А и Н 2В. Модифицируя гистоны и изменяя конформацию хроматина , гистондеацетилазы играют важную роль в регуляции экспрессии генов . В то время как гиперацетилирование гистонов под действием гистонацетилаз обычно связано с повышением
30 транскрипционной активности , гистондеацетилазы вызывают гипоацетилирование и вследствие , репрессию генов . Гипоацетилирование приводит к уменьшению промежутка между нуклеосомой и намотанной на неё ДНК . Более плотная упаковка ДНК уменьшает

её доступность для транскрипционных факторов, что приводит к транскрипционной репрессии. Обычно гистондеацетилазы действуют в составе крупных комплексов, вместе с другими белками подавляющими активность хроматина. Субстратами гистондеацетилаз могут быть не только гистоны, но и некоторые другие белки (p53, E2F, а-тубулин и MyoD). Семейство состоит из 18 белков, принадлежащих к 4-м классам. 11 представителей, принадлежащие к I (reduced potassium dependency 3 (RPD3)-no₁obHbie; HDAC1, HDAC2, HDAC3, HDAC8), II (класс дрожжевой гистон деацетилазы 1, Hdal; не путать с HDAC11, HDAC4, HDAC5, HDAC6, HDAC7, HDAC9, HDAC10) и IV классам (HDAC11), названы «классическими» гистон деацетилазами, в то время как представители класса III названы сиртуинами. Представители I и II классов ингибируются трихостатином А (TCA, TSA), в то время как представители других классов нечувствительны к нему.

Ингибиторы гистондеацетилаз (**HDACi**). На настоящий момент существует ряд ингибиторов гистондеацетилаз, начиная со сложных соединений выделенных из бактерий и грибов (TCA, тапоксин), и кончая относительно простыми соединениями (бутират). Большинство HDACi имеют трехкомпонентную структуру, состоящую из цинк-связывающего участка, линкера и последовательностью, взаимодействующей с аминокислотными остатками у входа в активный центр HDAC. Ингибиторы классических деацетилаз функционируют путём вытеснения иона цинка из активного центра и таким образом инактивируя систему смены зарядов. TCA обладает оптимальной конформацией для попадания в активный центр, имея гидроксаматную группу и пятиуглеродный линкер перед фенильной группой. TCA вызывает наисильнейший обратимый эффект из известных HDACi (его IC₅₀% находится в наномолярной области). HDACi вызывают гиперацетилирование, активацию транскрипции, и по некоторым данным, активное деметилирование ДНК. Поскольку HDACi замедляют рост и приводят к дифференцировке и апоптозу раковых клеток, ведутся активные разработки по их применению для терапии рака (вориностат, ромидепсин, белиностат). HDACi индуцируют апоптоз, арест клеточного цикла, старение, дифференцировку, иммуногенность клеток и ингибируют ангиогенез при некоторых видах рака. Наиболее успешными примерами использования HDACi являются вориностат и ромидепсин у пациентов с рефракторной кожной и периферической Т-клеточной лимфомой. В соответствии с химической структурой можно выделить 4 класса HDACi - гидроксаматы, циклические пептиды, алифатические

кислоты и бензамиды . Большая часть сведений об этих молекулах основана на онкологических исследованиях . К пан-HDACi (неспецифическим HDACi) в основном относятся гидроксаматы . Гидроксаматы представлены трихостатином А (TSA), который ингибирует рост клеток при раке легкого и груди и является пан-клеточным ингибитором HDAC. TSA не вошел в клиническую практику по причине нежелательных явлений - апоптоз нормальных клеток и повреждение ДНК .

5 Суберанилогидроксиаминовая кислота (SAHA) (вориностат) также является гидроксаматом , это первый HDACi, одобренный FDA для клинического применения . Его действие приводит к активации антипролиферативных генов p21WAF1, p27 KIP1, DR5 и TNF α , и снижению активности положительных регуляторов роста : CDK2, CDK4, cyclin D1 и cyclin D2. В настоящее время исследуется множество молекул из класса гидроксаматов : е СВНА , LAQ-824, PXD-101, LBH-589, ITF2357, оксамфлатин , АВНА , SBHA, Scriptaid, пироксамид , SK-7041, SK-7068 и тубацин . В последнее время ставится под сомнения активность пан-HDACi в отношении HDAC класса Па, но в результате

10 более подробных исследований открываются «истинные » пан-HDACi, например пандакостат . Дальнейшие перспективы пан-HDACi осложняются тем , что они малоэффективны в отношении солидных опухолей , но причины этого остаются неизвестными . В настоящее время значительное внимание уделяется разработке HDACi, селективных к определенным изоформам HDAC. Тем не менее , поиски новых пан-HDACi продолжают . Свидетельством тому являются и действия фармкомпаний : так , в

20 сентябре 2014 года компании Servier и Pharmacyclists заключили соглашение о совместной разработке абексиностата и других соединений . Появляются пан-HDACi «нового поколения » , такие , как гивиноустат , продолжают и клинические испытания «старых » HDACi, таких , как панабиноустат в составе моно - и комбинированной терапии ,

25 в том числе и солидных опухолей .

Ближайшим прототипом предлагаемой композиция является патент США [US9334272 В2] «Производные пуриновых и пиримидиновых противовирусных агентов и их использование в качестве перспективных противораковых агентов » в котором приводятся различные антигерпетические производные ацикловира в комбинации с

30 ингибиторами гистондеацетилазы для терапии рака , которые потенцировали друг друга и подавляли рост раковых клеток . Недостатком данного прототипа является отсутствие в композиции комбинаторного производного бивалентно модифицированного эпигаллокатехина галлата , который даже в немодифицированном виде является

ингибитором всех гистондеацетилаз , а в модифицированном виде его эффективная доза в 40 раз выше по отношению к SIRT1 и HDAC-3, кроме того , он совместно с ацикловиром способен полностью элиминировать возбудитель как *in vivo*, так и *in vitro*. Также в прототипе отсутствует комбинаторное производное бивалентно модифицированного глицирризина , обладающего способностью подавлять репликацию 5 вирусов герпеса в фазе латенции . В прототипе же не показана способность их производных вызывать полную элиминацию возбудителей герпесвирусов , а только повышение токсичности производных против некоторых раковых клеток .

10 Раскрытие изобретения

В основу изобретения поставленная задача получить фармацевтическую композицию , предназначенная для элиминации возбудителей герпесвирусных инфекций из тканей , включающую ингибиторы гистондеацетилазы и производные ацикловира , эпигалокатехина галлат и глицирризиновую кислоту , а также фармацевтически

15 приемлемые вспомогательные формообразующие вещества , отличающиеся тем , что дополнительно содержит супрамолекулярную структуру на основе неразделенной смеси комбинаторных производных эпигалокатехина , полученных путем одновременной модификации его как минимум двумя ковалентными модифицирующими агентами . В

другом варианте изобретения в дополнение к вышеперечисленным веществам может 20 быть добавлена супрамолекулярная структура на основе неразделенной смеси комбинаторных производных глицирризина , полученных путем одновременной модификации его как минимум двумя ковалентными модифицирующими агентами . При

этом , в качестве ковалентных модификаторов эпигалокатехина можно использовать : комбинации янтарного ангидрида и монохлороуксусной кислоты , малеинового 25 ангидрида и янтарного ангидрида , малеинового ангидрида и янтарного ангидрида . Также в качестве ковалентных модификаторов эпигалокатехина и глицирризина могут быть

использованы любые два модификатора из списка : уксусный ангидрид , пропионовый ангидрид , бутановый ангидрид , уксусно -пропионовый ангидрид , уксусно -будтановый ангидрид , глутаровый ангидрид , фталевый ангидрид , цис -аконитовый ангидрид , транс - 30 аконитовый ангидрид , лимонный ангидрид , изолимонный ангидрид , ацетилхлорид , ацетил фторид , пропионилхлорид , бутироилхлорид , этоксиоксалилмонохлорид .

Предлагаемая композиция также дополнительно может содержать , не ограничиваясь представленными здесь , но включающими один или несколько низкомолекулярных активаторов TOLL-рецепторов : акридонуксусную кислоту , тилорон , зимозан ,

имидазохинолин , имиквимод , бендазол , дипиридамом , папаверин и холекальциферол . На основе данной композиции могут быть получены различные лекарственные формы , включая местные , пероральные и парентеральные и содержать фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества .

5 Краткое описание чертежей :

Рис .1. Схема химического синтеза комбинаторно модифицированных производных эпигалокатехина галлата .

Рис .2. Схема химического синтеза комбинаторно модифицированных производных глицирризиновой кислоты .

10 Рис .3. ВЭЖХ (Милихром А -02) комбинаторного производного эпигалокатехина галлата (2), его октасукцинильного (1) и октаацетильного (3) производных и контроль - немодифицированный эпигалокатехина галлат (4), градиент раствор А : 0,5М перхлорат лития / 0,1М хлорная кислота , раствор Б : ацетонитрил (Б от 5% до 100%)

15 Рис .4. ВЭЖХ (Милихром А -02) комбинаторного производного глицирризина (2), его октасукцинильного (1) и октаацетильного (3) производных и контроль - немодифицированный глицирризин (4), градиент раствор А : 0,5М перхлорат лития / 0,1М хлорная кислота , раствор Б : ацетонитрил (Б от 5% до 100%)

Фармацевтические композиции

20 Могут быть использованы различные способы получения патентуемой фармацевтической композиции (ПФК). ПФК композицию можно давать перорально или можно вводить внутрисосудистой , подкожной , внутривенной инъекцией , в форме аэрозоля , глазным способом введения , в мочевой пузырь , местно и так далее . Например , способы ингаляционного введения хорошо известны в данной области техники . Доза терапевтической композиции будет варьировать в широких пределах в зависимости от

25 конкретного вводимого противовирусного ПФК , природы заболевания , частоты введения , способа введения , клиренса используемого агента из организма хозяина и тому подобного . Начальная доза может быть более высокой с последующими более низкими поддерживающими дозами . Дозу можно вводить с частотой один раз в неделю или один

30 раз в две недели , или делить на меньшие дозы и вводить их один или несколько раз в

сутки , два раза в неделю и так далее для поддержания эффективного уровня дозы . Во многих случаях для перорального введения будет необходима более высокая доза , чем для внутривенного введения ПФК могут быть включены во множество композиций для терапевтического введения . Более конкретно , ПФК по настоящему изобретению могут

5 быть включены в фармацевтические композиции в сочетании с подходящими фармацевтически приемлемыми носителями или разбавителями и могут быть включены в препараты в твердой , полутвердой , жидкой или газообразной формах , таких как капсулы , порошки , гранулы , мази , кремы , пены , растворы , суппозитории , инъекции , формы для ингаляционного применения , гели , микросферы , лосьоны и аэрозоли . Как

10 такое , введение соединений может быть осуществлено различными способами , включая пероральное , трансбуккальное , ректальное , парентеральное , внутривенное , внутрикожное , чрескожное , внутритрахеальное введение и так далее . ПФК по изобретению могут распределяться системно после введения или могут быть локализованы с использованием имплантата или другой композиции ,

15 удерживающей активную дозу в месте имплантации . ПФК по настоящему изобретению могут быть введены сами по себе , в комбинации друг с другом , или они могут быть использованы в комбинации с другими известными соединениями (например клопидогрелем , противовоспалительными агентами , и так далее) . В фармацевтических лекарственных формах соединения могут быть введены в форме их фармацевтически

20 приемлемых солей . Следующие способы и эксципиенты приведены лишь в качестве примеров и никоим образом не являются ограничивающими . Для препаратов для перорального введения соединения могут быть использованы сами по себе или в комбинации с подходящими добавками для изготовления таблеток , порошков , гранул или капсул , например , с обычными добавками , такими как лактоза , маннит , кукурузный

25 крахмал или картофельный крахмал ; со связывающими агентами , такими как кристаллическая целлюлоза , производные целлюлозы , аравийская камедь , кукурузный крахмал или желатины ; с разрыхлителями , такими как кукурузный крахмал , картофельный крахмал или карбоксиметилцеллюлоза натрия ; со смазывающими агентами , такими как тальк или стеарат магния ; и , если желательно , с разбавителями ,

30 буферными агентами , увлажняющими агентами , консервантами и корригентами . ПФК могут быть включены в композиции для инъекций путем их растворения , суспендирования или эмульгирования в водном или неводном растворителе , таком как растительные или другие подобные масла , синтетические глицериды алифатических кислот , эфиры высших алифатических кислот или пропиленгликоля ; и , если желательно , с обычными

добавками , такими как солюбилизаторы , изотонические агенты , суспендирующие агенты , эмульгаторы , стабилизаторы и консерванты . ПФК могут быть использованы в аэрозольной композиции для ингаляционного введения . Соединения по настоящему изобретению могут быть включены в приемлемые пропелленты под давлением , такие как дихлордифторметан , пропан , азот и тому подобное . Кроме того , ПФК могут быть включены в суппозитории смешиванием с множеством основ , таких как эмульгирующие основы или водорастворимые основы . Соединения по настоящему изобретению могут быть введены ректально с использованием суппозитория . Суппозиторий может содержать наполнители , такие как масло какао , карбоваксы и полиэтиленгликоли , расплавляющиеся при температуре тела , но твердые при комнатной температуре . Могут быть изготовлены стандартные лекарственные формы для перорального или ректального введения , такие как сиропы , эликсиры и суспензии , где каждая единица дозы , например , чайная ложка , столовая ложка , таблетка или суппозиторий , содержит predetermined количество композиции , содержащей одно или более соединений по настоящему изобретению . Сходным образом , стандартные лекарственные формы для инъекции или внутривенного введения могут содержать соединение по настоящему изобретению в композиции в форме раствора в стерильной воде , нормальном физиологическом растворе или другом фармацевтически приемлемом носителе . Имплантаты для длительного высвобождения композиций хорошо известны в данной области техники . Имплантаты изготавливают в форме микросфер , пластинок и так далее с биodeградируемыми или не являющимися биodeградируемыми полимерами . Например , полимеры молочной и/или гликолевой кислот образуют деградируемый полимер , хорошо переносимый хозяином . Имплантат , содержащий ПФК по изобретению , располагают близко к очагу патологии , так чтобы локальная концентрация активного агента была повышенной по сравнению с остальными областями тела . При использовании здесь термин «стандартная лекарственная форма » относится к физически дискретным единицам , подходящим для использования в качестве однократных доз для субъектов людей и животных , при этом каждая единица содержит predetermined количество соединений по настоящему изобретению , которого , согласно вычислениям , достаточно для оказания желаемого эффекта , совместно с фармацевтически приемлемым разбавителем , носителем или наполнителем . Описания стандартных лекарственных форм по настоящему изобретению зависят от конкретного используемого соединения , и эффекта , который должен быть достигнут , и фармакодинамики используемого соединения у хозяина . Фармацевтически приемлемые эксципиенты ,

такие как наполнители , адъюванты , носители или разбавители , общедоступны . Кроме того , общедоступны фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества , такие как агенты для регулирования рН и буферные агенты , агенты для регулирования тоничности , стабилизаторы , смачивающие агенты и тому подобное . Типичные дозы для системного введения варьируют от 0,1 мг до 1000 миллиграмм на кг массы тела субъекта на одно введение . Типичная доза может представлять собой одну таблетку для приема от двух до шести раз в сутки или одну капсулу или таблетку с длительным высвобождением для приема один раз в сутки с пропорционально более высоким содержанием активного ингредиента . Эффект длительного высвобождения может быть обусловлен материалами , из которых изготовлена капсула , растворяющимися при различных значениях рН, капсулами , обеспечивающими медленное высвобождение под воздействием осмотического давления или любым другим известным способом контролируемого высвобождения . Специалистам в данной области техники будет ясно , что уровни доз могут варьировать в зависимости от конкретного соединения , тяжести симптомов и предрасположенности субъекта к побочным эффектам . Некоторые из конкретных соединений обладают большей активностью , чем другие . Предпочтительные дозы данного соединения могут быть легко определены специалистами в данной области техники множеством способов . Предпочтительным способом является измерение физиологической активности ПФК . Один из интересующих способов представляет собой применение липосом в качестве наполнителя для доставки . Липосомы сливаются с клетками целевой области и обеспечивают доставку содержимого липосом внутрь клеток . Контакт липосом с клетками поддерживают в течение времени , достаточного для слияния , с использованием различных способов поддержания контакта , таких как выделение , связывающие агенты и тому подобное . В одном аспекте изобретения липосомы разработаны для получения аэрозоля для легочного введения . Липосомы могут быть изготовлены с очищенными белками или пептидами , опосредующими слияние мембран , такими как вирус Сендай или вирус гриппа и так далее . Липиды могут представлять собой любую полезную комбинацию известных липидов , образующих липосомы , включая катионные или цвиттерионные липиды , такие как фосфатидилхолин . Остальные липиды будут обычно нейтральными или кислыми липидами , такими как холестерин , фосфатидилсерин , фосфатидилглицерин и тому подобное . Для получения липосом может быть использован способ , описанный Kato et al.(1991) J. Biol. Chem. 266:3361. Кратко , липиды и композицию для включения в липосомы , содержащую

патентуемую композицию , смешивают в подходящей водной среде , подходящим образом в солевой среде , где общее содержание твердых веществ будет находиться в диапазоне приблизительно 110 масс.%. После интенсивного перемешивания в течение коротких периодов времени , приблизительно 5-60 сек , пробирку помещают в теплую водную баню при приблизительно 25-40° С и этот цикл повторяют приблизительно 5-10 раз . Затем композицию обрабатывают ультразвуком на протяжении подходящего периода времени , обычно приблизительно 1-10 сек , и , возможно , дополнительно перемешивают на вихревой мешалке . Затем объем увеличивают добавлением водной среды , обычно увеличивая объем в приблизительно 1-2 раза , с последующим взбалтыванием и охлаждением . Способ позволяет включать в липосомы супрамолекулярные структуры с высокой суммарной молекулярной массой .

Композиции с другими активными агентами

Для применения в рассматриваемых способах ПФК по изобретению могут быть включены в композиции с другими фармацевтически активными агентами , в частности другими противовирусными , иммуномодулирующими и антимикробными агентами , известными в данной области техники . Классы средств для терапии герпесвирусных инфекций и их осложнений представлены в стандартизованных протоколах лечения данных патологий и могут комбинироваться с патентуемыми ПФК , например , рибавирин , йоддезоксифуридин , ганцикловир , валганцикловир , валацикловир , пенцикловир . В композицию ПФК по изобретению могут также быть включены цитокины , например интерферон альфа , интерферон гамма , интерферон - бета , фактор некроза опухоли альфа , интерлейкин 12 , индукторы интерферона циклоферон , тилорон , другие активаторы TOLL-рецепторов : зимозан , имидазохинолин , имиквимод , индуктор завершения фагоцитоза холекальциферол . Далее настоящее изобретение описано следующими примерами , которые не следует толковать как ограничивающие объем изобретения .

Пример 1. Получение комбинаторной смеси производных эпигалокатехина галлата (КЭГГ)

В 10 мл диоксана растворяют 764 мкМ эпигалокатехина галлата (I), добавляют 2040 мкМ янтарного ангидрида (III) и 2040 мкМ уксусного ангидрида, раствор перемешивают и греют с обратным холодильником 20 минут. Раствор переливают в ампулы и лиофилизируют для удаления растворителя и уксусной кислоты.

5 Комбинаторную смесь используют для получения фармацевтических композиций, изучения структуры, определения биологической активности. На рисунке 1 приведена схема синтеза комбинаторных производных I. Одна исходная молекула (I) содержит 8 доступных для модификации фенольных гидроксильных групп.

Расчеты количества молей модификаторов ведут согласно формул комбинаторики:

- 10 $m=4x(3 \times 2^{n-2} - 1)$; $k= \eta^x(2^n - 1)$, где x - количество разных производных молекул в комбинаторной смеси и количество молей (I) для реакции; n - количество доступных для модификации фенольных гидроксидов в структуре I ($n=8$); k - количество молей каждого модификатора. Таким образом, имея только одну исходную молекулу (I) и два модификатора после комбинаторного синтеза мы получаем 764 комбинаторных
- 15 производных (IV a-d) с разной степенью замещения, разного положения заместителей и разных перестановок остатков модификаторов не просто в виде смеси, а в виде трудно разделяемой супрамолекулярной смеси. Модификаторы - янтарный ангидрид либо уксусный ангидрид можно вводить как одновременно, так и последовательно - либо
- 20 сперва ввести янтарный ангидрид, прогреть смесь с обратным холодильником 20 минут, а затем ввести уксусный ангидрид и также прогреть смесь еще 20 минут. Аналогично в этой реакции в качестве модификаторов вместо янтарного и/или уксусного ангидридов могут быть использованы: малеиновый ангидрид, аконитовый ангидрид, глутаровый, фталевый ангидрид и уксусный ангидрид, этиловый эфир муравьиной кислоты, монохлороуксусную кислоту, пропиолактон, этиленоксид и другие низкомолекулярные
- 25 алкилирующие вещества (метилхлорид, этилхлорид, пропилхлорид). ЯМР С 13 -спектры определяли на спектрометре Bruker.

ЯМР С 13 для комбинаторного производного эпигалокатехина (IVa-d): 157.8, 94.8, 95.3, 157.2, 99.4, 24.8, 157.3, 68.6, 82.7, 130.9, 129.9, 112.0, 145.3, 144.6, 146.3, 169.0, 2-.3, 165.9, 121.2, 108.6, 109.6, 146.1, 140.3, 133/4, 154.3, 171.1, 28.8, 29.1, 174.7

- 30 Для HPLC использовали микроколоночный хроматограф Милихром А-02 в градиенте ацетонитрил (5-100%)/ 0,1 М хлорная кислота + 0,5 М перхлорат лития. Комбинаторное производное на хроматограмме (Рис.4) давало один четкий уширенный

пик и не разделялось на компоненты, хотя время удержания отличалось как от эпигалокатехина, так и от его полностью замещенных производных. Это свидетельствовало о том, что между разными комбинаторными производными (в нашем случае их 764) образовывались сложные супрамолекулярные структуры, не разделяемые хроматографически. Аналогично себя ведет данное комбинаторное производное (КЭГГ) и при разделении в тонком слое (ацетонитрил : вода) и дает только одну полосу, которая не совпадает ни с одним из полученных производных.

В таблице 1 приведен результат скрининга производных (I) с разным соотношением модификаторов в качестве ингибиторов гистон деацетил аз.

10 НАТ и HDAC. Ядерный экстракт клеток HeLa (NE) получали, как описано ранее [Yoon HG, Choi Y, Cole PA, Wong J.. Mol Cell Biol 2005, 25: 324-35.]. Анализ активности SIRT1 и HDAC-3 определяли с использованием коммерческого доступного набора (Biovision Biotechnology) в соответствии с инструкцией производителя. Активность деацетилазы SIRT1 анализировали с помощью набора SIRT1 / Sir2 Deacetylase
15 Fluorometric Assay (CycLex). В таблице приведены данные ингибирования гистондеацетилаз SIRT1 и HDAC-3 производными эпигалокатехина с разным соотношением модификаторов

Таблица 1. - Ингибирующая способность в отношении SIRT1 и HDAC-3 со стороны супрамолекулярных комбинаторных производных (I), полученных в реакции с
20 разным мольным соотношением модификаторов

№ п/п	Мольные соотношения реагентов*			K _i (mM)	
	m	k1	k2	HDAC-3	SIRT
1	764	8160***	8160***	>4	>5
2	-//-	4080	4080	>4	>5
3	-//-	2040	2040	0.10±0.02	0.24±0.03
4	-//-	1020	1020	0.60±0.03	0.80±0.05
5	-//-	510	39	>4	>5
6	-//-	255	19	>4	>5
7	-//-	127	10	>4	>5
8	-//-	63	5	>4	>5
9	-//-	31	2	>4	>5
10	-//-	15	1	>4	>5

13	-//-	0	0	>4	>5
14	-//-	8160***	0	>4	>5
16	-//-	4080	0	>4	>5
17	-//-	2040	0	>4	>5
18	-//-	1020	0	>4	>5
19	-//-	510	0	>4	>5
20	-//-	255	0	>4	>5
21	-//-	127	0	>4	>5
22	-//-	63	0	>4	>5
23	-//-	31	0	>4	>5
24	-//-	15	0	>4	>5
25	-//-	0	1	>4	>5
26	-//-	1	15	>4	>5
27	-//-	0	31	>4	>5
28	-//-	0	63	>4	>5
29	-//-	0	127	>4	>5
30	-//-	0	255	>4	>5
31	-//-	0	510	>4	>5
32	-//-	0	1020	>4	>5
33	-//-	0	2040	>4	>5
34	-//-	0	4080	>4	>5
35	-//-	0	8160	>4	>5
36	-//-	8160***	1	>4	>5
37	-//-	4080	15	>4	>5
38	-//-	2040	31	>4	>5
39	-//-	1020	63	>4	>5
40	-//-	510	127	>4	>5
41	-//-	255	255	>4	>5
42	-//-	127	510	>4	>5
43	-//-	63	1020	>4	>5
44	-//-	31	2040	>4	>5
45	-//-	15	4080	>4	>5
46	-//-	0	8160	>4	>5

* t - количество молей (1) в реакции комбинаторного синтеза ; k_1 - количество молей янтарного ангидрида в реакции ; k_2 - количество молей уксусного ангидрида в реакции ;

** K_i (mM) - Концентрации высвобождения флюоресцентного диацетилированного продукта различных концентрация субстрата были использованы для расчетов

5 Lineweaver-Burk расчеты . Данные средних значений от двух независимых экспериментов .

*** максимальное мольное соотношение , при котором замещаются все группы в (I), превышение этого соотношения приводит к тому , что в реакционной среде остаются непрореагировавшие модификаторы - янтарный ангидрид и уксусный ангидрид .

10

Как видно из таблицы 1, только при рассчитанном соотношении компонентов , когда образуется максимальное количество разных производных (I), образуется биологическая активная и эффективная супрамолекулярная структура (производное IV (a-d)), способная в дозе 0,1 мкМ /л на 50% ингибировать как HDAC-3, так и SIRT, что на

15 3 порядка меньше , чем исходная доза немодифицированного (I). Другие производные либо не отличались от немодифицированного (I) по способности ингибировать HDAC-3 и SIRT, либо были значительно менее активными . Это свидетельствует , что при оптимальном соотношении модификаторов при образовании в растворе всех возможных производных (764 вариации производных (I) с разными перестановками и размещениями

20 в заместителях) образуется более сложная надмолекулярная «квазизживая » структура с другими свойствами и более чем на 3 порядка большей фармакологической активностью .

Пример 2. Получение полностью сукцинилированного эпиглокатехина

25 В 10 мл диоксана растворяют 10 мМ эпигалокатехина (I), добавляют 80 мМ янтарного ангидрида (III), раствор перемешивают и греют с обратным холодильником 20 минут . Раствор переливают в ампулы и лиофилизируют .

ЯМР С 13 октасукцинил эпигалокатехина : 174.7, 29.1, 28.8, 171.1, 149.3, 108.5, 149.6, 107.4, 155.3, 112.9, 25.0, 68.3, 82.1, 174.7, 29.1, 28.8, 133.1, 118.9, 118.9, 144.5, 133.5,

30 144.5, 165.9, 123.4, 118.5, 146.0, 140.5, 146.0, 167.9

HPLC (Milichrom A -02; Gradient $\text{HClO}_4/\text{LiClO}_4$: AcCN 5-100%): 1 пик 18,0 мин

Пример 3. Получение полностью ацетилированного эпигалокатехина

В 10 мл диоксана растворяют 10 мМ эпигалокатехина (I), добавляют 80 мМ уксусного ангидрида (II), раствор перемешивают и греют с обратным холодильником 20 минут . Раствор переливают в ампулы и лиофилизируют .

ЯМР С13 октаацетил эпигалокатехина : 20.3, 169.0, 149.3, 108.5, 20.3, 169.0, 107.4, 155.3, 112.9, 25.0, 68.3, 82.1, 133.1, 118.9, 118.9, 144.5, 133.5, 118.5, 123.4

HPLC (Milichrom A -02; Gradient $\text{HClO}_4/\text{LiClO}_4$: AcCN 5-100%): 1 пик 23,3 мин

10

Пример 4. Получение комбинаторной смеси производных глицирризина (КСПГ)

В 10 мл диоксана растворяют 92 мкМ глицирризина (V), добавляют 155 мкМ янтарного ангидрида (III) и 155 мкМ уксусного ангидрида , раствор перемешивают и греют с обратным холодильником 20 минут . Раствор переливают в ампулы и лиофилизируют для удаления растворителя и уксусной кислоты . Комбинаторную смесь используют для получения фармацевтических композиций , изучения структуры , определения биологической активности . На рисунке 2 приведена схема синтеза комбинаторных производных V. Одна исходная молекула (V) содержит 5 доступных для модификации гидроксильных групп в гликозидном остатке .

20 Расчеты количества молей модификаторов ведут согласно формул комбинаторики :

$m=4x(3 \times 2^{n-2} - 1)$; $k= \eta^x(2^p - 1)$, где x - количество разных производных молекул в комбинаторной смеси и количество молей (I) для реакции ; p - количество доступных для модификации спиртовых гликозидных гидроксильных групп в структуре I ($p=5$); k - количество молей каждого модификатора . Таким образом , имея только одну исходную молекулу (V) и два модификатора после комбинаторного синтеза мы получаем 92 комбинаторных производных (VI a-d) с разной степенью замещения , разного положения заместителей и разных перестановок остатков модификаторов не просто в виде смеси , а в виде трудно разделяемой супрамолекулярной смеси . Модификаторы - янтарный ангидрид либо уксусный ангидрид можно вводить как одновременно , так и последовательно - либо

25

сперва ввести янтарный ангидрид , прогреть смесь с обратным холодильником 20 минут , а затем ввести уксусный ангидрид и также прогреть смесь еще 20 минут . Аналогично в этой реакции в качестве модификаторов вместо янтарного ангидрида и/или уксусного ангидрида могут быть использованы : малеиновый ангидрид , аконитовый ангидрид ,
5 глутаровый , фталевый ангидрид и уксусный ангидрид , этиловый эфир муравьиной кислоты , монохлороуксусную кислоту , пропиолактон , этиленоксид и другие низкомолекулярные алкилирующие вещества (метилхлорид , этилхлорид , пропилхлорид). ЯМР С 13 -спектры определяли на спектрометре Bruker.

10 ЯМР С 13 для комбинаторного производного глицирризина (VI a-d): 174.7, 29.1, 29.5, 173.1, 172.9, 68.0, 71.6, 84.2, 82.5, 78.5, 109.8, 68.5, 68.6, 78.8, 112.1, 77.6, 173.2, 67.9, 53.1, 39.0, 29.6, 23.5, 57.2, 36.6, 17.2, 69.0, 18.0, 43.1, 40.4, 18.7, 200.8, 123.0, 158.1, 47.1, 32.4, 33.1, 15.4, 39.1, 51.5, 25.0, 43.3, 42.2, 36.2, 19.9, 182.7

Для HPLC использовали микроколоночный хроматограф Милихром А-02 в градиенте
15 ацетонитрил (5-100%)/ 0,1 М хлорная кислота + 0,5 М перхлорат лития . Комбинаторное производное на хроматограмме давало один четкий уширенный пик и не разделялось на компоненты , хотя время удержания отличалось как от глицирризина , так и от его полностью замещенных производных . Это свидетельствовало о том , что между разными комбинаторными производными (в нашем случае их 92) образовывались сложные
20 супрамолекулярные структуры , не разделяемые хроматографически . Аналогично себя ведет данное комбинаторное производное (КСПГ) и при разделении в тонком слое (ацетонитрил :вода) и дает только одну полосу , которая не совпадает ни с одним из полученных производных .

Пример 5. Получение полностью сукцинированного глицирризина

25 В 10 мл диоксана растворяют 10 мМ глицирризина (V), добавляют 50 мМ янтарного ангидрида (III), раствор перемешивают и греют с обратным холодильником 20 минут . Раствор переливают в ампулы и лиофилизируют .

30 ЯМР С 13 октасукцинил глицирризина : 174.7, 29.1, 29.5, 173.1, 71.6, 84.2, 82.5, 78.5, 109.8, 68.5, 68.6, 78.8, 112.1, 77.6, 173.2, 67.9, 53.1, 39.0, 29.6, 23.5, 57.2, 36.6, 17.2, 69.0, 18.0, 43.1, 40.4, 18.7, 200.8, 123.0, 158.1, 47.1, 32.4, 33.1, 15.4, 39.1, 51.5, 25.0, 43.3, 42.2, 36.2, 19.9, 182.7

HPLC (Milichrom A-02; Gradient $\text{HClO}_4/\text{LiClO}_4$: AcCN 5-100%): 1 пик 19,6 мин

Пример 6. Получение полностью ацелированного глицирризина

В 10 мл диоксана растворяют 10 мМ глицирризина (V), добавляют 50 мМ уксусного ангидрида (II), раствор перемешивают и греют с обратным холодильником 20 минут .

5 Раствор переливают в ампулы и лиофилизируют .

ЯМР С 13 октаацетил глицирризина : 172.9, 68.0, 71.6, 84.2, 82.5, 78.5, 109.8, 68.5, 68.6, 78.8, 112.1, 77.6, 173.2, 67.9, 53.1, 39.0, 29.6, 23.5, 57.2, 36.6, 17.2, 69.0, 18.0, 43.1, 40.4, 18.7, 200.8, 123.0, 158.1, 47.1, 32.4, 33.1, 15.4, 39.1, 51.5, 25.0, 43.3, 42.2, 36.2, 19.9, 182.7

HPLC (Milichrom A-02; Gradient $\text{HClO}_4/\text{LiClO}_4$: AcCN 5-100%): 1 пик 22,1 мин

10 На рис . 3 приведена интегральная хроматограмма 4 веществ : комбинаторного производного эпигалокатехина галлата (2), его октасукцинильного (1) и октаацетильного (3) производных и контроль - немодифицированный эпигалокатехина галлат (4). Как видно из графиков , время (объем) удержания производных отличается как от исходного эпигалокатехина галлата , так и между собой , что свидетельствует о том , что это разные соединения . Также , пик (2) не разделился на несколько мелких фрагментов , также его не удалось разделить и с применением разных условий тонкослойной хроматографии , что свидетельствует о стабильном характере образовавшейся супрамолекулярной структуры из разных производных . Полностью сукцинированный и полностью ацелированный эпигалокатехины не проявляли биологической активности .

20 На рис . 4 приведена интегральная хроматограмма 4 веществ : комбинаторного производного глицирризина (2), его октасукцинильного (1) и октаацетильного (3) производных и контроль - немодифицированный глицирризин (4). Как видно из графиков , время (объем) удержания производных отличается как от исходного глицирризина , так и между собой , что свидетельствует о том , что это разные соединения .

25 Также , пик (2) не разделился на несколько мелких фрагментов , также его не удалось разделить и с применением разных условий тонкослойной хроматографии , что свидетельствует о стабильном характере образовавшейся супрамолекулярной структуры из разных производных . Полностью сукцинированный и полностью ацелированный глицирризин не проявляли биологической активности .

Для проверки биологической (антивирусной) активности синтезированных производных с другими соотношениями компонентов в реакции комбинаторного синтеза изучали противовирусную активность производных скрининговым методом на моделях вируса Эпштейна -Барр (штамм Х-20696) в планшетах на культуре В-лимфомы по изменению количества копий геномов вируса в мл культуральной среды методом ПЦР через выявление ампликона LAT-фрагментов вируса (Synovo Lab). Вещества вводились в 1/10 дозы исходной глицирризиновой кислоты (конечная концентрация производных в среде составила 11 мкм/мл), изначально обладающей антивирусной активностью в отношении вируса Эпштейна -Барр в ЕД 50=55 мкм/мл. Клетки культивировались в планшетах в среде Игла с добавлением донорской плазмы крови при температуре 37 °С.

Результаты исследований *in vitro* приведены в таблице 2.

Таблица 2. Способность супрамолекулярного комбинаторного производного глицирризина КСПГ элиминировать из культуры клеток лимфомы вирус

Эпштейна -Барр

№ п/п	Мольные соотношения реагентов*			Количество log копий** геномов вирусов в мл культуральной жидкости
	m	k1	k2	
1	92	930***	930***	>4,0
2	-/-	465	465	>4,0
3	-/-	155	155	0
4	-/-	77	77	2,0
5	-/-	39	39	>4,0
6	-/-	19	19	>4,0
7	-/-	10	10	>4,0
8	-/-	5	5	>4,0
9	-/-	2	2	>4,0
10	-/-	1	1	3,0
13	-/-	0	0	3,0
14	-/-	930***	0	>4,0
16	-/-	465	0	>4,0
17	-/-	155	0	>4,0
18	-/-	77	0	>4,0

19	-//-	39	0	>4,0
20	-//-	19	0	>4,0
21	-//-	10	0	>4,0
22	-//-	5	0	>4,0
23	-//-	2	0	3,0
24	-//-	1	0	3,0
25	-//-	0	1860***	>4,0
26	-//-	1	930	>4,0
27	-//-	0	465	>4,0
28	-//-	0	155	>4,0
29	-//-	0	77	>4,0
30	-//-	0	39	>4,0
31	-//-	0	19	>4,0
32	-//-	0	10	>4,0
33	-//-	0	5	>4,0
34	-//-	0	2	2,0
35	-//-	0	1	3,0
36	-//-	1860***	1	>4,0
37	-//-	930	1	>4,0
38	-//-	465	2	>4,0
39	-//-	155	5	>4,0
40	-//-	77	10	>4,0
41	-//-	39	19	>4,0
42	-//-	19	39	>4,0
43	-//-	10	77	>4,0
44	-//-	5	155	>4,0
45	-//-	2	465	>4,0
46	-//-	1	930	>4,0

* m- количество молей глицирризина в реакции комбинаторного синтеза ; к1- количество молей янтарного ангидрида в реакции ; к2 - количество молей уксусного ангидрида в реакции ;

** Log означает , что цифра в столбце это десятичный логарифм концентрации ДНК , например 3 в столбце означает 10^3 геномов /мл, ошибка измерения 0,5 log/мл.

*** максимальное мольное соотношение , при котором замещаются все группы в глицирризине , превышение этого соотношения приводит к тому , что в реакционной среде остаются непрореагировавшие модификаторы - янтарный ангидрид и уксусный ангидрид .

Как видно из таблицы 2, только при рассчитанном соотношении компонентов ,
5 когда образуется максимальное количество разных производных глицирризина ,
образуется биологическая активная и эффективная супрамолекулярная структура
(производное N° 3 в таблице или КСПГ), способное в дозе 11 мкм /мл полностью
элиминировать возбудитель вируса Эпштейна -Барр из культуры клеток (**EDiоо**) при
отсутствии какого -либо цитотоксического эффекта на клетки . Аналогичные эффекты
10 проявляет производное N° 3 из таблицы 1 и в культурах почки обезьяны , латентно
инфицированной такими вирусами , как вирус герпеса человека 1 типа , вирус герпеса
человека 2 типа , вирус герпеса Зостер , цитомегаловирус человека , вирус герпеса
человека 6 типа . Латентное инфицирование культуры вызывалось предварительной
обработкой культуры клеток субэффективной концентрацией ацикловира . Добавление к
15 КСПГ дополнительно КЭГГ уменьшало в 10 раз эффективную концентрацию КСПГ до
5 мкг /мл и уменьшало период определения вирусного генома в культуральной среде до
3 дней .

Пример 7. Изучение противовирусной активности КСПГ и КЭГГ в эксперименте
на животных (Герпесвирусный керато -конъюнктивит /энцефалит у кролей)

20 Как было сказано ранее , комбинация ингибитора гистондеацетилаз КСПГ и
противовирусного средства , эффективно действующего в латентную фазу вирусной
репликации КЭГГ способно либо элиминировать возбудителя из организма , либо
значительно уменьшить его нагрузку на организм . Учитывая роль герпесвирусов в
этиологии атеросклероза , рака , аллергических аутоиммунных патологий , артрозов ,
25 позволить более успешно лечить целую группу ассоциированных с герпесвирусами
патологий . Для изучений на моделях животных был использован 5% водный раствор
калиевой соли эквивалентной смеси КСПГ и КЭГГ . Особенности экспериментальной
системы и уровень ее адекватности естественному заболеванию человека несомненно
играют решающую роль в оценке влияния противовирусного вещества на течение
30 инфекции . Герпетическая экспериментальная инфекция представляет собой интерес в
связи с тем , что заболевания герпетической природы широко распространены и
чрезвычайно вариабельны по клиническим проявлениям . Модели экспериментального
герпеса на животных находят все более широкое применение в изучении новых
противовирусных веществ . Как известно , одной из клинических форм системного

герпеса является герпетический энцефалит, который воспроизводится у морских свинок, хомяков, крыс, мышей, кроликов, собак, обезьян. Герпетический кератоконъюнктивит у кроликов среднего веса 3,5 кг был получен путем нанесения инфекционного материала (вирус герпеса 1 типа, штамм Л-2) на скарифицированную роговицу. Животного фиксировали, анестезию глаза проводили дикаином (закапывали в глаз). Раздвигали веки глаза, наносили несколько царапин на роговицу при помощи иглы шприца. Затем вводили вирусосодержащий материал и, смыкая веки, круговыми движениями втирали его в роговицу. Доза вируса: 0,05 мл. В опыте использовали 16 кролей, из них десятерым вводили смеси КСПГ и КЭГГ (ежедневно со второго дня инфицирования -14 дней в дозе 20 мг/кг, а шестерым - плацебо (0,9 % натрия хлорида)). После заражения кролей ВПГ 1 ежедневно контролировали состояние роговицы, наличие кератоконъюнктивита, энцефальных нарушений и наличие геномов вируса в крови методом ПЦР после инфицирования. До инфицирования у всех животных ампликоны вируса герпеса в крови отсутствовали. На 3 день после инфицирования у всех животных в крови определялся сеном ВПГ 1 в количестве 3 log/мл. Кроме того, у двух кролей появились энцефальные проявления - судорожный синдром, отсутствие аппетита. На 4 день после инфицирования опытной группе кролей ввели в ушную вену смеси КСПГ и КЭГГ в дозе 50 мкг /кг веса тела, а контрольной группе ввели 0,9% раствор натрия хлорида. Каждый день в течение двух недель повторяли эту процедуру один раз в день. В опытной группе все животные выжили, а антиген ВПГ 1 в крови не определялся на 13-14 день. Кроме того, в опытной группе энцефальные проявления исчезли к 5 дню применения препарата, тогда как в контроле погибло 2 животных. К 14 дню лечения в опытной группе погибло два животных, тогда как в контроле - 6. Соответственно индекс эффективности был равен 83,3 %, что свидетельствует о высокой лечебной эффективности КСПГ / КЭГГ на модели герпетического кератоконъюнктивита /энцефалита у кролей. Кроме того, кроли в опытной группе набрали в весе и у всех животных отсутствовали признаки кератоконъюнктивита. Химиотерапевтический индекс для кролей по препарату КСПГ / КЭГГ составил 1000, что свидетельствует о перспективности КСПГ / КЭГГ как высокоэффективного противовирусного препарата с широким спектром действия и низкой токсичностью и способностью полностью элиминировать возбудитель герпесвируса.

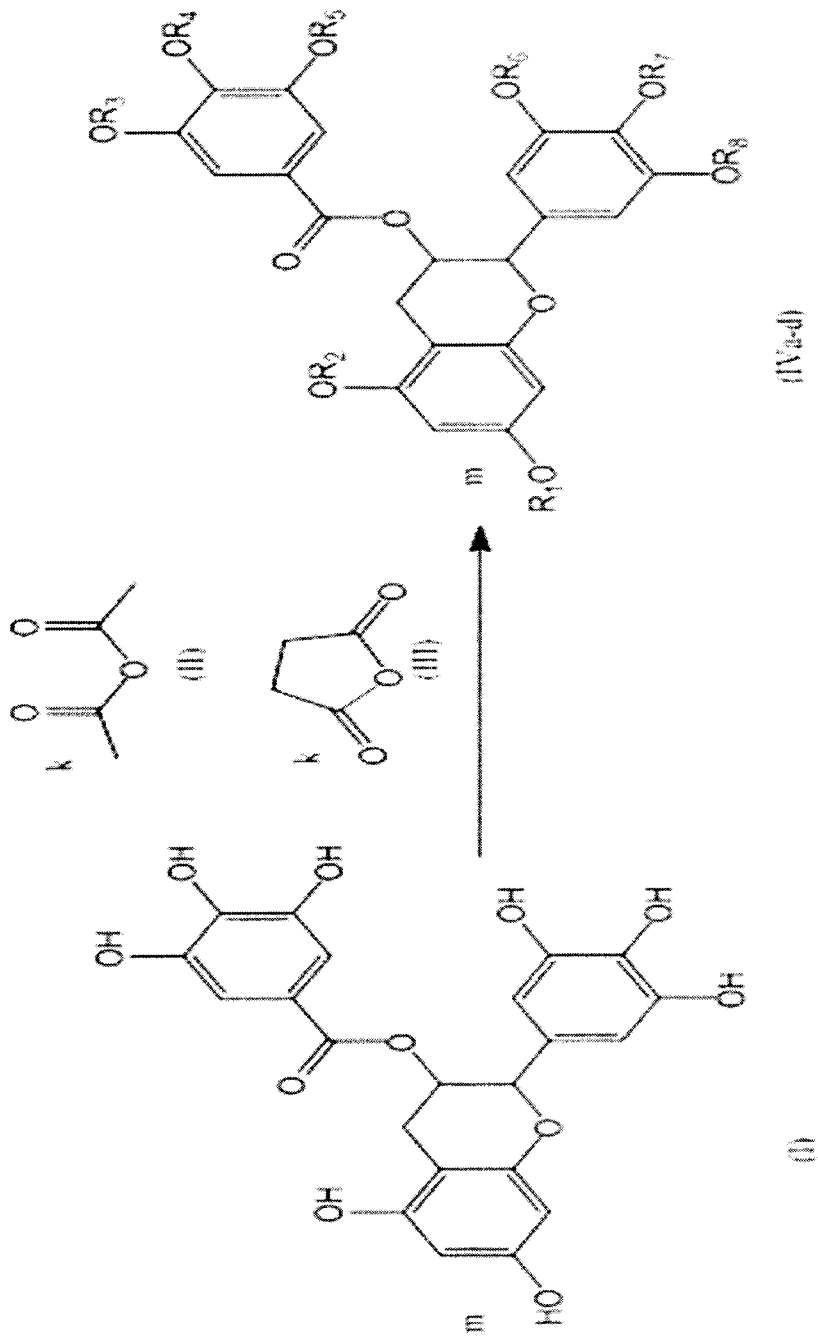
Формула изобретения

1. Фармацевтическая композиция , предназначенная для элиминации возбудителей герпесвирусных инфекций из тканей макроорганизма , включающая ингибиторы гистондеацетилазы , производные ацикловира , эпигалокатехина галлат и глицерризин ,
5 отличающаяся тем , что дополнительно содержит супрамолекулярную структуру из неразделенной смеси комбинаторных производных эпигалокатехина галлата , полученную путем одновременной модификации эпигалокатехина галлата как минимум двумя ковалентными модифицирующими агентами .
2. Фармацевтическая композиция по п.1, отличающаяся тем , что дополнительно
10 содержит супрамолекулярную структуру из неразделенной смеси комбинаторных производных глицерризина , полученную путем одновременной модификации глицерризина как минимум двумя ковалентными модифицирующими агентами .
3. Фармацевтическая композиция по п.1, отличающаяся тем , что в качестве ковалентных модификаторов используют янтарный ангидрид и монохлороуксусную
15 кислоту .4. Фармацевтическая композиция по п.1, отличающаяся тем , что в качестве ковалентных модификаторов используют малеиновый ангидрид и янтарный ангидрид .
5. Фармацевтическая композиция по п.1, отличающаяся тем , что в качестве ковалентных модификаторов используют малеиновый ангидрид и монохлороуксусную кислоту .
- 20 6. Фармацевтическая композиция по п.1, отличающаяся тем , что в качестве ковалентных модификаторов могут быть использованы любые два модификатора из списка : уксусный ангидрид , пропионовый ангидрид , бутановый ангидрид , уксусно - пропионовый ангидрид , уксусно -бутановый ангидрид , глутаровый ангидрид , фталевый ангидрид , цис -аконитовый ангидрид , транс -аконитовый ангидрид , лимонный ангидрид ,
25 изолимонный ангидрид , ацетилхлорид , ацетилфторид , пропионилхлорид , бутироилхлорид , этоксиоксалилмонохлорид .
7. Фармацевтическая композиция по п.1, отличающаяся тем , что дополнительно содержит не ограничиваясь представленными здесь , но включающими один или несколько низкомолекулярных активаторов TOLL-рецепторов : акридонуксусную
30 кислоту , тилорон , зимозан , имидазохинолин , имиквимод .

8. Фармацевтическая композиция по п.1, отличающаяся тем, что дополнительно содержит холекальциферол .

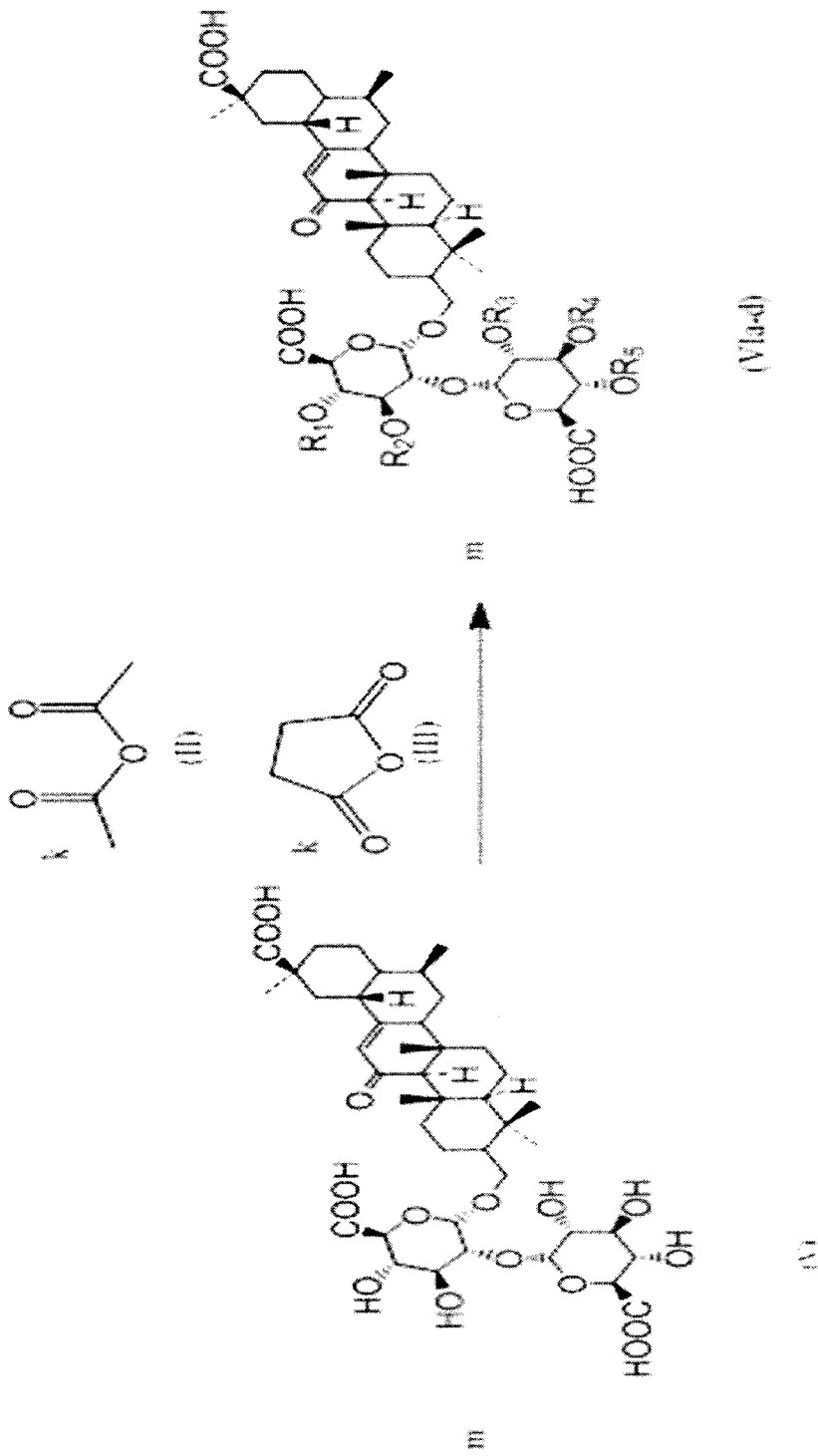
5

10



$R_1, R_2 = (a) H, (b) COCH_3, (c) COCH_2CH_2COOH, (d)$
Combinatorial sum a+b+c

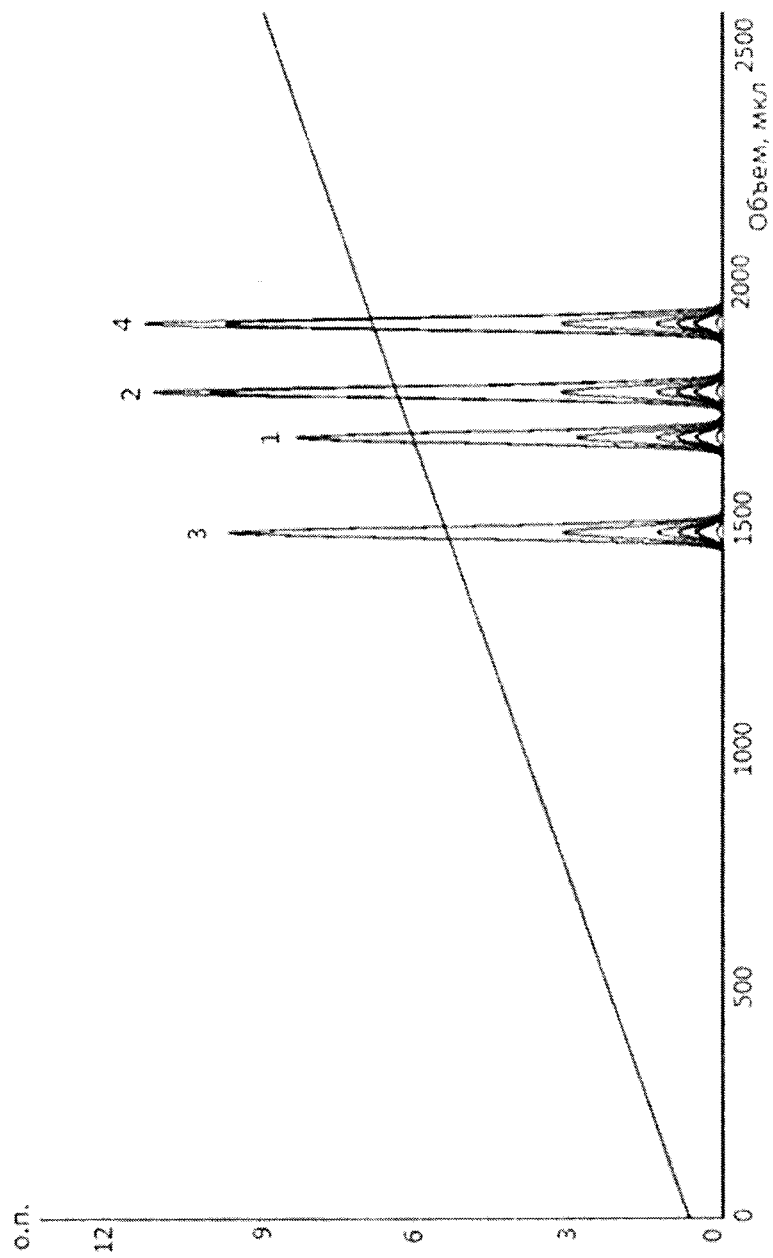
Фиг.1



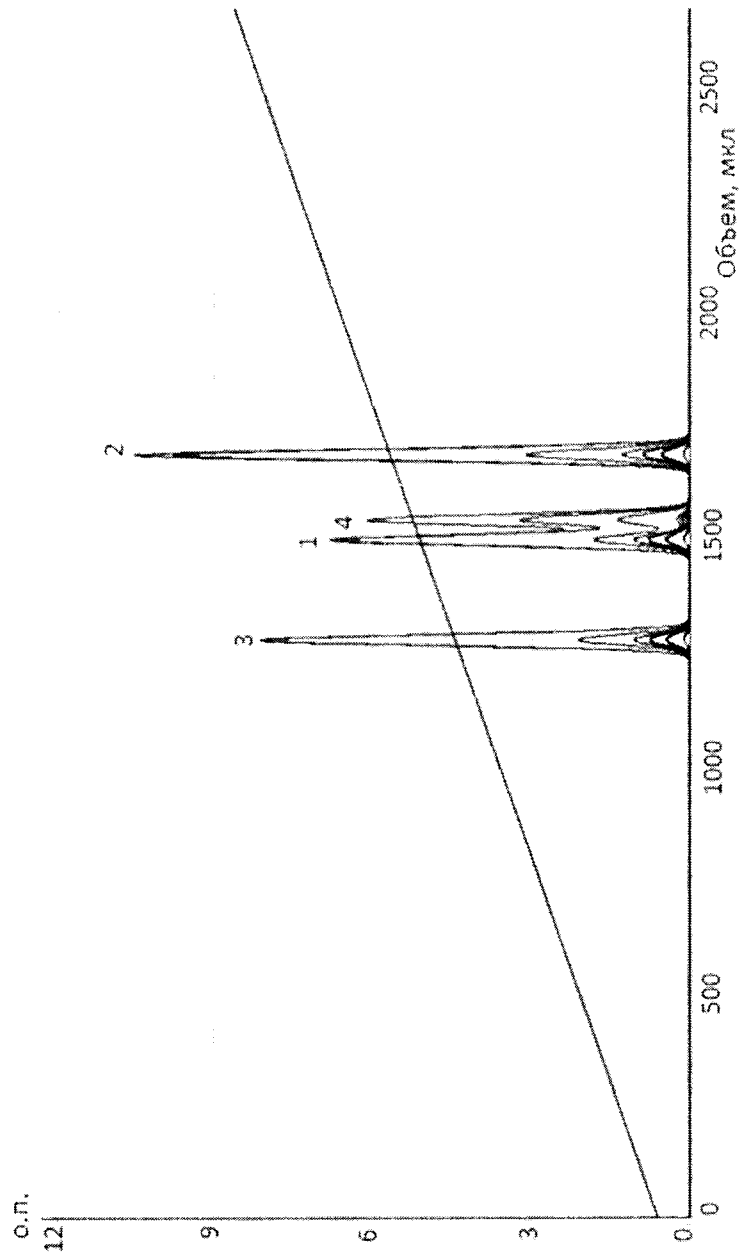
(V/a-d)

$R_1, R_2 =$ (a) H, (b) COCH_3 , (c) $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$, (d) Combinatorial sum a+b+c

Фиг.2



Фиг.3



Фиг.4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/RU 2017/000920

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
see the supplemental sheet		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
A61K, A61P, C40B		
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)		
EAPATIS, PatSearch, PubMed, RUPTO, USPTO, ESP@GENET		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2016/205695 A1 (FALLER DOUGLAS V.) 22.12.2016, claims 1,17, [0023], [0019], [0066]	1-8
Y	WO 2013/119825 A1 (DE BENEDETTI ARRIGO et al.) 15.08.2013, claim 7, [00159]	1-8
Y	SANTO SH KUMAR MAURYA ET AL. ANTIDYSLIPIDAEMIC ACTIVITY OF GLYCYRRHIZA GLABRA IN HIGH FRUCTOSE DIET INDUCED DSYSLIPIDAEMIC SYRIAN GOLDEN HAMSTERS/ Indian Journal of Clinical Biochemistry J4° 24 (4), 2009, p. 404-409, abstract, table 1	1-8
Y	WO 97/34619 A1 (NEW YOK BLOOD CENTER et al.) 25.09.1997, table 1, example 1	1-8
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents:		
“A”	document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	“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
“E”	earlier application or patent but published on or after the international filing date	“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
“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)	“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
“O”	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	“&” document member of the same patent family
“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	Date of mailing of the international search report	
15 August 2018 (15.08.2018)	06 September 2018 (06.09.2018)	
Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer	
Facsimile No.	Telephone No.	

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/522 (2006.01)

A61K 31/353 (2006.01)

A61K 31/47 (2006.01)

A61K 31/352 (2006.01)

A61K 47/12 (2006.01)

A61P 31/22 (2006.01)

C40B 40/04 (2006.01)

ОТЧЕТ О МЕЖДУНАРОДНОМ ПОИСКЕ

Номер международной заявки

PCT/RU 2017/000920

<p>A. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ (см. дополнительный лист)</p> <p>Согласно Международной патентной классификации МПК</p>																
<p>B. ОБЛАСТЬ ПОИСКА</p> <p>Проверенный минимум документации (система классификации с индексами классификации)</p> <p style="text-align: center;">A61K, A61P, C40B</p> <p>Другая проверенная документация в той мере, в какой она включена в поисковые подборки</p> <p>Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины)</p> <p style="text-align: center;">EAPATIS, PatSearch, PubMed, RUPTO, USPTO, ESP@CENET</p>																
<p>C. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ:</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Категория*</th> <th>Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей</th> <th>Относится к пункту №</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Y</td> <td>WO 2016/205695 A1 (FALLER DOUGLAS V.) 22.12.2016, пункты 1,17 формулы, [0023], [0019], [0066]</td> <td>1-8</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>WO 2013/119825 A1 (DE BENEDETTI ARRIGO et al.) 15.08.2013, пункт 7 формулы, [00159]</td> <td>1-8</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>SANTOSH KUMAR MAURYA ET AL. ANTIDYSLIPIDAEMIC ACTIVITY OF GLYCYRRHIZA GLABRA IN HIGH FRUCTOSE DIET INDUCED DSYSLIPIDAEMIC SYRIAN GOLDEN HAMSTERS/ Indian Journal of Clinical Biochemistry № 24 (4), 2009, с.с. 404-409, реферат, таблица 1</td> <td>1-8</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>WO 97/34619 A1 (NEW YOK BLOOD CENTER et al.) 25.09.1997, таблица 1, пример 1</td> <td>1-8</td> </tr> </tbody> </table>		Категория*	Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №	Y	WO 2016/205695 A1 (FALLER DOUGLAS V.) 22.12.2016, пункты 1,17 формулы, [0023], [0019], [0066]	1-8	Y	WO 2013/119825 A1 (DE BENEDETTI ARRIGO et al.) 15.08.2013, пункт 7 формулы, [00159]	1-8	Y	SANTOSH KUMAR MAURYA ET AL. ANTIDYSLIPIDAEMIC ACTIVITY OF GLYCYRRHIZA GLABRA IN HIGH FRUCTOSE DIET INDUCED DSYSLIPIDAEMIC SYRIAN GOLDEN HAMSTERS/ Indian Journal of Clinical Biochemistry № 24 (4), 2009, с.с. 404-409, реферат, таблица 1	1-8	Y	WO 97/34619 A1 (NEW YOK BLOOD CENTER et al.) 25.09.1997, таблица 1, пример 1	1-8
Категория*	Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №														
Y	WO 2016/205695 A1 (FALLER DOUGLAS V.) 22.12.2016, пункты 1,17 формулы, [0023], [0019], [0066]	1-8														
Y	WO 2013/119825 A1 (DE BENEDETTI ARRIGO et al.) 15.08.2013, пункт 7 формулы, [00159]	1-8														
Y	SANTOSH KUMAR MAURYA ET AL. ANTIDYSLIPIDAEMIC ACTIVITY OF GLYCYRRHIZA GLABRA IN HIGH FRUCTOSE DIET INDUCED DSYSLIPIDAEMIC SYRIAN GOLDEN HAMSTERS/ Indian Journal of Clinical Biochemistry № 24 (4), 2009, с.с. 404-409, реферат, таблица 1	1-8														
Y	WO 97/34619 A1 (NEW YOK BLOOD CENTER et al.) 25.09.1997, таблица 1, пример 1	1-8														
<p><input type="checkbox"/> последующие документы указаны в продолжении графы C. <input type="checkbox"/> данные о патентах-аналогах указаны в приложении</p>																
<table border="1"> <tr> <td>* Особые категории ссылочных документов:</td> <td>“Т” более поздний документ, опубликованный после даты международной подачи или приоритета, но приведенный для понимания принципа или теории, на которых основывается изобретение</td> </tr> <tr> <td>“А” документ, определяющий общий уровень техники и не считающийся особо релевантным</td> <td>“Х” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает новизной или изобретательским уровнем, в сравнении с документом, взятым в отдельности</td> </tr> <tr> <td>“Е” более ранняя заявка или патент, но опубликованная на дату международной подачи или после нее</td> <td>“У” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает изобретательским уровнем, когда документ взят в сочетании с одним или несколькими документами той же категории, такая комбинация документов очевидна для специалиста</td> </tr> <tr> <td>“L” документ, подвергающий сомнению притязание(я) на приоритет, или который приводится с целью установления даты публикации другого ссылочного документа, а также в других целях (как указано)</td> <td>“&” документ, являющийся патентом-аналогом</td> </tr> <tr> <td>“О” документ, относящийся к устному раскрытию, использованию, экспонированию и т.д.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>“Р” документ, опубликованный до даты международной подачи, но после даты испрашиваемого приоритета</td> <td></td> </tr> </table>		* Особые категории ссылочных документов:	“Т” более поздний документ, опубликованный после даты международной подачи или приоритета, но приведенный для понимания принципа или теории, на которых основывается изобретение	“А” документ, определяющий общий уровень техники и не считающийся особо релевантным	“Х” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает новизной или изобретательским уровнем, в сравнении с документом, взятым в отдельности	“Е” более ранняя заявка или патент, но опубликованная на дату международной подачи или после нее	“У” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает изобретательским уровнем, когда документ взят в сочетании с одним или несколькими документами той же категории, такая комбинация документов очевидна для специалиста	“L” документ, подвергающий сомнению притязание(я) на приоритет, или который приводится с целью установления даты публикации другого ссылочного документа, а также в других целях (как указано)	“&” документ, являющийся патентом-аналогом	“О” документ, относящийся к устному раскрытию, использованию, экспонированию и т.д.		“Р” документ, опубликованный до даты международной подачи, но после даты испрашиваемого приоритета				
* Особые категории ссылочных документов:	“Т” более поздний документ, опубликованный после даты международной подачи или приоритета, но приведенный для понимания принципа или теории, на которых основывается изобретение															
“А” документ, определяющий общий уровень техники и не считающийся особо релевантным	“Х” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает новизной или изобретательским уровнем, в сравнении с документом, взятым в отдельности															
“Е” более ранняя заявка или патент, но опубликованная на дату международной подачи или после нее	“У” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает изобретательским уровнем, когда документ взят в сочетании с одним или несколькими документами той же категории, такая комбинация документов очевидна для специалиста															
“L” документ, подвергающий сомнению притязание(я) на приоритет, или который приводится с целью установления даты публикации другого ссылочного документа, а также в других целях (как указано)	“&” документ, являющийся патентом-аналогом															
“О” документ, относящийся к устному раскрытию, использованию, экспонированию и т.д.																
“Р” документ, опубликованный до даты международной подачи, но после даты испрашиваемого приоритета																
<p>Дата действительного завершения международного поиска</p> <p style="text-align: center;">15 августа 2018 (15.08.2018)</p>	<p>Дата отправки настоящего отчета о международном поиске</p> <p style="text-align: center;">06 сентября 2018 (06.09.2018)</p>															
<p>Наименование и адрес ISA/RU: Федеральный институт промышленной собственности, Бережковская наб., 30-1, Москва, Г-59, ГСП-3, Россия, 125993 Факс: (8-495) 531-63-18, (8-499) 243-33-37</p>	<p>Уполномоченное лицо: Пучинина М.М. Телефон № (8-499) 240-25-91</p>															

ОТЧЕТ О МЕЖДУНАРОДНОМ ПОИСКЕ
Классификация предмета изобретения

Номер международной заявки

PCT/RU 2017/000920

A61K 31/522 (2006.01)
A61K 31/353 (2006.01)
A61K 31/47 (2006.01)
A61K 31/352 (2006.01)
A61K 47/12 (2006.01)
A61P 31/22 (2006.01)
C40B 40/04 (2006.01)