(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202292249 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.12.09

(22) Дата подачи заявки
2021.03.02

(51) Int. Cl. ***A61K 38/12*** (2006.01)
A61K 31/56 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)

(54) СОЕДИНЕНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ЛЕЧЕНИИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

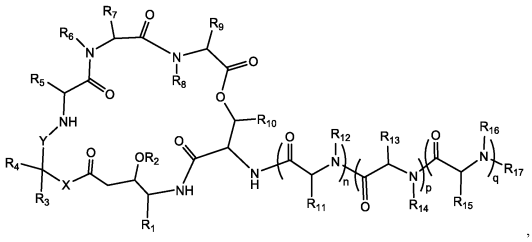
(31) **20382152.5; 20382192.1; 20382266.3; 20382339.8; 20382815.7; 20382816.5**
(32) **2020.03.02; 2020.03.13; 2020.04.02; 2020.04.27; 2020.09.16; 2020.09.16**
(33) **EP**
(86) **PCT/EP2021/055137**
(87) **WO 2021/175826 2021.09.10**

(71) Заявитель:
ФАРМА МАР, С.А. (ES)

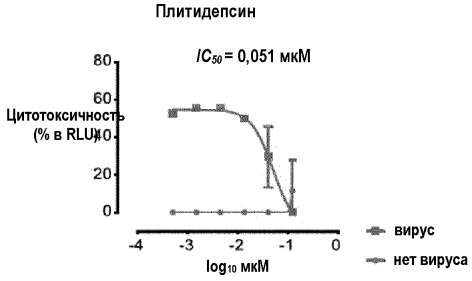
(72) Изобретатель:
Фернандес Соуса-Фаро Хосе Мария, Авилес Марин Пабло, Лосада Гонсалес Алехандро, Фудио Муньос Сальвадор (ES)

(74) Представитель:
Поликарпов А.В., Соколова М.В., Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатьев А.В., Билык А.В., Дмитриев А.В., Бучака С.М., Бельтюкова М.В. (RU)

(57) Соединение общей формулы I



где X, Y, n, p, q и R_1-R_{17} принимают различные значения, для применения в лечении коронавирусной инфекции.



202292249 A1

202292249 A1

PCT/EP2021/055137 ***A61K 38/12*** (2006.01) ***A61P 31/12*** (2006.01)
A61K 31/56 (2006.01)

СОЕДИНЕНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ЛЕЧЕНИИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к лечению коронавирусной инфекции.

ПРЕДШЕСТВУЮЩИЙ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Коронавирусы (CoV) представляют собой оболочечные вирусы с одноцепочечной положительной смысловой РНК (рибонуклеиновая кислота) с геномами длиной в диапазоне от 26,2 до 31,7 тысяч пар оснований. Этот большой кэпированный и полиаденилированный геном содержит семь общих генов коронавирусов в следующей консервативной последовательности: 5'-ORF1a-ORF1b-S-ORF3-E-M-N-3'. ORF1a/b продуцирует полноразмерную мРНК (мРНК1), которая кодирует два перекрывающихся вирусных белка - репликазы в виде полипротеинов 1a (pp1a) и pp1ab. Эти полипротеины подвергаются аутопротеолизу под действием кодируемых вирусом протеаз до зрелых неструктурных белков (от nsp1 до nsp16), которые собираются с образованием ассоциированного с мембраной транскрипционного комплекса вирусной репликации (RTC). Последняя треть генома продуцирует субгеномные (sg) мРНК, которые кодируют четыре структурных белка: шип (S), оболочку (E), мембрану (M) и нуклеокапсид (N), а также ряд акцессорных белков. CoV относятся к подсемейству *Coronavirinae* семейства *Coronaviridae* порядка *Nidovirales*. Семейство включает четыре рода: α-коронавирусы, β-коронавирусы, γ-коронавирусы и δ-коронавирусы. SARS (тяжелый острый респираторный синдром)-CoV-2 и SARS-CoV относятся к родам β-коронавирусов, и их геномы совпадают приблизительно на 80%. N-белок коронавируса в большом количестве продуцируется внутри инфицированных клеток. N-белок выполняет несколько функций, включая связывание с вирусной РНК с образованием спирального рибонуклеокапсида, и играет структурную роль в сборке коронавируса. Также предполагают, что N-белок играет роль в репликации, транскрипции и трансляции вируса.

Коронавирусы (CoV) инфицируют различных хозяев: людей и животных, вызывая заболевания, которые варьируются от инфекций желудочно-кишечного тракта, энцефалита и демиелинизации у животных до, как правило, относительно легких инфекций верхних дыхательных путей у людей. Однако зоонозные коронавирусы,

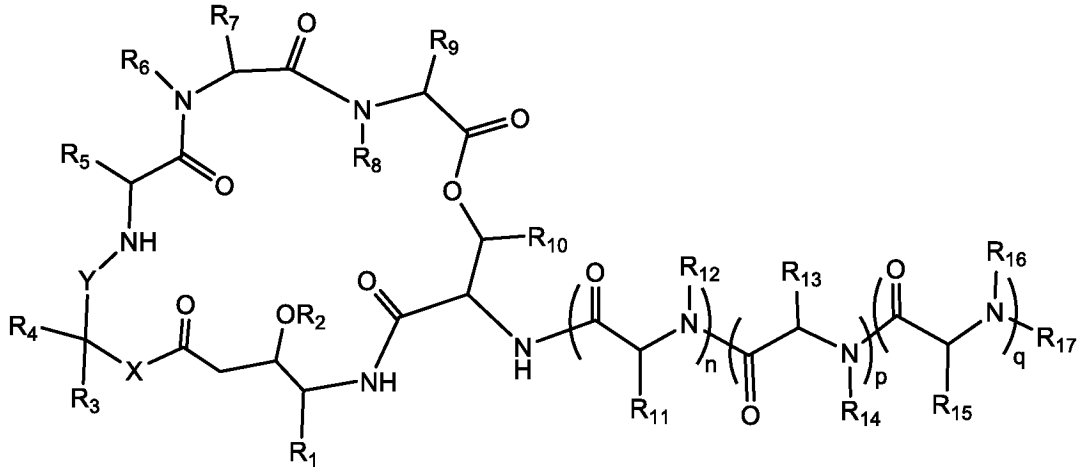
SARS-CoV, MERS CoV и уханьский коронавирус (2019-nCoV, недавно переименованный в SARS-CoV-2) могут вызывать тяжелые заболевания и смерть. Заболевание, вызванное SARS-CoV-2, называют коронавирусной инфекцией 2019 или COVID-19.

ВОЗ (Всемирная организация здравоохранения) объявила вспышку коронавируса в 2019-2020 годах чрезвычайной ситуацией в области общественного здравоохранения, имеющей международное значение (PHEIC). По состоянию на 12 февраля 2021 года, по данным ВОЗ, было зарегистрировано 107252265 случаев заболевания SARS-CoV-2, в том числе 2355339 случаев смерти. Не существует специфического лечения инфекции SARS-CoV, включая SARS-Cov (которая вызывает SARS) и SARS-CoV-2 (которая вызывает COVID-19). Разработан и с декабря 2020 года одобрен ряд вакцин для иммунизации людей с целью предупреждения COVID-19. Однако из-за мутации вируса, темпов вакцинации и/или других факторов сохраняется высокий уровень госпитализации пациентов с COVID-19.

Таким образом, существует острая неудовлетворенная медицинская потребность в лечении коронавирусной инфекции и, в частности, в лечении COVID-19. Настоящее изобретение направлено на удовлетворение этой потребности. Кроме того, также существует потребность в лечении, которое не нацелено на вирусные белки и, следовательно, является эффективным в отношении вариантов SARS-CoV. Настоящее изобретение также направлено на удовлетворение этой потребности.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В одном аспекте настоящее изобретение относится к соединению общей формулы I или его фармацевтически приемлемым соли или стереоизомеру,



(**I**),

где X выбран из O и NH;

Y выбран из CO и -COCH(CH_3)CO-;

каждый n и p независимо выбран из 0 и 1, и q выбран из 0, 1 и 2;

каждый R_1, R_3, R_5, R_9, R_{11} и R_{15} независимо выбран из водорода, замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила, замещенного или незамещенного C_2-C_6алкенила и замещенного или незамещенного C_2-C_6алкинила;

R_2 выбран из водорода, CORa, COORa, замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила, замещенного или незамещенного C_2-C_6алкенила и замещенного или незамещенного C_2-C_6алкинила;

каждый R_4, R_8, R_{10}, R_{12} и R_{16} независимо выбран из водорода и замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила;

каждый R_7 и R_{13} независимо выбран из водорода, замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила, замещенного или незамещенного C_2-C_6алкенила и замещенного или незамещенного C_2-C_6алкинила; каждый R_6 и R_{14} независимо выбран из водорода и замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила; или R_6 и R_7 и/или R_{13} и R_{14} вместе с соответствующим атомом N и атомом C, к которым они присоединены, могут образовывать замещенную или незамещенную гетероциклическую группу;

R_{17} выбран из водорода, CORa, COORa, CONHRb, COSRc, (C=NRb)ORa, (C=NRb)NHRb, (C=NRb)SRc, (C=S)ORa, (C=S)NHRb, (C=S)SRc, SO_2Rc, SO_3Rc, замещенного или незамещенного C_1-C_{12}алкила, замещенного или незамещенного C_2-C_{12}алкенила, замещенного или незамещенного C_2-C_{12}алкинила, замещенного или незамещенного арила и замещенной или незамещенной гетероциклической группы, при условии что, когда n, p и q равны 0, тогда R_{17} не является водородом; и

каждый Ra, Rb и Rc независимо выбран из водорода, замещенного или незамещенного C_1-C_{12}алкила, замещенного или незамещенного C_2-C_{12}алкенила, замещенного или незамещенного C_2-C_{12}алкинила, замещенного или незамещенного арила и замещенной или незамещенной гетероциклической группы;

для применения в лечении коронавирусной (CoV) инфекции.

В одном конкретном аспекте соединение общей формулы I представляет собой PLD (плитидепсин) или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер.

В другом аспекте настоящее изобретение также относится к фармацевтической композиции, содержащей соединение, как определено здесь, и фармацевтически приемлемый носитель, для применения в лечении коронавирусной инфекции.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к применению соединения, как определено здесь, в изготовлении лекарственного средства для лечения коронавирусной инфекции.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения любого млекопитающего, предпочтительно человека, страдающего коронавирусной инфекцией, включающему введение нуждающемуся в этом индивидууму терапевтически эффективного количества соединения, как определено здесь.

В другом аспекте изобретения предложено соединение, как определено здесь, для применения в лечении COVID-19. В частности, согласно настоящему изобретению предложен PLD для применения в лечении COVID-19. COVID-19 является заболеванием, возникающим в результате инфицирования SARS-CoV-2.

В другом аспекте изобретения предложено соединение, как определено здесь, для применения в лечении пневмонии, вызванной COVID-19. В частности, согласно настоящему изобретению предложен PLD для применения в лечении пневмонии, вызванной COVID-19. В другом аспекте изобретения предложено соединение, как определено здесь, для применения в лечении острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), вызванного COVID-19. В частности, согласно настоящему изобретению предложен PLD для применения в лечении ОРДС, вызванного COVID-19.

В другом аспекте изобретения предложено соединение, как определено здесь, для применения в уменьшении осложнений, связанных с коронавирусной инфекцией, включая госпитализацию, попадание в реанимационное отделение и смерть.

В другом аспекте изобретения предложено соединение, как определено здесь, для применения в профилактике, купировании или лечении персистирующего COVID (также известного как долгий COVID или пост-COVID-синдром).

В другом аспекте изобретения предложено соединение, как определено здесь, для применения в снижении инфекционности пациентов с CoV. Пациенты могут быть бессимптомными или еще малосимптомными пациентами. В другом аспекте изобретения предложено соединение, как определено здесь, для применения в уменьшении частоты возникновения суперконтагаторов (бессимптомные или малосимптомные пациенты с высокой вирусной нагрузкой (например ТС менее 25)).

В другом аспекте изобретения предложено соединение, как определено здесь, для применения в лечении коронавирусной (CoV) инфекции (включая лечение COVID-19, лечение пневмонии, вызванной COVID-19, и любое из применений, как определено

здесь), при котором соединение вводят в комбинации с кортикостероидом. В конкретном воплощении предложен PLD для применения в лечении коронавирусной (CoV) инфекции (включая лечение COVID-19, лечение пневмонии, вызванной COVID-19, и любое из применений, как определено здесь), при котором соединение вводят в комбинации с дексаметазоном. Соединение и кортикостероид могут быть введены одновременно, раздельно или последовательно.

В другом аспекте изобретения предложен кортикостероид для применения в лечении коронавирусной (CoV) инфекции (включая лечение COVID-19, лечение пневмонии, вызванной COVID-19, и любое из применений, как определено здесь), при котором кортикостероид вводят в комбинации с соединением по настоящему изобретению.

В другом аспекте изобретения предложено соединение, как определено здесь, и кортикостероид для применения в лечении коронавирусной (CoV) инфекции (включая лечение COVID-19, лечение пневмонии, вызванной COVID-19, и любое из применений, как определено здесь).

В другом аспекте предложен способ лечения коронавирусной (CoV) инфекции (включая лечение COVID-19, лечение пневмонии, вызванной COVID-19, и любое из применений, как определено здесь), включающий введение комбинации соединения по настоящему изобретению и кортикостероида.

В другом аспекте схемы введения, раскрытые здесь, используют в способах лечения по настоящему изобретению.

В другом аспекте схемы введения, раскрытые здесь, используют при применении соединения по настоящему изобретению в изготовлении лекарственного средства для лечения, как определено здесь.

В другом аспекте предложено применение соединения, как определено здесь, в изготовлении лекарственного средства для лечения коронавирусной инфекции; где указанное лечение включает введение кортикостероида.

В другом аспекте предложено применение кортикостероида в изготовлении лекарственного средства для лечения коронавирусной инфекции; где указанное лечение включает введение соединения, как определено здесь.

В другом аспекте предложено применение соединения, как определено здесь, и кортикостероида в изготовлении лекарственного средства для лечения коронавирусной инфекции.

В другом аспекте предложена фармацевтическая упаковка, содержащая соединение, как определено здесь, и кортикостероид, возможно дополнительно содержащая инструкции.

В другом аспекте предложен набор, содержащий соединение, как определено здесь, вместе с инструкциями по лечению коронавирусных инфекций. В другом аспекте предложен набор, содержащий соединение, как определено здесь, и кортикостероид вместе с инструкциями по лечению коронавирусных инфекций.

Следующие воплощения применимы ко всем аспектам настоящего изобретения.

R_3 и R_4 могут быть независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила. R_3 может представлять собой изопропил, а R_4 может представлять собой водород. R_3 и R_4 могут представлять собой метил (это соединение также называют соединением общей формулы **II**).

R_{11} может быть выбран из водорода и замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила. R_{11} может представлять собой метил или изобутил. R_{11} может представлять собой метил, а n равен 1 (это соединение также называют соединением общей формулы **III**).

R_1, R_5, R_9 и R_{15} могут быть независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила. R_1 может быть выбран из *втор*-бутила и изопропила, R_5 может представлять собой изобутил, R_9 может представлять собой *пара*-метоксибензил, а R_{15} может быть выбран из метила и бензила.

R_8, R_{10}, R_{12} и R_{16} могут быть независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила. R_8, R_{10} и R_{12} могут представлять собой метил, а R_{16} может представлять собой водород.

R_6 и R_{14} могут быть независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила. R_6 может быть выбран из водорода и метила, а R_{14} может представлять собой водород.

R_7 и R_{13} могут быть независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила. R_7 может представлять собой метил, а R_{13} может быть выбран из водорода, метила, изопропила, изобутила и 3-амино-3-оксопропила.

R_6 и R_7 и/или R_{13} и R_{14} вместе с соответствующим атомом N и атомом C, к которым они присоединены, могут образовывать замещенную или незамещенную пирролидиновую группу.

R_2 может быть выбран из водорода, замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила и COR_a, где R_a может представлять собой замещенный или незамещенный C_1-C_6алкил. R_2 может представлять собой водород.

R_{17} может быть выбран из водорода, COR_a, $COOR_a$, $CONHR_b$, $(C=S)NHR_b$ и SO_2R_c, где каждый R_a, R_b и R_c может быть независимо выбран из замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила, замещенного или незамещенного C_2-C_6алкенила, замещенного или незамещенного C_2-C_6алкинила, замещенного или незамещенного арила и замещенной или незамещенной гетероциклической группы. R_{17} может быть выбран из водорода, СООбензила, СОбензо[b]тиофен-2-ила, группы SO_2(*пара*-метилфенил), $COCOCH_3$ и $COOC(CH_3)_3$.

X может представлять собой NH. X может представлять собой O. Y может представлять собой CO. Y может представлять собой -$COCH(CH_3)CO$-.

Соединение может представлять собой PLD или его фармацевтически приемлемые соли или стереоизомеры. Соединение может представлять собой PLD.

Соединение может представлять собой дидемнин B или его фармацевтически приемлемые соли или стереоизомеры. Соединение может представлять собой дидемнин B.

Применение может представлять собой применение в лечении COVID-19 и/или применение в лечении пневмонии, вызванной COVID-19.

Коронавирусная инфекция может представлять собой легкую инфекцию; и/или инфекцию средней степени тяжести; и/или тяжелую инфекцию.

Коронавирусная инфекция может представлять собой острую коронавирусную инфекцию, предпочтительно при этом коронавирусная инфекция представляет собой острую инфекцию COVID-19; и/или может представляет собой продолжающуюся симптоматическую коронавирусную инфекцию, предпочтительно при этом коронавирусная инфекция представляет собой продолжающуюся симптоматическую инфекцию COVID-19; и/или может представлять собой постковидный синдром, персистирующий ковид или долгий ковид; предпочтительно при этом коронавирусная инфекция представляет собой пост-COVID-19-синдром, персистирующий COVID-19 или долгий COVID-19. Постковидный синдром, персистирующий ковид или долгий ковид может включать один или более чем один симптом, возникающий со стороны сердечно-сосудистой, респираторной, пищеварительной, нервной, костно-мышечной, метаболической, почечной, дерматологической, отоларингологической, кроветворной и

вегетативной систем; психические проблемы, генерализованную боль, утомляемость и/или постоянную лихорадку.

Применение может заключаться в лечении пациента с признаками и симптомами коронавирусной инфекции (предпочтительно COVID-19) в течение вплоть до 4 недель; и/или от 4 недель до 12 недель; и/или более 12 недель.

Применение может заключаться в профилактике, купировании или лечении персистирующего COVID, долгого COVID или пост-COVID-синдрома; предпочтительно, когда профилактика, купирование или лечение сводят к минимуму вероятность того, что пациент будет страдать от симптомов персистирующего COVID, долгого COVID или пост-COVID-синдрома; и/или уменьшают тяжесть таких симптомов; более предпочтительно, когда лечение сводит к минимуму симптомы коронавирусной инфекции.

Применение может снизить инфекционность пациентов с коронавирусной инфекцией; в том числе, когда пациент бессимптомен или еще малосимптомен, но имеет высокую вирусную нагрузку.

Соединение может быть введено в комбинации с кортикостероидом, предпочтительно дексаметазоном. Соединение и кортикостероид могут быть введены одновременно, раздельно или последовательно.

Соединение может быть введено согласно схеме одна доза в сутки в течение 10 суток, 9 суток, 8 суток, 7 суток, 6 суток, 5 суток, 4 суток, 3 суток, 2 суток или 1 суток; предпочтительно 2-5 суток, 3-5 суток или 3, 4 или 5 суток; наиболее предпочтительно 3 суток или 5 суток; наиболее предпочтительно 3 суток.

Соединение может быть введено в дозе 5 мг в сутки или менее; 4,5 мг в сутки или менее; 4 мг в сутки или менее; 3,5 мг в сутки или менее; 3 мг в сутки или менее; 2,5 мг в сутки или менее или 2 мг в сутки или менее; 0,5 мг/сутки, 1 мг/сутки, 1,5 мг/сутки, 2 мг/сутки, 2,5 мг/сутки, 3 мг/сутки, 3,5 мг/сутки, 4 мг/сутки, 4,5 мг/сутки или 5 мг/сутки; предпочтительно 1 мг/сутки, 1,5 мг/сутки, 2 мг/сутки или 2,5 мг/сутки; предпочтительно 1,5-2,5 мг/сутки; более предпочтительно 1,5 мг/сутки, 2 мг/сутки или 2,5 мг/сутки.

Соединение может быть введено в общей дозе 1-50 мг, 1-40 мг, 1-30 мг, 1-20 мг, 1-15 мг, 3-15 мг, 3-12 мг, 4-12 мг, 4-10 мг или 4,5-10 мг; 4 мг, 4,5 мг, 5 мг, 5,5 мг, 6 мг, 6,5 мг, 7 мг, 7,5 мг, 8 мг, 8,5 мг, 9 мг, 9,5 мг или 10 мг; предпочтительно 4,5 мг, 5 мг, 6 мг, 7,5 мг, 8 мг, 9 мг или 10 мг; более предпочтительно 4,5-7,5 мг/сутки. Общая доза

может быть разделена на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 суток, предпочтительно на 3 или 5 суток; наиболее предпочтительно на 3 суток.

Соединение может быть введено один раз в сутки в течение 3 суток в дозе 1,5-2,5 мг/сутки. Доза может составлять 1,5 мг/сутки. Доза может составлять 2,5 мг/сутки.

Соединение может представлять собой PLD, вводимый в виде 1,5-часовой инфузии один раз в сутки в течение 3 суток подряд. 1,5 мг PLD можно вводить в виде 1,5-часовой инфузии один раз в сутки в течение 3 суток подряд. 2 мг PLD можно вводить в виде 1,5-часовой инфузии один раз в сутки в течение 3 суток подряд. 2,5 мг PLD можно вводить в виде 1,5-часовой инфузии один раз в сутки в течение 3 суток подряд. 1 мг PLD можно вводить в виде 1,5-часовой инфузии один раз в сутки в течение 5 суток подряд. 2 мг PLD можно вводить в виде 1,5-часовой инфузии один раз в сутки в течение 5 суток подряд.

Схема приема может представлять собой однократную дозу (1 сутки). Соединение может быть введено в виде однократной дозы 1-10 мг, 4-10 мг, 4,5-10 мг; 4 мг, 4,5 мг, 5 мг, 5,5 мг, 6 мг, 6,5 мг, 7 мг, 7,5 мг, 8 мг, 8,5 мг, 9 мг, 9,5 мг или 10 мг; предпочтительно 4,5 мг, 5 мг, 6 мг, 7,5 мг, 8 мг, 9 мг или 10 мг; более предпочтительно 5-9 мг, 6,5-8,5 мг, 7-8 мг или 7,5 мг. Соединение может представлять собой PLD, вводимый в виде однократной 1,5-часовой инфузии.

Схема однократного дозирования может быть использована со всеми видами терапии, указанными в настоящем изобретении. Схема однократного дозирования может быть использована в случаях легких инфекций. Однако схема однократного дозирования может быть использована и в случаях инфекций средней степени тяжести и/или тяжелых инфекций. Комбинированное применение с кортикостероидами (включая последующее введение кортикостероидов) может быть использовано в воплощениях по схеме однократного дозирования.

Многодневная схема приема может быть использована со всеми видами терапии, указанными в настоящем изобретении. Многодневная схема приема может быть использована в случаях инфекций средней степени тяжести и/или тяжелых инфекций. Однако многодневная схема приема также может быть использована в случаях легких инфекций.

Кортикостероид можно вводить ежедневно в те же сутки, что и введение соединения по настоящему изобретению. Кортикостероид можно вводить в одни или

несколько последующих суток. Кортикостероид можно вводить на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или последующие сутки. Кортикостероид можно вводить в более высокой дозе при введении в те же сутки, что и соединение по настоящему изобретению, и в более низкой дозе в последующие сутки. Кортикостероид может представлять собой дексаметазон.

Соединение по настоящему изобретению можно вводить в дозе по настоящему изобретению на 1-3 сутки схемы приема. Кортикостероид можно вводить внутривенно на 1-3 сутки схемы приема. После этого кортикостероид можно вводить перорально или внутривенно с 4-х по 10-е сутки (согласно заключению врача в соответствии с клиническим состоянием пациента и дальнейшим развитием клинической картины). Кортикостероид может представлять собой дексаметазон. Доза может составлять 6,6 мг/сутки внутривенно с 1 по 3 сутки (например 8 мг дексаметазона фосфата) с последующим введением 6 мг/сутки дексаметазона (например 7,2 мг дексаметазона фосфата или 6 мг дексаметазона основания) перорально или внутривенно с 4-х суток по 10-е сутки.

В воплощениях изобретения дексаметазон представляет собой дексаметазона фосфат и вводится, например, в дозе 8 мг/сутки внутривенно с 1 по 3 сутки с последующим пероральным или внутривенным введением дексаметазона в дозе 7,2 мг/сутки с 4-х суток по 10-е сутки.

Соединение по настоящему изобретению может быть введено в виде инфузии, предпочтительно 1-часовой инфузии, 1,5-часовой инфузии, 2-часовой инфузии, 3-часовой инфузии или дольше; особенно предпочтительно 1,5-часовой инфузии.

Схема приема может представлять собой введение 1,5 мг плитидепсина в виде 1,5-часовой инфузии один раз в сутки в течение 3 суток подряд; или введение 2 мг плитидепсина в виде 1,5-часовой инфузии один раз в сутки в течение 3 суток подряд; или введение 2,5 мг плитидепсина в виде 1,5-часовой инфузии один раз в сутки в течение 3 суток подряд; или введение 1 мг плитидепсина в виде 1,5-часовой инфузии один раз в сутки в течение 5 суток подряд; или введение 2 мг плитидепсина в виде 1,5-часовой инфузии один раз в сутки в течение 5 суток подряд.

Схема приема может представлять собой введение 7,5 мг плитидепсина в виде однократной 1,5-часовой инфузии на 1-е сутки.

Соединение по настоящему изобретению может быть введено с использованием нагрузочной дозы и поддерживающей дозы.

Схема приема согласно настоящему изобретению может представлять собой:

нагрузочную дозу 2,5 мг на 1-е сутки с последующим введением поддерживающей дозы 2 мг/сутки в течение последующих суток;

нагрузочную дозу 2,5 мг на 1-е сутки с последующим введением поддерживающей дозы 1,5 мг/сутки в течение последующих суток;

нагрузочную дозу 2,5 мг на 1-е сутки с последующим введением поддерживающей дозы 1 мг/сутки в течение последующих суток;

нагрузочную дозу 2,5 мг на 1-е сутки с последующим введением поддерживающей дозы 0,5 мг/сутки в течение последующих суток;

нагрузочную дозу 2 мг на 1-е сутки с последующим введением поддерживающей дозы 1,5 мг/сутки в течение последующих суток;

нагрузочную дозу 2 мг на 1-е сутки с последующим введением поддерживающей дозы 1 мг/сутки в течение последующих суток;

нагрузочную дозу 2 мг на 1-е сутки с последующим введением поддерживающей дозы 0,5 мг/сутки в течение последующих суток;

нагрузочную дозу 1,5 мг на 1-е сутки с последующим введением поддерживающей дозы 1 мг/сутки в течение последующих суток;

нагрузочную дозу 1,5 мг на 1-е сутки с последующим введением поддерживающей дозы 0,5 мг/сутки в течение последующих суток; или

нагрузочную дозу 1 мг на 1-е сутки с последующим введением поддерживающей дозы 0,5 мг/сутки в течение последующих суток.

Соединение по настоящему изобретению может быть введено в комбинации с кортикостероидом. Кортикостероид может быть введен в те же сутки, что и введение соединения.

Кортикостероид также может быть введен в одни или более чем одни последующие сутки. Например, кортикостероид вводят вместе с соединением на 1-3 сутки, а затем кортикостероид вводят в одни или более чем одни сутки 4-10.

Кортикостероид может быть введен внутривенно в те сутки, когда вводят соединение, но в последующие сутки может быть введен перорально или внутривенно.

Кортикостероид может представлять собой дексаметазон. Дексаметазон может быть введен в дозе 6,6 мг/сутки внутривенно в те сутки, когда вводят соединение.

Дексаметазон может быть введен в дозе 6 мг/сутки перорально или внутривенно в последующие сутки, предпочтительно в одни или более чем одни сутки 4, 5, 6, 7, 8, 9 и 10.

Доза дексаметазона, как определено здесь, относится к массе основного вещества. Поэтому доза может быть скорректирована, если он используется в форме соли. Например, дексаметазон может представлять собой дексаметазона фосфат, так что 8 мг/сутки эквивалентны 6,6 мг дексаметазона основания, а 7,2 мг/сутки эквивалентны 6 мг дексаметазона основания.

Соединение по настоящему изобретению, в частности PLD, может быть введено в дозе 1,5 мг/сутки внутривенно (в/в) в комбинации с 6,6 мг/сутки дексаметазона в/в на 1-3 сутки с последующим введением 6 мг/сутки дексаметазона перорально (п/о)/в/в с 4-х по 10-е сутки (согласно заключению врача в соответствии с клиническим состоянием пациента и дальнейшим развитием клинической картины).

Соединение по настоящему изобретению, в частности PLD, может быть введено в дозе 2,0 мг/сутки внутривенно (в/в) в комбинации с 6,6 мг/сутки дексаметазона в/в на 1-3 сутки с последующим введением 6 мг/сутки дексаметазона перорально (п/о)/в/в с 4-х по 10-е сутки (согласно заключению врача в соответствии с клиническим состоянием пациента и дальнейшим развитием клинической картины).

Соединение по настоящему изобретению, в частности PLD, может быть введено в дозе 2,5 мг/сутки внутривенно (в/в) в комбинации с 6,6 мг/сутки дексаметазона в/в на 1-3 сутки с последующим введением 6 мг/сутки дексаметазона перорально (п/о)/в/в с 4-х по 10-е сутки (согласно заключению врача в соответствии с клиническим состоянием пациента и дальнейшим развитием клинической картины).

Кортикостероид может быть введен за 20-30 минут до начала лечения соединением, как определено здесь.

В схемах приема согласно настоящему изобретению, предпочтительно за 20-30 минут до начала лечения соединением по настоящему изобретению, пациент может дополнительно получать следующие лекарственные препараты:

ондансетрон 8 мг внутривенно (или эквивалент);

дифенгидрамина гидрохлорид 25 мг в/в (или эквивалент); и

ранитидин 50 мг в/в (или эквивалент).

В схемах приема согласно настоящему изобретению на 4 и 5 сутки пациенты могут получать ондансетрон (или эквивалент) по 4 мг дважды в сутки п/о.

При однократном введении за 20-30 минут до инфузии плитидепсина пациенты могут получать следующие профилактические препараты:

- дифенгидрамина гидрохлорид 25 мг в/в;

- ранитидин 50 мг в/в;

- дексаметазон 6,6 мг внутривенно;

- ондансетрон 8 мг в/в в виде медленной 15-минутной инфузии.

4 мг ондансетрона перорально можно назначать каждые 12 часов в течение 3 суток после введения плитидепсина для облегчения тошноты и рвоты, вызванных лекарственными препаратами. Если плитидепсин вводят утром, пациент может получить первую дозу ондансетрона во второй половине дня.

ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Изобретение дополнительно описано в следующих неограничивающих графических материалах:

Фиг. 1 - Графическое представление противовирусной активности (-◆- RLU (относительные световые единицы)) и токсичности (-●- жизнеспособность) нескольких концентраций (мкМ) соединения 3 в клетках MT-2 (**Фиг. 1A**) и в предварительно активированных PBMC (мононуклеарные клетки периферической крови) (**Фиг. 1B**), причем и те, и другие инфицированы рекомбинантным вирусом (NL4.3 Luc). Графические представления являются по меньшей мере средним значением двух независимых экспериментов для клеток MT-2 и четырех для PBMC.

Фиг. 2 - Графическое представление противовирусной активности (-◆- RLU) и токсичности (-●- жизнеспособность) нескольких концентраций (мкМ) соединения 8 в клетках MT-2 (**Фиг. 2A**) и в предварительно активированных PBMC (**Фиг. 2B**), причем и те, и другие инфицированы рекомбинантным вирусом (NL4.3 Luc). Графические представления являются по меньшей мере средним значением двух независимых экспериментов для клеток MT-2 и четырех для PBMC.

Фиг. 3 - Графическое представление противовирусной активности (-◆- RLU) и токсичности (-■- жизнеспособность) нескольких концентраций (мкМ) соединения 9 в клетках MT-2 (**Фиг. 3A**) и в предварительно активированных PBMC (**Фиг. 3B**), причем и те, и другие инфицированы рекомбинантным вирусом (NL4.3 Luc). Графические представления являются по меньшей мере средним значением двух независимых экспериментов для клеток MT-2 и четырех для PBMC.

Фиг. 4 - Графическое представление противовирусной активности (-◆- RLU) и токсичности (-■- жизнеспособность) нескольких концентраций (мкМ) соединения 10 в клетках MT-2 (**Фиг. 4A**) и в предварительно активированных PBMC (**Фиг. 4B**), причем и те, и другие инфицированы рекомбинантным вирусом (NL4.3 Luc). Графические

представления являются по меньшей мере средним значением двух независимых экспериментов для клеток MT-2 и четырех для PBMC.

Фиг. 5 - Графическое представление противовирусной активности (-◆- RLU) и токсичности (-■- жизнеспособность) нескольких концентраций (мкМ) соединения 11 в клетках MT-2 (**Фиг. 5A**) и в предварительно активированных PBMC (**Фиг. 5B**), причем и те, и другие инфицированы рекомбинантным вирусом (NL4.3 Luc). Графические представления являются по меньшей мере средним значением двух независимых экспериментов для клеток MT-2 и четырех для PBMC.

На Фиг. 6-10 показаны флуоресцентные изображения, показывающие (a) рост клеток и (b) противовирусную активность DMSO (диметилсульфоксид) через 24 часа после инфицирования в отношении инфицированных HCoV-229E клеток Huh-7 (A1, A2, A3, A4, A5 из Таблицы 1). Можно видеть, что клетки остаются жизнеспособными, но антивирусного эффекта не наблюдается.

На Фиг. 11-14 показаны флуоресцентные изображения, показывающие (a) рост клеток и (b) противовирусную активность соединения 240 (дидемнин B) через 24 часа после инфицирования в отношении инфицированных HCoV-229E клеток Huh-7 при концентрациях 50 нМ, 5 нМ и 0,5 нМ (B1, B2, B3, B4 из Таблицы 1, соответственно). Можно видеть, что клетки остаются жизнеспособными при всех концентрациях, включая высокие концентрации; и что заметные противовирусные свойства проявляются при всех концентрациях, даже при субнаномолярных концентрациях.

На Фиг. 15-18 показаны флуоресцентные изображения, показывающие (a) рост клеток и (b) противовирусную активность PLD через 24 часа после инфицирования в отношении инфицированных HCoV-229E клеток Huh-7 при концентрациях 50 нМ, 5 нМ и 0,5 нМ (C1, C2, C3, C4 из Таблицы 1, соответственно). Снова можно видеть, что клетки остаются жизнеспособными при всех концентрациях, включая высокие концентрации; и что заметные противовирусные свойства проявляются при всех концентрациях, даже при субнаномолярных концентрациях.

На Фиг. 19-21 показаны флуоресцентные изображения, показывающие (a) рост клеток и (b) противовирусную активность соединения 9 через 24 часа после инфицирования в отношении инфицированных HCoV-229E клеток Huh-7 при концентрациях 50 нМ, 5 нМ и 0,5 нМ (D1, D2, D3 из Таблицы 1, соответственно). Снова можно видеть, что клетки остаются жизнеспособными при всех концентрациях, включая

высокие концентрации; и что заметные противовирусные свойства проявляются при всех концентрациях, даже при субнаномолярных концентрациях.

На Фиг. 22-24 показаны флуоресцентные изображения, показывающие (a) рост клеток и (b) противовирусную активность соединения 10 через 24 часа после инфицирования в отношении инфицированных HCoV-229E клеток Huh-7 при концентрациях 50 нМ, 5 нМ и 0,5 нМ (E1, E2, E3 из Таблицы 1, соответственно). Снова можно видеть, что клетки остаются жизнеспособными при всех концентрациях, включая высокие концентрации; и что заметные противовирусные свойства проявляются при всех концентрациях, даже при субнаномолярных концентрациях.

На Фиг. 25-28 показаны флуоресцентные изображения, показывающие (a) рост клеток и (b) противовирусную активность PLD (вторая серия) через 24 часа после инфицирования в отношении инфицированных HCoV-229E клеток Huh-7 при концентрациях 50 нМ, 5 нМ и 0,5 нМ (F1, F2, F3, F4 из Таблицы 1, соответственно). Снова можно видеть, что клетки остаются жизнеспособными при всех концентрациях, включая высокие концентрации; и что заметные противовирусные свойства проявляются при всех концентрациях, даже при субнаномолярных концентрациях.

На Фиг. 29 и 30 показаны профили общей концентрации в плазме в зависимости от времени, предсказанные для режимов дозирования и введения согласно настоящему изобретению.

На Фиг. 31 показаны профили общей концентрации в плазме в зависимости от времени, предсказанные для дополнительных режимов дозирования и введения согласно настоящему изобретению.

На Фиг. 32 показаны кривые зависимости доза-эффект, показывающие противовирусный эффект плитидепсина на SARS-CoV-2 в клетках Vero.

На Фиг. 33 показаны кривые зависимости доза-эффект, показывающие противовирусный эффект плитидепсина на SARS-CoV-2 в клетках Vero.

На Фиг. 34 показаны рентгеновские снимки, показывающие влияние введения PLD на пациента с двусторонней пневмонией.

На Фиг. 35 показаны рентгеновские снимки, показывающие влияние введения PLD на пациента с односторонней пневмонией.

На Фиг. 36 показаны тесты на С-реактивный белок у пациентов, получавших PLD.

На Фиг. 37 показаны log (логарифмы) вирусной нагрузки Пациента 4 (Фиг. 37a), Пациента 5 (Фиг. 37b), Пациента 6 (Фиг. 37c) и Пациента 7 (Фиг. 37d). Пациентам

вводили PLD в виде 90-минутной внутривенной инфузии ежедневно в течение 3 суток подряд (1-3 сутки) с определением вирусной нагрузки с помощью ПЦР (полимеразная цепная реакция) на исходном уровне, на 4-е, 7-е, 15-е и 31-е сутки.

На Фиг. 38 показаны профили общей концентрации против концентрации в плазме для однократной дозы плитидепсина 7,5 мг и 1,5, 2,0 и 2,5 мг на 1-3 сутки с использованием 1,5-часовой инфузии.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Далее настоящее изобретение будет описано дополнительно. В следующих частях различные аспекты изобретения определены более подробно. Каждый аспект, определенный таким образом, может быть объединен с любым другим аспектом или аспектами, или воплощением или воплощениями, если явно не указано иное. В частности, любой признак, указанный как предпочтительный или полезный, может быть объединен с любым другим признаком или признаками, указанными как предпочтительные или полезные.

В настоящей заявке используется ряд общих терминов и фраз, которые следует интерпретировать следующим образом.

Термин «лечение», используемый здесь, если не оговорено особо, означает регрессию, ослабление, облегчение или подавление прогрессирования заболевания или состояния, к которому такой термин применим, или одного или более чем одного симптома такого расстройства или состояния. Используемый здесь термин «лечение» может также включать профилактическое лечение, то есть лечение, предназначенное для предотвращения возникновения заболевания или сведения к минимуму вероятности возникновения заболевания.

«Лечить», «лечение» и «излечение» в контексте вирусной инфекции могут относиться к одному или более чем одному из следующего: (1) уменьшение числа инфицированных клеток; (2) снижение количества вирионов, присутствующих в сыворотке, включая снижение вирусного титра (который можно измерить с помощью количественной ПЦР); (3) ингибирование (то есть до некоторой степени замедление, предпочтительно прекращение) скорости репликации вируса; (4) снижение нагрузки вирусной РНК; (5) снижение титра инфекционности вируса (количества вирусных частиц, способных внедриться в клетку-хозяина); и (6) облегчение или уменьшение до некоторой степени одного или более чем одного симптома, связанного с вирусной инфекцией. Это может включать воспаление, связанное с вирусной инфекцией.

Лечение может заключаться в лечении коронавирусной инфекции. Лечение может заключаться в лечении SARS-CoV-2 инфекции. Лечение может заключаться в лечении инфекции COVID-19. Лечение может представлять собой лечение COVID-19. Лечение может представлять собой лечение заболевания, возникающего в результате инфицирования CoV. Лечение может представлять собой лечение заболевания, возникающего в результате инфицирования SARS-CoV-2. Лечение может представлять собой лечение пневмонии, вызванной инфицированием CoV. Лечение может представлять собой лечение пневмонии, вызванной инфицированием SARS-CoV-2. Лечение может представлять собой лечение пневмонии, вызванной инфицированием COVID-19. Лечение может представлять собой лечение пневмонии, вызванной COVID-19. Аналогично, лечение может представлять собой лечение острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), вызванного инфицированием SARS-CoV-2 или COVID-19.

Инфекция может представлять собой инфекцию средней степени тяжести. Инфекция может представлять собой тяжелую инфекцию. Инфекция может представлять собой легкую инфекцию.

Лечение может уменьшать осложнения, связанные с коронавирусной инфекцией, включая госпитализацию, попадание в отделение интенсивной терапии и смерть.

Настоящее изобретение может быть полезно в лечении острой инфекции COVID-19 (признаки и симптомы COVID-19 вплоть до 4 недель); лечении (или минимизации) текущих симптомов COVID-19 (признаки и симптомы COVID-19 от 4 недель до 12 недель); или лечении или минимизации пост-COVID-19-синдрома (признаки и симптомы, которые развиваются во время или после инфекции, характерные для COVID-19, продолжаются в течение более 12 недель и не объясняются альтернативным диагнозом. Обычно он проявляется кластерами симптомов, часто накладывающихся друг на друга, которые могут колебаться и меняться с течением времени и могут влиять на любую систему организма. Пост-COVID-19-синдром можно заподозрить до 12 недель, при этом также оценивается возможность наличия другого основного заболевания). С помощью соединений по настоящему изобретению можно лечить пациента с признаками и симптомами COVID-19 вплоть до 4 недель. С помощью соединений по настоящему изобретению можно лечить пациента с признаками и симптомами COVID-19 в течение периода от 4 до 12 недель. С помощью соединений по настоящему изобретению можно лечить пациента с признаками и симптомами COVID-19 в течение более 12 недель.

Лечение может заключаться в профилактике, купировании или лечении персистирующего COVID (также известного как долгий COVID или пост-COVID-синдром). Соединения по настоящему изобретению могут свести к минимуму вероятность того, что пациент будет страдать от стойких симптомов COVID. Соединения по настоящему изобретению могут альтернативно уменьшать тяжесть таких симптомов, предпочтительно могут минимизировать симптомы коронавирусной инфекции.

Пост-COVID-синдром можно рассматривать как признаки и симптомы, развивающиеся во время или после инфекции, характерные для COVID-19, которые продолжаются более 12 недель и не объясняются альтернативным диагнозом. Состояние обычно проявляется кластерами симптомов, часто перекрывающихся, которые могут меняться со временем и могут влиять на любую систему организма. Многие люди с пост-COVID-синдромом также могут испытывать генерализованную боль, усталость, постоянную высокую температуру и психические проблемы. Симптомы включают (но не ограничиваются ими) симптомы, возникающие со стороны сердечно-сосудистой, респираторной, пищеварительной, нервной, костно-мышечной, метаболической, почечной, дерматологической, отоларингологической, кроветворной и вегетативной систем, в дополнение к психическим проблемам, генерализованной боли, утомляемости и персистирующей лихорадке.

Лечение может снижать инфекционность пациентов с CoV. Настоящее изобретение обеспечивает быстрое и значительное снижение вирусной нагрузки. Снижение вирусной нагрузки может снизить инфекционность пациентов. Это особенно полезно для пациентов, которые бессимптомны или еще малосимптомны, но имеют высокую вирусную нагрузку (например TC менее 25). Такие пациенты могут являться суперконтагаторами или суперраспространителями. Введение соединений по настоящему изобретению при обнаружении инфекции может снизить вирусную нагрузку и, следовательно, снизить инфекционность пациента.

Лечение может приводить к снижению вирусной нагрузки. Это может быть выражено в виде значения порогового цикла репликации (Ct), превышающего 30 (Ct более 30), на 6-е сутки после введения. Лечение может снижать вирусную нагрузку по сравнению с исходным уровнем. Это может быть выражено в виде снижения процента пациентов, нуждающихся в госпитализации после введения. Это может быть выражено в виде снижения процента пациентов, которым требуется инвазивная искусственная вентиляция легких и/или госпитализация в отделение интенсивной терапии после

введения. Это может быть выражено в виде уменьшения числа пациентов, у которых развиваются последствия, связанные с персистирующим заболеванием. Это может быть выражено в виде увеличения процента пациентов с нормализацией аналитических показателей, выбранных в качестве критериев неблагоприятного прогноза (включая, например лимфопению, ЛДГ (лактатдегидрогеназа), D-димер или ПЦР). Это может быть выражено в виде увеличения процента пациентов с нормализацией клинических критериев (исчезновение симптомов), включая, например: головную боль, лихорадку, кашель, утомляемость, одышку (затруднение дыхания), артромиалгию или диарею.

«Пациент» включает людей, не относящихся к человеку млекопитающих (например собак, кошек, кроликов, крупный рогатый скот, лошадей, овец, коз, свиней, оленей и тому подобных) и не млекопитающих (например птиц и тому подобных). Пациенту может потребоваться госпитализация для лечения инфекции.

Плитидепсин (PLD) представляет собой циклический депсипептид, первоначально выделенный из морских оболочников *Aplidium albicans*. PLD также известен как аплидин. Аналогами PLD являются те аналоги, которые определены здесь как соединения формулы I, II или III. В предпочтительном воплощении настоящее изобретение относится к применению PLD.

Человеческий/эукариотический фактор элонгации трансляции eEF1A является субъединицей комплекса элонгации трансляции 1 у эукариот (eEF1). Этот комплекс доставляет аминоацилированную тРНК к элонгирующим рибосомам во время синтеза белка. Однако eEF1A является не только основным фактором трансляции, но также одним из наиболее важных многофункциональных белков, играющих роль в надзоре за качеством вновь синтезированных белков, в убиквитин-зависимой деградации и в содействии апоптозу.

Было показано, что N-белок CoV, таких как SARS-CoV и TGEV (коронавирус трансмиссивного гастроэнтерита), напрямую связывается с эукариотическим фактором элонгации 1A (eEF1A). Кроме того, было показано, что нокдаун eEF1A приводит к значительному снижению числа вирусов, демонстрируя, что взаимодействие N-белка с eEF1A необходимо для репликации вируса.

Было показано, что PLD связывается с человеческим фактором элонгации трансляции eEF1A с высоким сродством и низкой скоростью диссоциации. Эксперименты FLIM-phasor FRET (микроскопия визуализации времени жизни флуоресценции при резонансном переносе энергии флуоресценции) демонстрируют, что

PLD локализуется в опухолевых клетках достаточно близко к eEF1A, чтобы предположить образование комплекса лекарство-белок в живых клетках. Клеточные линии, устойчивые к PLD, также демонстрируют пониженные уровни белка eEF1A, а эктопическая экспрессия eEF1A в этих устойчивых клетках восстанавливает чувствительность к PLD, демонстрируя, что eEF1A непосредственно участвует в механизме действия PLD.

Как объяснялось выше, N-белок CoV также связывается с eEF1A, и это связывание необходимо для репликации вируса. Кроме того, N-белок высококонсервативен в CoV, и, в частности, SARS-CoV-2 обладает приблизительно 90% идентичностью аминокислотной последовательности с N-белком SARS-CoV. Однако введение и последующее связывание PLD с eEF1A делает невозможным связывание N-белка CoV с eEF1A. Это, в свою очередь, предотвращает репликацию вируса. Таким образом, взаимодействие между PLD и eEF1A снижает эффективность синтеза вирусного капсида *de novo* и, следовательно, вызывает снижение вирусной нагрузки.

В дополнение к вышесказанному, связывание PLD с eEF1A предотвращает взаимодействие eEF1A с его обычными партнерами по связыванию. Одним из таких партнеров по связыванию является протеинкиназа, активируемая дцРНК (двухцепочечная РНК) (PKR или EIF2AK2). Связывание PLD с eEF1A высвобождает PKR из комплекса с eEF1A, что приводит к активации PKR. PKR является известным активатором врожденного иммунного ответа и играет ключевую роль в противовирусном иммунном ответе. Конкретно,

(1) активированный PKR фосфорилирует альфа-субъединицу фактора инициации eIF2, что приводит к образованию неактивного комплекса eIF2;

(2) активированный PKR индуцирует деградацию IκB, ядерную транслокацию NF-κB (ядерный фактор-κB) и активацию пути NF-κB. NF-κB является основным фактором транскрипции, который регулирует гены, ответственные как за врожденный, так и за адаптивный иммунный ответ, такие как гены, участвующие в развитии, созревании и пролиферации Т-клеток;

(3) активация PKR индуцирует апоптоз посредством механизма, включающего кластеризацию рецептора Fas и транслокацию NF-κB, что приводит к элиминации инфицированных клеток.

Следует отметить, что белок 4a CoV сильно подавляет активацию PKR посредством секвестрации дцРНК. PLD обходит этот вирусный ответ, что приводит к

активации PKR за счет высвобождения PKR из комплекса eEF1A, как можно видеть из активации PKR в отсутствие вирусной инфекции.

Наконец, в дополнение к вышесказанному, связывание PLD с eEF1A также активирует индуцированный ER-стрессом (стрессом эндоплазматического ретикулума) развернутый белковый ответ (UPR), который, в свою очередь, приводит к ряду противовирусных ответов, включая снова фосфорилирование eIF2α.

За счет комбинации этих механизмов: (1) ингибирование взаимодействия N-белок CoV/eEF1A; (2) активация PKR и (3) активация UPR; PLD предотвращает репликацию CoV и вызывает активацию ответов хозяина, что приводит к элиминации CoV. И то, и другое способствует эффективной терапии вирусных инфекций. Дополнительным преимуществом нацеливания на eEF1A является то, что он является человеческой мишенью и, как таковой, не будет мутировать, чтобы уклониться от PLD, как это делают вирусные белки.

Соответственно, соединения по настоящему изобретению (включая PLD) могут быть использованы в лечении коронавирусной инфекции.

В этих соединениях группы могут быть выбраны в соответствии со следующими рекомендациями:

Алкильные группы могут быть разветвленными или неразветвленными и предпочтительно имеют от 1 до приблизительно 12 атомов углерода. Еще один предпочтительный класс алкильных групп имеет от 1 до приблизительно 6 атомов углерода. Еще более предпочтительными являются алкильные группы, имеющие 1, 2, 3 или 4 атома углерода. Метил, этил, *н*-пропил, изопропил и бутил, включая *н*-бутил, *трет*-бутил, *втор*-бутил и изобутил, являются особенно предпочтительными алкильными группами в соединениях по настоящему изобретению. Используемый здесь термин алкил, если не оговорено особо, относится как к циклическим, так и к нециклическим группам, однако циклические группы будут содержать по меньшей мере три члена углеродного кольца.

Предпочтительные алкенильные и алкинильные группы в соединениях по настоящему изобретению могут быть разветвленными или неразветвленными, имеют одну или более чем одну ненасыщенную связь и от 2 до приблизительно 12 атомов углерода. Еще один предпочтительный класс алкенильных и алкинильных групп имеет от 2 до приблизительно 6 атомов углерода. Еще более предпочтительными являются алкенильные и алкинильные группы, имеющие 2, 3 или 4 атома углерода. Используемые

здесь термины алкенил и алкинил, если не оговорено особо, относятся как к циклическим, так и к нециклическим группам, однако циклические группы будут содержать по меньшей мере три члена углеродного кольца.

Подходящие арильные группы в соединениях по настоящему изобретению включают соединения с одним и несколькими кольцами, включая соединения с несколькими кольцами, которые содержат отдельные и/или конденсированные арильные группы. Типичные арильные группы содержат от 1 до 3 отдельных или конденсированных колец и от 6 до приблизительно 18 атомов углерода в кольце. Предпочтительно арильные группы содержат от 6 до приблизительно 10 атомов углерода в кольце. Особо предпочтительные арильные группы включают замещенный или незамещенный фенил, замещенный или незамещенный нафтил, замещенный или незамещенный бифенил, замещенный или незамещенный фенантрил и замещенный или незамещенный антрил.

Подходящие гетероциклические группы включают гетероароматические и гетероалициклические группы, содержащие от 1 до 3 отдельных или конденсированных колец и от 5 до приблизительно 18 атомов в кольце. Предпочтительно гетероароматические и гетероалициклические группы содержат от 5 до приблизительно 10 атомов в кольце, наиболее предпочтительно 5, 6 или 7 атомов в кольце. Подходящие гетероароматические группы в соединениях по настоящему изобретению содержат один, два или три гетероатома, выбранные из атомов N, O или S, и включают, например, кумаринил, включая 8-кумаринил, хинолил, включая 8-хинолил, изохинолил, пиридил, пиразинил, пиразолил, включая пиразол-3-ил, пиразол-4-ил и пиразол-5-ил, пиримидинил, фуранил, включая фуран-2-ил, фуран-3-ил, фуран-4-ил и фуран-5-ил, пирролил, тиенил, тиазолил, включая тиазол-2-ил, тиазол-4-ил и тиазол-5-ил, изотиазолил, тиадиазолил, включая тиадиазол-4-ил и тиадиазол-5-ил, триазолил, тетразолил, изоксазолил, включая изоксазол-3-ил, изоксазол-4-ил и изоксазол-5-ил, оксазолил, имидазолил, индолил, изоиндолил, индазолил, индолизинил, фталазинил, птеридинил, пуринил, оксадиазолил, тиадиазолил, фуразанил, пиридазинил, триазинил, циннолинил, бензимидазолил, бензофуранил, бензофуразанил, бензотиофенил, включая бензо[b]тиофен-2-ил и бензо[b]тиофен-3-ил, бензотиазолил, бензоксазолил, имидазо[1,2-a]пиридинил, включая имидазо[1,2-a]пиридин-2-ил и имидазо[1,2-a]пиридин-3-ил, хиназолинил, хиноксалинил, нафтиридинил и фуропиридил. Подходящие гетероалициклические группы в соединениях по настоящему изобретению

содержат один, два или три гетероатома, выбранные из атомов N, O или S, и включают, например, пирролидинил, тетрагидрофуранил, дигидрофуранил, тетрагидротиенил, тетрагидротиопиранил, пиперидинил, включая пиперидин-3-ил, пиперидин-4-ил и пиперидин-5-ил, морфолинил, тиоморфолинил, тиоксанил, пиперазинил, азетидинил, оксетанил, тиетанил, гомопиперидил, оксепанил, тиепанил, оксазепинил, диазепинил, тиазепинил, 1,2,3,6-тетрагидропиридил, 2-пирролинил, 3-пирролинил, дигидропирролил, индолинил, 2H-пиранил, 4H-пиранил, диоксанил, 1,3-диоксоланил, пиразолинил, дитианил, дитиоланил, дигидропиранил, дигидротиенил, дигидрофуранил, пиразолидинил, имидазолинил, имидазолидинил, 3-азабицикло[3.1.0]гексил, 3-азабицикло[4.1.0]гептил, 3H-индолил и хинолизинил.

В вышеупомянутых группах один или более чем один атом водорода может быть замещен одной или более чем одной подходящей группой, такой как OR', =O, SR', SOR', SO_2R', NO_2, NHR', NR'R', =N-R', NHCOR', $N(COR')_2$, $NHSO_2R'$, NR'C(=NR')NR'R', CN, галоген, COR', COOR', OCOR', OCONHR', OCONR'R', CONHR', CONR'R', замещенный или незамещенный C_1-C_{12}алкил, замещенный или незамещенный C_2-C_{12}алкенил, замещенный или незамещенный C_2-C_{12}алкинил, замещенный или незамещенный арил и замещенная или незамещенная гетероциклическая группа, где каждая из групп R' независимо выбрана из группы, состоящей из водорода, OH, NO_2, NH_2, SH, CN, галогена, COH, COалкила, CO_2H, замещенного или незамещенного C_1-C_{12}алкила, замещенного или незамещенного C_2-C_{12}алкенила, замещенного или незамещенного C_2-C_{12}алкинила, замещенного или незамещенного арила и замещенной или незамещенной гетероциклической группы. Когда такие группы сами замещены, заместители могут быть выбраны из приведенного выше списка. Когда замещающая группа заканчивается двойной связью (такой как =O и =N-R'), она заменяет 2 атома водорода в одном и том же атоме углерода.

Подходящие галогеновые заместители в соединениях по настоящему изобретению включают F, Cl, Br и I.

Термин «фармацевтически приемлемые соли» относится к любой соли, которая при введении пациенту способна (прямо или опосредованно) образовывать соединение, как описано здесь. Следует понимать, что соли, не являющиеся фармацевтически приемлемыми, также входят в объем изобретения, поскольку они могут быть использованы в получении фармацевтически приемлемых солей. Получение солей может быть проведено способами, известными в данной области техники. Например,

фармацевтически приемлемые соли соединений, предложенных здесь, синтезируют из исходного соединения, которое содержит основную или кислотную группировку, посредством обычных химических способов. Как правило, такие соли получают, например, посредством взаимодействия свободных кислотных или основных форм этих соединений со стехиометрическим количеством соответствующего основания или кислоты в воде или в органическом растворителе или в их смеси. Как правило, предпочтительными являются неводные среды, такие как эфир, этилацетат, этанол, изопропанол или ацетонитрил. Примеры солей присоединения кислот включают соли присоединения неорганических кислот, такие как, например, гидрохлорид, гидробромид, гидройодид, сульфат, нитрат, фосфат, и соли присоединения органических кислот, такие как, например, ацетат, трифторацетат, малеат, фумарат, цитрат, оксалат, сукцинат, тартрат, малат, манделат, метансульфонат и *пара*-толуолсульфонат. Примеры солей присоединения оснований включают неорганические соли, такие как, например, соли натрия, калия, кальция и аммония, и органические соли щелочных металлов, такие как, например, соли этилендиамина, этаноламина, *N,N*-диалкиленэтаноламина, триэтаноламина и основных аминокислот.

Соединения по изобретению могут находиться в кристаллической форме, либо в виде свободных соединений, либо в виде сольватов (например гидратов, алкоголятов, особенно метанолатов), и предполагается, что обе формы входят в объем настоящего изобретения. Способы сольватации обычно известны в данной области техники. Соединения по изобретению могут представлять собой различные полиморфные формы, и предполагается, что изобретение охватывает все такие формы.

Предполагается, что любое соединение, упомянутое здесь, представляет собой такое конкретное соединение, а также некоторые варианты или формы. В частности, соединения, упомянутые здесь, могут иметь центры асимметрии и, следовательно, существовать в различных энантиомерных или диастереомерных формах. Таким образом, предполагается, что любое данное соединение, упомянутое здесь, представляет собой любое из рацемата, одной или более чем одной энантиомерной формы, одной или более чем одной диастереомерной формы и их смесей. Аналогичным образом, также возможна стереоизомерия или геометрическая изомерия положения двойной связи, поэтому в некоторых случаях молекула может существовать в виде *(E)*-изомера или *(Z)*-изомера (*транс*- и *цис*-изомеры). Если молекула содержит несколько двойных связей, каждая двойная связь будет иметь свою собственную стереоизомерию, которая может

быть такой же или отличной от стереоизомерии других двойных связей молекулы. Кроме того, соединения, упомянутые здесь, могут существовать в виде атропоизомеров. Все стереоизомеры, включая энантиомеры, диастереоизомеры, геометрические изомеры и атропоизомеры соединений, упомянутых здесь, и их смеси, рассматриваются в объеме настоящего изобретения.

В соединениях общей формулы **I** и **II** особенно предпочтительные R_1, R_5, R_9, R_{11} и R_{15} независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила. Более предпочтительные R_1, R_5, R_9, R_{11} и R_{15} независимо выбраны из водорода, замещенного или незамещенного метила, замещенного или незамещенного этила, замещенного или незамещенного *н*-пропила, замещенного или незамещенного изопропила и замещенного или незамещенного бутила, включая замещенный или незамещенный *н*-бутил, замещенный или незамещенный *трет*-бутил, замещенный или незамещенный изобутил и замещенный или незамещенный *втор*-бутил. Предпочтительными заместителями указанных групп являются OR', =O, SR', SOR', SO_2R', NO_2, NHR', NR'R', =N-R', NHCOR', $N(COR')_2$, $NHSO_2R'$, NR'C(=NR')NR'R', CN, галоген, COR', COOR', OCOR', OCONHR', OCONR'R', CONHR', CONR'R', замещенный или незамещенный C_1-C_{12}алкил, замещенный или незамещенный C_2-C_{12}алкенил, замещенный или незамещенный C_2-C_{12}алкинил, замещенный или незамещенный арил и замещенная или незамещенная гетероциклическая группа, где каждая из групп R' независимо выбрана из группы, состоящей из водорода, OH, NO_2, NH_2, SH, CN, галогена, COH, COалкила, CO_2H, замещенного или незамещенного C_1-C_{12}алкила, замещенного или незамещенного C_2-C_{12}алкенила, замещенного или незамещенного C_2-C_{12}алкинила, замещенного или незамещенного арила и замещенной или незамещенной гетероциклической группы. Когда такие группы сами замещены, заместители могут быть выбраны из приведенного выше списка. Наиболее предпочтительными группами R_1, R_5, R_9, R_{11} и R_{15} являются водород, метил, *н*-пропил, изопропил, изобутил, *втор*-бутил, 4-аминобутил, 3-амино-3-оксопропил, бензил, *пара*-метоксибензил, *пара*-гидроксибензил и циклогексилметил. В частности, особенно предпочтительный R_1 выбран из *втор*-бутила и изопропила, причем наиболее предпочтительным является *втор*-бутил. Особенно предпочтительный R_5 выбран из изобутила и 4-аминобутила, причем наиболее предпочтительным является изобутил. Особенно предпочтительным R_{11} является метил и изобутил. Особенно предпочтительный R_9 выбран из *пара*-метоксибензила, *пара*-гидроксибензила и

циклогексилметила, причем наиболее предпочтительным является *пара*-метоксибензил. Особенно предпочтительный R_{15} выбран из метила, *н*-пропила и бензила, причем наиболее предпочтительными являются метил и бензил.

В соединениях общей формулы **III** особенно предпочтительные R_1, R_5, R_9 и R_{15} независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила. Более предпочтительные R_1, R_5, R_9 и R_{15} независимо выбраны из водорода, замещенного или незамещенного метила, замещенного или незамещенного этила, замещенного или незамещенного *н*-пропила, замещенного или незамещенного изопропила и замещенного или незамещенного бутила, включая замещенный или незамещенный *н*-бутил, замещенный или незамещенный *трет*-бутил, замещенный или незамещенный изобутил и замещенный или незамещенный *втор*-бутил. Предпочтительными заместителями указанных групп являются OR', =O, SR', SOR', SO_2R', NO_2, NHR', NR'R', =N-R', NHCOR', $N(COR')_2$, $NHSO_2R'$, NR'C(=NR')NR'R', CN, галоген, COR', COOR', OCOR', OCONHR', OCONR'R', CONHR', CONR'R', замещенный или незамещенный C_1-C_{12}алкил, замещенный или незамещенный C_2-C_{12}алкенил, замещенный или незамещенный C_2-C_{12}алкинил, замещенный или незамещенный арил и замещенная или незамещенная гетероциклическая группа, где каждая из групп R' независимо выбрана из группы, состоящей из водорода, OH, NO_2, NH_2, SH, CN, галогена, COH, COалкила, CO_2H, замещенного или незамещенного C_1-C_{12}алкила, замещенного или незамещенного C_2-C_{12}алкенила, замещенного или незамещенного C_2-C_{12}алкинила, замещенного или незамещенного арила и замещенной или незамещенной гетероциклической группы. Когда такие группы сами замещены, заместители могут быть выбраны из приведенного выше списка. Наиболее предпочтительными группами R_1, R_5, R_9 и R_{15} являются водород, метил, *н*-пропил, изопропил, изобутил, *втор*-бутил, 4-аминобутил, 3-амино-3-оксопропил, бензил, *пара*-метоксибензил, *пара*-гидроксибензил и циклогексилметил. В частности, особенно предпочтительный R_1 выбран из *втор*-бутила и изопропила, причем наиболее предпочтительным является *втор*-бутил. Особенно предпочтительный R_5 выбран из изобутила и 4-аминобутила, причем наиболее предпочтительным является изобутил. Особенно предпочтительный R_9 выбран из *пара*-метоксибензила, *пара*-гидроксибензила и циклогексилметила, причем наиболее предпочтительным является *пара*-метоксибензил. Особенно предпочтительный R_{15} выбран из метила, *н*-пропила и бензила, причем наиболее предпочтительными являются метил и бензил.

В соединениях общей формулы **I, II** и **III** особенно предпочтительные R_8, R_{10}, R_{12} и R_{16} независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила. Более предпочтительные R_8, R_{10}, R_{12} и R_{16} независимо выбраны из водорода, метила, этила, *н*-пропила, изопропила и бутила, включая *н*-бутил, *трет*-бутил, изобутил и *втор*-бутил, и даже более предпочтительно они независимо выбраны из водорода и метила. В частности, особенно предпочтительными R_8, R_{10} и R_{12} является метил, а особенно предпочтительным R_{16} является водород.

В соединениях общей формулы **I** и **III** особенно предпочтительные R_3 и R_4 независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила. Более предпочтительные R_3 и R_4 независимо выбраны из водорода, замещенного или незамещенного метила, замещенного или незамещенного этила, замещенного или незамещенного *н*-пропила, замещенного или незамещенного изопропила и замещенного или незамещенного бутила, включая замещенный или незамещенный *н*-бутил, замещенный или незамещенный *трет*-бутил, замещенный или незамещенный изобутил и замещенный или незамещенный *втор*-бутил. Предпочтительными заместителями указанных групп являются OR', =O, SR', SOR', SO_2R', NO_2, NHR', NR'R', =N-R', NHCOR', $N(COR')_2$, $NHSO_2$R', NR'C(=NR')NR'R', CN, галоген, COR', COOR', OCOR', OCONHR', OCONR'R', CONHR', CONR'R', замещенный или незамещенный C_1-C_{12}алкил, замещенный или незамещенный C_2-C_{12}алкенил, замещенный или незамещенный C_2-C_{12}алкинил, замещенный или незамещенный арил и замещенная или незамещенная гетероциклическая группа, где каждая из групп R' независимо выбрана из группы, состоящей из водорода, OH, NO_2, NH_2, SH, CN, галогена, COH, COалкила, CO_2H, замещенного или незамещенного C_1-C_{12}алкила, замещенного или незамещенного C_2-C_{12}алкенила, замещенного или незамещенного C_2-C_{12}алкинила, замещенного или незамещенного арила и замещенной или незамещенной гетероциклической группы. Когда такие группы сами замещены, заместители могут быть выбраны из приведенного выше списка. Наиболее предпочтительными группами R_3 и R_4 являются водород, метил, изопропил и *втор*-бутил. В частности, особенно предпочтительным R_3 является метил и изопропил, а особенно предпочтительным R_4 является метил или водород.

В одном воплощении соединений общей формулы **I, II** и **III** особенно предпочтительные R_6 и R_7 независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила. Более предпочтительный R_7 выбран из водорода,

замещенного или незамещенного метила, замещенного или незамещенного этила, замещенного или незамещенного *н*-пропила, замещенного или незамещенного изопропила и замещенного или незамещенного бутила, включая замещенный или незамещенный *н*-бутил, замещенный или незамещенный *трет*-бутил, замещенный или незамещенный изобутил и замещенный или незамещенный *втор*-бутил. Предпочтительными заместителями указанных групп являются OR', =O, SR', SOR', SO_2R', NO_2, NHR', NR'R', =N-R', NHCOR', $N(COR')_2$, $NHSO_2R'$, NR'C(=NR')NR'R', CN, галоген, COR', COOR', OCOR', OCONHR', OCONR'R', CONHR', CONR'R', замещенный или незамещенный C_1-C_{12}алкил, замещенный или незамещенный C_2-C_{12}алкенил, замещенный или незамещенный C_2-C_{12}алкинил, замещенный или незамещенный арил и замещенная или незамещенная гетероциклическая группа, где каждая из групп R' независимо выбрана из группы, состоящей из водорода, OH, NO_2, NH_2, SH, CN, галогена, COH, COалкила, CO_2H, замещенного или незамещенного C_1-C_{12}алкила, замещенного или незамещенного C_2-C_{12}алкенила, замещенного или незамещенного C_2-C_{12}алкинила, замещенного или незамещенного арила и замещенной или незамещенной гетероциклической группы. Когда такие группы сами замещены, заместители могут быть выбраны из приведенного выше списка. Более предпочтительный R_6 выбран из водорода, метила, этила, *н*-пропила, изопропила и бутила, включая *н*-бутил, *трет*-бутил, изобутил и *втор*-бутил. Наиболее предпочтительный R_6 выбран из водорода и метила, а наиболее предпочтительным R_7 является метил.

В другом воплощении соединений общей формулы **I**, **II** и **III** особенно предпочтительно, что R_6 и R_7 вместе с соответствующим атомом N и атомом C, к которым они присоединены, образуют замещенную или незамещенную гетероциклическую группу. В этом отношении предпочтительная гетероциклическая группа представляет собой гетероалициклическую группу, содержащую один, два или три гетероатома, выбранных из атомов N, O или S, наиболее предпочтительно один атом N, и имеющую от 5 до приблизительно 10 атомов в кольце, наиболее предпочтительно 5, 6 или 7 атомов в кольце. Наиболее предпочтительной является пирролидиновая группа.

В одном воплощении соединений общей формулы **I, II** и **III** особенно предпочтительные R_{13} и R_{14} независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила. Более предпочтительный R_{13} выбран из водорода,

замещенного или незамещенного метила, замещенного или незамещенного этила, замещенного или незамещенного *н*-пропила, замещенного или незамещенного изопропила и замещенного или незамещенного бутила, включая замещенный или незамещенный *н*-бутил, замещенный или незамещенный *трет*-бутил, замещенный или незамещенный изобутил и замещенный или незамещенный *втор*-бутил. Предпочтительными заместителями указанных групп являются OR', =O, SR', SOR', SO_2R', NO_2, NHR', NR'R', =N-R', NHCOR', $N(COR')_2$, $NHSO_2R'$, NR'C(=NR')NR'R', CN, галоген, COR', COOR', OCOR', OCONHR', OCONR'R', CONHR', CONR'R', замещенный или незамещенный C_1-C_{12}алкил, замещенный или незамещенный C_2-C_{12}алкенил, замещенный или незамещенный C_2-C_{12}алкинил, замещенный или незамещенный арил и замещенная или незамещенная гетероциклическая группа, где каждая из групп R' независимо выбрана из группы, состоящей из водорода, OH, NO_2, NH_2, SH, CN, галогена, COH, COалкила, CO_2H, замещенного или незамещенного C_1-C_{12}алкила, замещенного или незамещенного C_2-C_{12}алкенила, замещенного или незамещенного C_2-C_{12}алкинила, замещенного или незамещенного арила и замещенной или незамещенной гетероциклической группы. Когда такие группы сами замещены, заместители могут быть выбраны из приведенного выше списка. Более предпочтительный R_{14} выбран из водорода, метила, этила, *н*-пропила, изопропила и бутила, включая *н*-бутил, *трет*-бутил, изобутил и *втор*-бутил. Наиболее предпочтительный R_{13} выбран из водорода, метила, изопропила, изобутила и 3-амино-3-оксопропила, а наиболее предпочтительным R_{14} является водород.

В другом воплощении соединений общей формулы **I**, **II** и **III** особенно предпочтительно, что R_{13} и R_{14} вместе с соответствующим атомом N и атомом C, к которым они присоединены, образуют замещенную или незамещенную гетероциклическую группу. В этом отношении предпочтительная гетероциклическая группа представляет собой гетероалициклическую группу, содержащую один, два или три гетероатома, выбранных из атомов N, O или S, наиболее предпочтительно один атом N, и имеющую от 5 до приблизительно 10 атомов в кольце, наиболее предпочтительно 5, 6 или 7 атомов в кольце. Наиболее предпочтительной является пирролидиновая группа.

В соединениях общей формулы **I**, **II** и **III** особенно предпочтительный R_2 выбран из водорода, замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила и COR_a, где R_a представляет собой замещенный или незамещенный C_1-C_6алкил, и даже более предпочтительным R_a

является метил, этил, *н*-пропил, изопропил и бутил, включая *н*-бутил, *трет*-бутил, *втор*-бутил и изобутил. Более предпочтительно R_2 представляет собой водород.

В соединениях общей формулы **I**, **II** и **III** особенно предпочтительный R_{17} выбран из водорода, COR_a, $COOR_a$, $CONHR_b$, $(C=S)NHR_b$ и SO_2R_c, где каждый R_a, R_b и R_c предпочтительно и независимо выбран из замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила, замещенного или незамещенного C_2-C_6алкенил, замещенного или незамещенного C_2-C_6алкинила, замещенного или незамещенного арила и замещенной или незамещенной гетероциклической группы. Предпочтительными заместителями указанных групп являются OR', =O, SR', SOR', SO_2R', NO_2, NHR', NR'R', =N-R', NHCOR', $N(COR')_2$, $NHSO_2R'$, NR'C(=NR')NR'R', CN, галоген, COR', COOR', OCOR', OCONHR', OCONR'R', CONHR', CONR'R', замещенный или незамещенный C_1-C_{12}алкил, замещенный или незамещенный C_2-C_{12}алкенил, замещенный или незамещенный C_2-C_{12}алкинил, замещенный или незамещенный арил и замещенная или незамещенная гетероциклическая группа, где каждая из групп R' независимо выбрана из группы, состоящей из водорода, OH, NO_2, NH_2, SH, CN, галогена, COH, COалкила, CO_2H, замещенного или незамещенного C_1-C_{12}алкила, замещенного или незамещенного C_2-C_{12}алкенила, замещенного или незамещенного C_2-C_{12}алкинила, замещенного или незамещенного арила и замещенной или незамещенной гетероциклической группы. Когда такие группы сами замещены, заместители могут быть выбраны из приведенного выше списка. Наиболее предпочтительными группами R_{17} являются водород, COR_a, $COOR_a$ и SO_2R_c, а водород, COOбензил, COбензо[b]тиофен-2-ил, SO_2(*пара*-метилфенил), $COCOCH_3$ и $COOC(CH_3)_3$ являются даже наиболее предпочтительными.

В другом воплощении соединений общей формулы **I**, **II** и **III** особенно предпочтительно, что Y представляет собой CO. В другом воплощении особенно предпочтительно, что Y представляет собой -$COCH(CH_3)CO$-.

В другом воплощении соединений общей формулы **I**, **II** и **III** особенно предпочтительно, что X представляет собой O. В другом воплощении особенно предпочтительно, что X представляет собой NH.

В другом воплощении соединений общей формулы **I** и **II** особенно предпочтительно, что n, p и q равны 0. В другом воплощении особенно предпочтительно, что n равен 1, а p и q равны 0. В другом воплощении особенно предпочтительно, что n и p равны 1, а q равен 0. В другом воплощении особенно предпочтительно, что n, p и q

равны 1. В другом воплощении особенно предпочтительно, что n и p равны 1, а q равен 2.

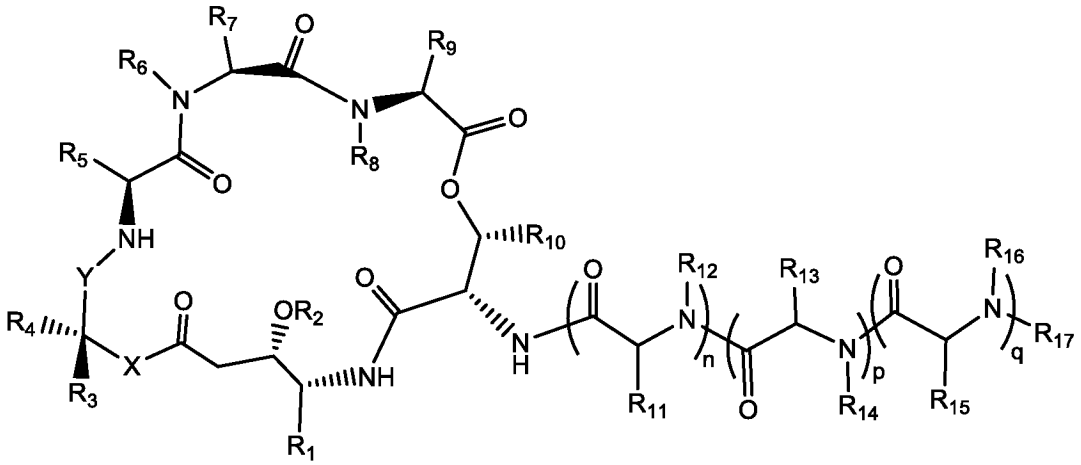
В другом воплощении соединений общей формулы **III** особенно предпочтительно, что p и q равны 0. В другом воплощении особенно предпочтительно, что p равен 1, а q равен 0. В другом воплощении особенно предпочтительно, что p и q равны 1. В другом воплощении особенно предпочтительно, что p равен 1, а q равен 2.

В дополнительных предпочтительных воплощениях комбинируются предпочтения, описанные выше для различных заместителей. Настоящее изобретение также относится к таким комбинациям предпочтительных замещений формулы **I**, **II** и **III**, указанных выше.

В настоящем описании и определениях, когда в соединениях по изобретению присутствует несколько групп R_a, R_b и R_c, и если это прямо не указано, следует понимать, что каждая из них может независимо отличаться в рамках данного определения, то есть R_a не обязательно одновременно представляет одну и ту же группу в данном соединении по изобретению.

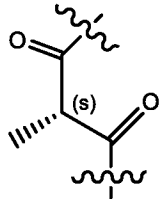
В соединениях общей формулы **I**, **II** и **III**, когда q принимает значение 2, в соединении присутствуют две группы R_{15} и две группы R_{16}. Таким образом, разъясняется, что каждая группа R_{15} и каждая группа R_{16} в данном соединении могут быть независимо выбраны из различных вариантов, описанных выше для таких групп.

Особенно предпочтительная стереохимическая формула для соединений общей формулы **I** представляет собой

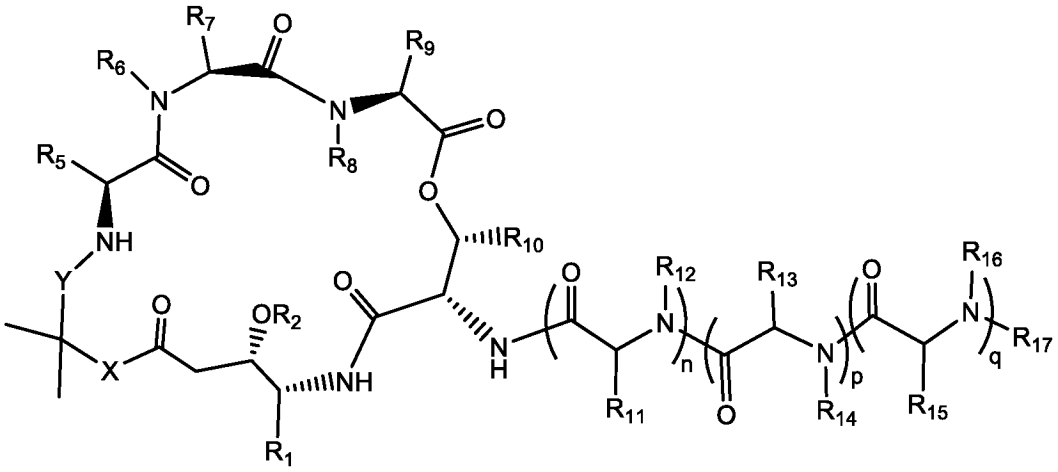


,

где X, Y, n, p, q и R_1-R_{17} являются такими, как определено выше, и когда Y представляет собой -COCH(CH_3)CO-, он имеет следующую стереохимическую формулу:

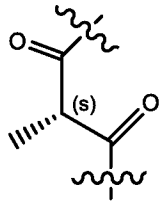


Особенно предпочтительная стереохимическая формула для соединений общей формулы **II** представляет собой

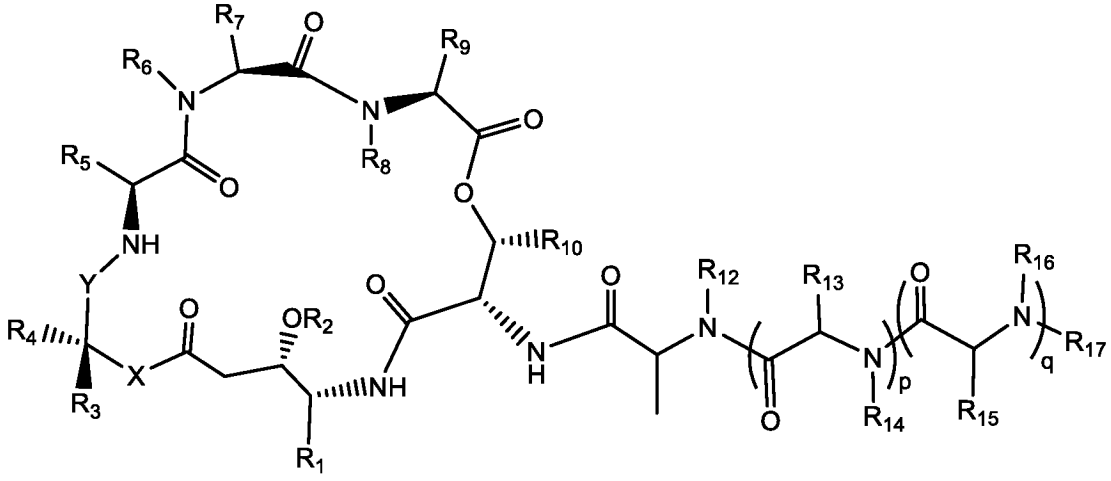


,

где X, Y, n, p, q, R_1, R_2 и R_5-R_{17} являются такими, как определено выше, и когда Y представляет собой -COCH(CH_3)CO-, он имеет следующую стереохимическую формулу:

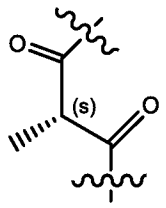


Особенно предпочтительная стереохимическая формула для соединений общей формулы **III** представляет собой



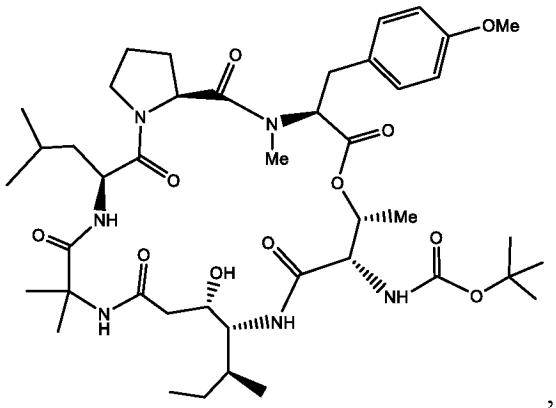
,

где X, Y, p, q, R_1-R_{10} и R_{12}-R_{17} являются такими, как определено выше, и когда Y представляет собой -$COCH(CH_3)CO$-, он имеет следующую стереохимическую формулу:

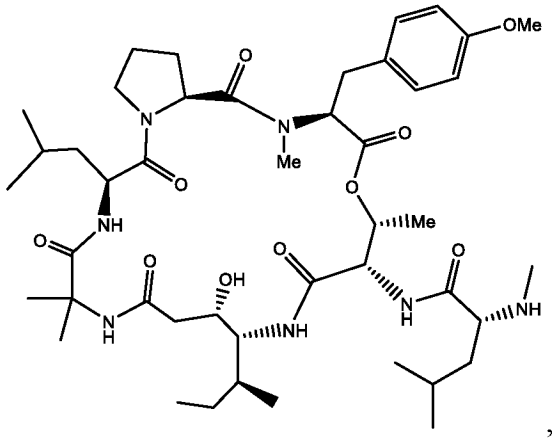


.

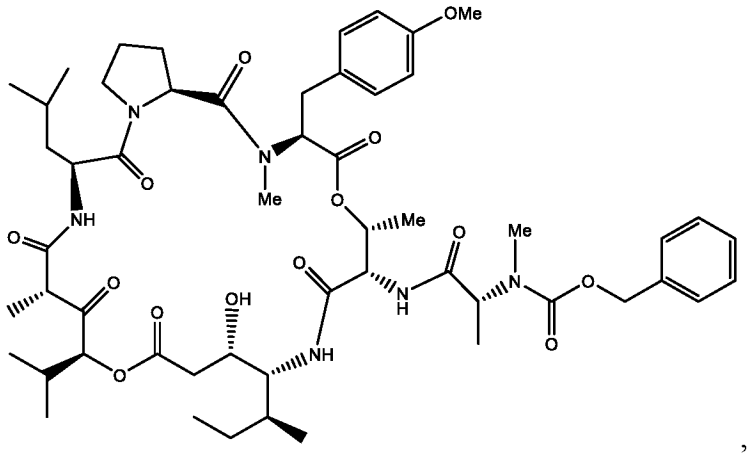
Особенно предпочтительными соединениями по изобретению являются следующие:



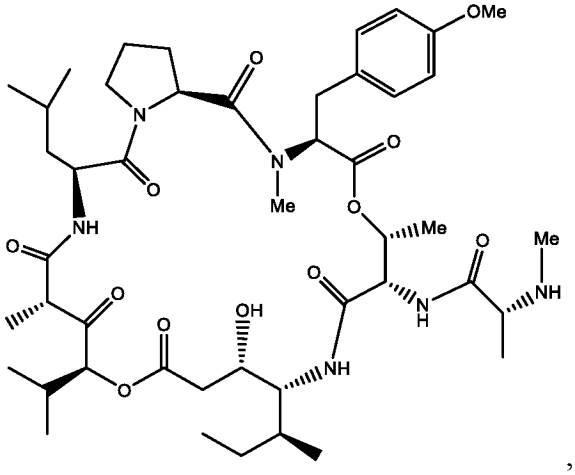
,



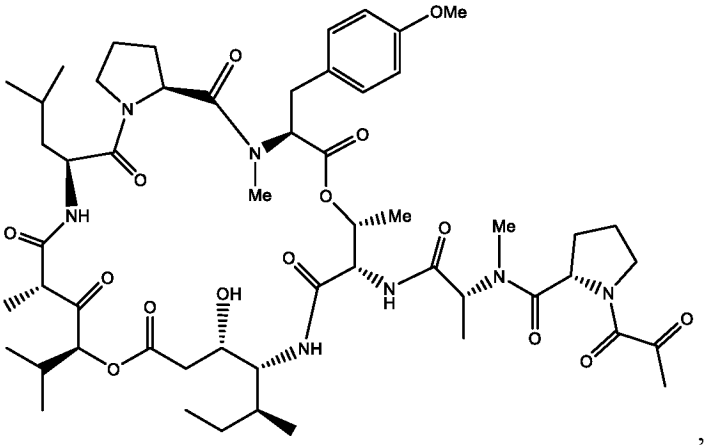
,



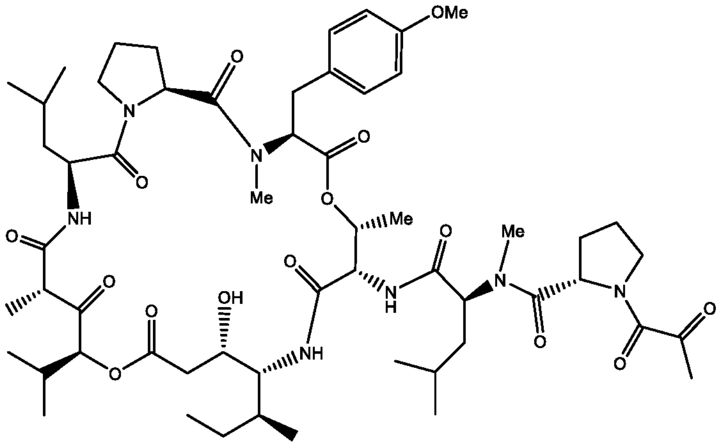
,



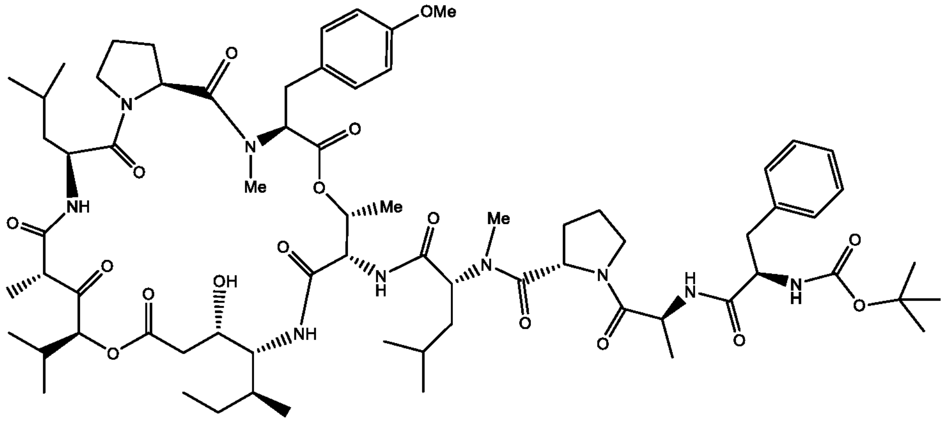
,



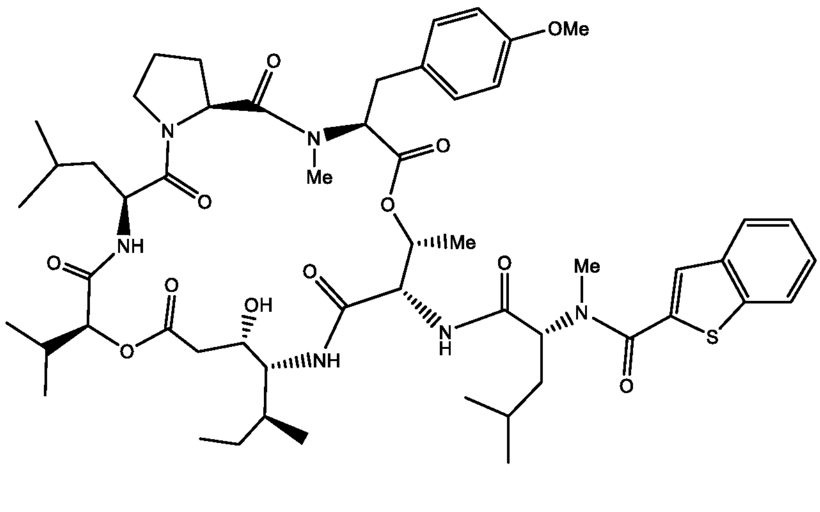
,


OMe
N
O
O
N
Me
O
NH
O
O
Me
O
O
O
OH
NH
N
H
N
Me
O
N
O
O

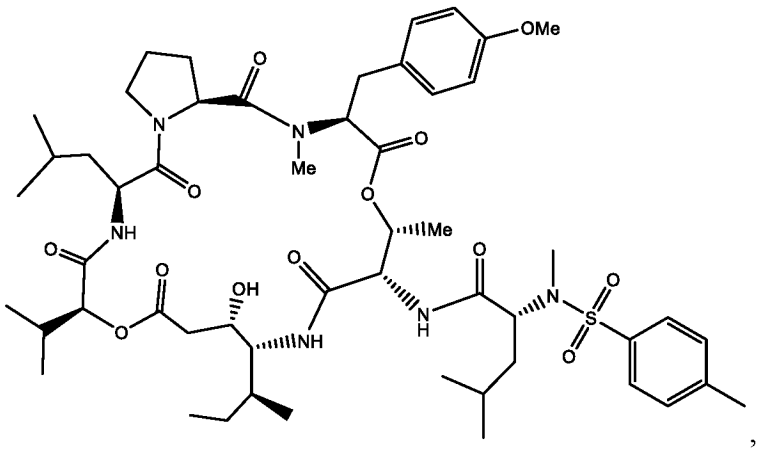
,


OMe
N
O
N
Me
O
O
NH
O
O
Me
O
O
O
OH
NH
N
H
O
N
Me
N
O
N
H
O
H
N
O
O

,


OMe
O
N
N
Me
O
O
NH
O
O
Me
O
O
OH
NH
N
H
O
N
Me
S
O

, и



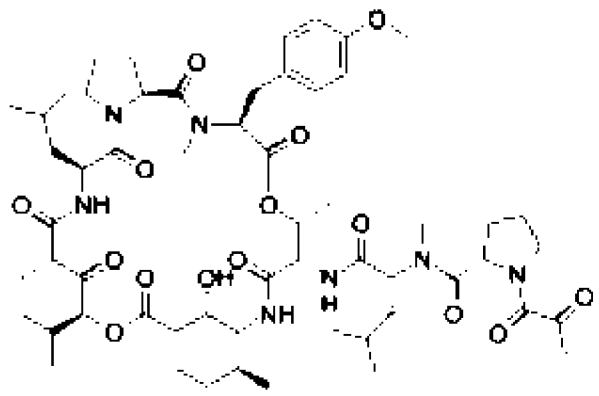
,

или их фармацевтически приемлемые соли или стереоизомеры.

Соединения общей формулы **I**, **II** и **III** могут быть получены в соответствии с любым из способов синтеза, раскрытых в Vera et al. Med. Res. Rev. 2002, 22(2), 102-145, WO 2011/020913 (см., в частности, Примеры 1-5), WO 02/02596, WO 01/76616 и WO 2004/084812, которые включены здесь посредством ссылки.

Предпочтительным соединением является PLD или его фармацевтически приемлемые соли или стереоизомеры. Наиболее предпочтительным является PLD.

Химическим названием плитидепсина является (-)-(3S,6R,7S,10R,11S,15S,17S,20S,25aS)-11-гидрокси-3-(4-метоксибензил)-2,6,17-триметил-15-(1-метилэтил)-7-[[(2R)-4-метил-2-[метил[[(2S)-1-(2-оксопропаноил)пирролидин-2-ил]карбонил]амино]пентаноил]амино]-10-[(1S)-1-метилпропил]-20-(2-метилпропил)-тетрадекагидро-15H-пирроло[2,1-f]-[1,15,4,7,10,20]диоксатетразациклотрикозин-1,4,8,13,16,18,21(17H)-гептон, соответствующий молекулярной формуле $C_{57}H_{87}N_7O_{15}$. Он имеет относительную молекулярную массу 1110,34 г/моль и следующую структуру:



Плитидепсин представляет собой циклический депсипептид, первоначально выделенный из средиземноморского морского оболочника (*Aplidium albicans*), и в настоящее время полностью изготавливается посредством химического синтеза. Он

лицензирован и продается в Австралии под торговым наименованием плитидепсин для лечения множественной миеломы.

Было показано, что в эукариотических клетках плитидепсин нацелен на эукариотический фактор элонгации (eEF1A), который играет ключевую роль в модулировании взаимодействия с другими белками, некоторые из которых, как полагают, необходимы для репликации вируса. Примечательно, что одним из вышеупомянутых белков является N-белок коронавируса, который в изобилии продуцируется внутри инфицированных клеток и, как известно, взаимодействует с фактором элонгации EF1A. Как сказано выше, взаимодействие между плитидепсином и EF1A, таким образом, может снижать эффективность синтеза вирусного капсида *de novo* и, следовательно, приводить к снижению вирусной нагрузки.

Согласно настоящему изобретению предложено применение соединения по настоящему изобретению в лечении коронавирусной инфекции. В частности, согласно настоящему изобретению предложено применение PLD в лечении коронавирусной инфекции. Термин «коронавирусная (CoV) инфекция» означает любую инфекцию, вызванную вирусом семейства *Coronaviridae* и подсемейства *Orthocoronavirinae*. В одном воплощении инфекция вызвана вирусом рода *Betacoronavirus*, который включает бетакоронавирус 1, коронавирус человека HKU1, мышиный коронавирус, коронавирус летучих мышей *Pipistrellus* HKU5, коронавирус летучих мышей *Rousettus* HKU9, коронавирус, связанный с тяжелым острым респираторным синдромом (SARS-CoV), коронавирус летучих мышей *Tylonycteris* HKU4, коронавирус, связанный с ближневосточным респираторным синдромом, коронавирус человека OC43 и коронавирус европейского ежа 1 типа (EriCoV). Предпочтительно вирус представляет собой SARS-CoV или SARS-CoV-2, и наиболее предпочтительно SARS-CoV-2. Ранее SARS-CoV-2 называли 2019-nCoV, и здесь такие термины могут быть использованы взаимозаменяемо.

В конкретных воплощениях вирус представляет собой SARS-CoV-2 и связанное с ним заболевание COVID-19. Смертность, связанная с заболеванием COVID-19, по-видимому, связана с (а) тяжелой дыхательной недостаточностью, вторичной по отношению к респираторному дистрессу, и (б) воспалительным статусом, вызванным цитокиновым штормом. Таким образом, долю пациентов с тяжелым заболеванием, требующих госпитализации с высокопоточной оксигенотерапией или без нее, и пациентов, нуждающихся в искусственной вентиляции легких, оценивали примерно в

15% и 5% соответственно в исходной серии из Китая. Однако в Европе цифры, сообщаемые органами здравоохранения, более высокие, достигающие 30% серьезных случаев, требующих госпитализации (в Мадриде) без необходимости искусственной вентиляции, и около 10% пациентов, нуждающихся в искусственной вентиляции. Точно так же продолжительность потребности в искусственной вентиляции легких в китайской серии исследований намного короче, чем, по сообщениям, в таких городах, как Мадрид, поэтому обычный поток пациентов в отделения интенсивной терапии изменяется из-за длительного пребывания пациентов. Это ложится огромным бременем на больничные службы, что вынуждает принимать чрезвычайные, беспрецедентные меры. Считается, что размеры первоначально описанных осложнений можно предотвратить или уменьшить за счет применения настоящего изобретения у пациентов с ранней стадией пневмонии, вызванной COVID-19, поскольку после возникновения цитокинового шторма и респираторного дистресс-синдрома, как правило, противовирусному препарату становится труднее оказывать благоприятное терапевтическое действие. Однако в воплощениях соединения по настоящему изобретению также полезны на более поздней стадии вирусной инфекции, например, у пациентов, у которых имел место цитокиновый шторм и респираторный дистресс.

Как упоминалось выше, в эукариотических клетках эксперименты FLIM-FRET показали, что плитидепсин локализуется достаточно близко к eEF1A, чтобы предположить образование комплексов лекарство-белок. В отдельной серии экспериментов, проведенных с 14C-плитидепсином и очищенным eEF1A из мышцы кролика, показано, что плитидепсин связывает eEF1A с высоким сродством и низкой скоростью диссоциации.

Активность плитидепсина в отношении SARS-CoV-2 *in vitro*

Здесь было проведено и описано несколько экспериментов *in vitro*, направленных на определение влияния плитидепсина на SARS-CoV-2. Два исследования, в каждом из которых использовали клетки Vero E6, инфицированные SARS-CoV-2, и прямое количественное определение нуклеокапсидного белка (N) SARS-CoV-2, который очевидно участвует в механизме плитидепсин-индуцированной противовирусной активности, показали, что плитидепсин является мощным ингибитором роста SARS-CoV-2 *in vitro* с IC_{50} от 0,7 до 3,0 нМ. В другом исследовании полученные из стволовых клеток человека пневмоцитоподобные клетки подвергали профилактическому воздействию 10 нМ плитидепсина в течение 1 часа, а затем инфицировали SARS-CoV-2

(4×10^4 бляшкообразующих единиц). После 48-часового инкубационного периода определяли как противовирусное, так и цитотоксическое действие плитидепсина. Результаты показали, что плитидепсин полностью устраняет репликацию SARS-CoV-2 без наблюдаемой цитотоксичности в отношении пневмоцитоподобных клеток.

Влияние плитидепсина на SARS-CoV-2 *in vivo*

Плитидепсин продемонстрировал мощное противовирусное действие *in vivo* при использовании описанной ранее мышиной модели с аденовирус-опосредованным hACE2, инфицированной SARS-CoV-2. Плитидепсин также продемонстрировал мощное противовирусное действие *in vivo* с использованием описанной ранее модели трансгенных мышей, экспрессирующих hACE2, управляемых промотором гена цитокератина-18 (K18-hACE2), инфицированных SARS-CoV-2.

Влияние плитидепсина на воспалительный ответ хозяина

Подобно SARS-CoV, инфекция SARS-CoV-2 также вызывает гиперсекрецию нескольких цитокинов с повышением уровня в плазме по мере прогрессирования заболевания, что предполагает возможную связь между высвобождением цитокинов и тяжестью заболевания.

Врожденный иммунитет является первой линией защиты от вторжения патогенов. В случае SARS-CoV-2 проникновение вируса в эпителиальные клетки хозяина опосредуется взаимодействием между спайковым белком (S) вирусной оболочки и рецептором ACE2 клеточной поверхности. Вирусные РНК, как ассоциированные с патогенами молекулярные паттерны, затем обнаруживаются паттерн-распознающими рецепторами хозяина, которые включают семейство Toll-подобных рецепторов. Toll-подобные рецепторы затем активируют противовирусные и провоспалительные медиаторы, такие как интерлейкин (IL)-6, IL-8 и интерферон (IFN)-γ, посредством активации ядерного фактора транскрипции каппа-B (NF-κB). Важность NF-κB в экспрессии провоспалительных генов, особенно в легких, была подчеркнута исследованиями, направленными на изучение инфекции SARS-CoV у неклинических видов, а также у пациентов. У мышей, инфицированных SARS-CoV, фармакологическое ингибирование NF-κB приводило к более высокой выживаемости и снижению экспрессии фактора некроза опухоли альфа (TNFα), CCL2 и CXCL2 в легких.

Ранние исследования *in vitro* показали, что плитидепсин индуцирует подавление NF-κB в опухолевых клетках. Впоследствии были также проведены исследования как *in vitro*, так и *ex vivo* для оценки воздействия плитидепсина на иммунные клетки.

Исследования *in vitro* проводили с использованием клеток THP-1, спонтанно иммортализованной моноцитоподобной клеточной линии, полученной из периферической крови ребенка с острым моноцитарным лейкозом, которая широко используется для изучения структуры и функции моноцитов. Результаты показали, что все соединения, имитирующие патоген-ассоциированные молекулярные паттерны, индуцировали продукцию провоспалительных цитокинов в клетках THP-1, а добавление плитидепсина значительно снижало секрецию провоспалительных цитокинов.

В исследовании *ex vivo* оценивали влияние плитидепсина на экспрессию цитокинов IL-6, IL-10 и TNFα в легких мышей. Результаты показали, что кластер дифференцировки клеток (CD)45+ мышей, получавших плацебо, был способен продуцировать IL-6, IL-10 и TNFα при стимуляции LPS (липополисахарид)-B5. Однако клетки CD45+ мышей, получавших плитидепсин, не показали заметного увеличения IL-6, IL-10 и TNFα по сравнению с нестимулированным контролем. Эти результаты свидетельствуют о том, что воздействие плитидепсина *in vivo* предотвращает повышенную продукцию провоспалительных цитокинов, опосредованную LPS-B5, в клетках CD45+, выделенных из бронхоальвеолярного лаважа.

Соединения по изобретению могут быть использованы в фармацевтических композициях, обладающих биологической/фармакологической активностью, для лечения вышеупомянутых инфекций и связанных с ними состояний. Эти фармацевтические композиции содержат соединение по изобретению вместе с фармацевтически приемлемым носителем. Термин «носитель» относится к разбавителю, адъюванту, эксципиенту или носителю, с которым вводят активный ингредиент. Подходящие фармацевтические носители описаны в «Remington's Pharmaceutical Sciences» E.W. Martin, 1995. Примеры фармацевтических композиций включают любые твердые (таблетки, пилюли, капсулы, гранулы и так далее) или жидкие (растворы, суспензии, эмульсии и так далее) композиции для перорального, местного или парентерального введения. Фармацевтические композиции, содержащие соединения по изобретению, могут быть доставлены посредством инкапсуляции в липосомы или наносферы, в препаратах с продолжительным высвобождением или с помощью других стандартных средств доставки.

Типичная композиция находится в форме порошка для приготовления раствора для инфузий. Например, композиции, как описано в WO 9942125. Например, лиофилизированный препарат соединения по изобретению, содержащий

водорастворимое вещество, и, во-вторых, раствор смешанных растворителей для восстановления. Конкретным примером является лиофилизированный препарат PLD и маннита и раствор смешанных растворителей для восстановления, например ПЭГ-35 касторового масла, этанола и воды для инъекций. Каждый флакон, например, может содержать 2 мг PLD. После восстановления каждый мл восстановленного раствора может содержать: 0,5 мг PLD, 158 мг ПЭГ-35 касторового масла и 0,15 мл/мл этанола.

Конкретная дозировка и схема лечения для любого конкретного пациента могут варьироваться и будут зависеть от множества факторов, включая активность конкретного используемого соединения, конкретный используемый препарат, способ применения, возраст, массу тела, общее состояние здоровья, пол, режим питания, время введения, скорость выведения, комбинацию лекарственных средств, аллергические реакции и тяжесть конкретного заболевания или состояния, подвергаемого лечению.

В воплощениях изобретения соединения по настоящему изобретению могут быть введены в соответствии с режимом дозирования суточной дозы.

В воплощениях изобретения соединения по настоящему изобретению могут быть введены в соответствии с режимом дозирования один раз в сутки.

В дополнительных воплощениях соединения по настоящему изобретению могут быть введены в соответствии с режимом дозирования суточной дозы в течение 10 суток, 9 суток, 8 суток, 7 суток, 6 суток, 5 суток, 4 суток, 3 суток, 2 суток или 1 суток. Предпочтительный режим составляет 2-5 суток, или 3-5 суток, или 3, 4 или 5 суток, наиболее предпочтительно 3 суток или 5 суток.

Доза может составлять 5 мг в сутки или менее, 4,5 мг в сутки или менее, 4 мг в сутки или менее, 3,5 мг в сутки или менее, 3 мг в сутки или менее, 2,5 мг в сутки или менее или 2 мг в сутки или менее.

Конкретные дозы включают 0,5 мг/сутки, 1 мг/сутки, 1,5 мг/сутки, 2 мг/сутки, 2,5 мг/сутки, 3 мг/сутки, 3,5 мг/сутки, 4 мг/сутки, 4,5 мг/сутки или 5 мг/сутки. Предпочтительные дозы составляют 1 мг/сутки, 1,5 мг/сутки, 2 мг/сутки и 2,5 мг/сутки.

В других воплощениях соединения по настоящему изобретению могут быть введены в общей дозе 1-50 мг, 1-40 мг, 1-30 мг, 1-20 мг, 1-15 мг, 3-15 мг, 3-12 мг, 4-12 мг, 4-10 мг или 4,5-10 мг. Общие дозы могут составлять 4 мг, 4,5 мг, 5 мг, 5,5 мг, 6 мг, 6,5 мг, 7 мг, 7,5 мг, 8 мг, 8,5 мг, 9 мг, 9,5 мг или 10 мг. Предпочтительные общие дозы составляют 4,5 мг, 5 мг, 6 мг, 7,5 мг, 8 мг, 9 мг или 10 мг. Общая доза может быть разделена на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 суток, предпочтительно на 3 суток или 5 суток.

В конкретном воплощении соединения по настоящему изобретению могут быть введены в соответствии с режимом дозирования один раз в сутки в течение 5 суток в дозе 2,5 мг в сутки или менее.

В другом воплощении соединения по настоящему изобретению могут быть введены в соответствии с режимом дозирования один раз в сутки в течение 5 суток в дозе 2 мг в сутки или менее.

В другом воплощении соединения по настоящему изобретению могут быть введены в соответствии с режимом дозирования один раз в сутки в течение 3 суток в дозе 1,5 мг в сутки или менее.

В другом воплощении соединения по настоящему изобретению могут быть введены в соответствии с режимом дозирования один раз в сутки в течение 3 суток в дозе 2 мг в сутки или менее.

В другом воплощении соединения по настоящему изобретению могут быть введены в соответствии с режимом дозирования один раз в сутки в течение 3 суток в дозе 2,5 мг в сутки или менее.

В другом воплощении соединения по настоящему изобретению могут быть введены в соответствии с режимом дозирования один раз в сутки в течение 3 суток в дозе 1,5 мг в сутки.

В другом воплощении соединения по настоящему изобретению могут быть введены в соответствии с режимом дозирования один раз в сутки в течение 3 суток в дозе 2,0 мг в сутки.

В другом воплощении соединения по настоящему изобретению могут быть введены в соответствии с режимом дозирования один раз в сутки в течение 3 суток в дозе 2,5 мг в сутки.

В другом воплощении соединения по настоящему изобретению могут быть введены в соответствии с режимом дозирования один раз в сутки в течение 3 суток в дозе от 1,5 до 2,5 мг в сутки.

Альтернативный режим представляет собой однократную дозу в 1-е сутки. Режим однократного дозирования может быть особенно подходящим для лечения легкой инфекции; уменьшения связанных с коронавирусной инфекцией осложнений, включая госпитализацию, попадание в отделение интенсивной терапии и смерть; профилактики, уменьшения, предотвращения или лечения персистирующего COVID, долгого COVID, пост-COVID-синдрома; и/или снижения инфекционности пациентов с CoV.

Однократная доза может составлять 1-10 мг, 4-10 мг, 4,5-10 мг; 4 мг, 4,5 мг, 5 мг, 5,5 мг, 6 мг, 6,5 мг, 7 мг, 7,5 мг, 8 мг, 8,5 мг, 9 мг, 9,5 мг или 10 мг; предпочтительно 4,5 мг, 5 мг, 6 мг, 7,5 мг, 8 мг, 9 мг или 10 мг; более предпочтительно 5-9 мг, 6,5-8,5 мг, 7-8 мг или 7,5 мг.

В другом воплощении соединения по настоящему изобретению могут быть введены в соответствии с настоящим изобретением, при этом соединения по настоящему изобретению вводят с кортикостероидом. Предпочтительно кортикостероид представляет собой дексаметазон.

Кортикостероид можно вводить ежедневно вместе с соединениями по настоящему изобретению. Введение может быть поочередным, одновременным или последовательным. Кортикостероид можно дополнительно вводить в дни после введения соединений по настоящему изобретению. Например, при 3-суточном режиме дозирования кортикостероид можно вводить на 1-3 сутки, а затем дополнительно вводить ежедневно в течение 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 или более суток.

В конкретном воплощении кортикостероид можно вводить на 1-3 сутки путем внутривенного введения, а затем на 6-10 сутки путем перорального введения. В другом воплощении доза кортикостероида может быть выше во время фазы совместного введения с соединениями по настоящему изобретению и снижена в последующие сутки.

Конкретные схемы дозирования включают:

• Плитидепсин в дозе 1,5 мг/сутки внутривенно (в/в) в комбинации с 6,6 мг/сутки дексаметазона в/в на 1-3 сутки с последующим введением 6 мг/сутки дексаметазона перорально (п/о)/в/в с 4-х и по 10-е сутки (согласно заключению врача в соответствии с клиническим состоянием пациента и дальнейшим развитием клинической картины).

• Плитидепсин в дозе 2,0 мг/сутки внутривенно (в/в) в комбинации с 6,6 мг/сутки дексаметазона в/в на 1-3 сутки с последующим введением 6 мг/сутки дексаметазона перорально (п/о)/в/в с 4-х по 10-е сутки (согласно заключению врача в соответствии с клиническим состоянием пациента и дальнейшим развитием клинической картины).

• Плитидепсин в дозе 2,5 мг/сутки внутривенно (в/в) в комбинации с 6,6 мг/сутки дексаметазона в/в на 1-3 сутки с последующим введением 6 мг/сутки дексаметазона перорально (п/о)/в/в с 4-х по 10-е сутки (согласно заключению врача в соответствии с клиническим состоянием пациента и дальнейшим развитием клинической картины).

В одном воплощении, чтобы избежать реакций, связанных с инфузионным введением, пациенты могут получать следующие лекарственные средства за 20-30 минут до начала инфузии соединения по настоящему изобретению:

• ондансетрон 8 мг в/в (или эквивалент);

• дифенгидрамина гидрохлорид 25 мг в/в (или эквивалент);

• ранитидин 50 мг в/в (или эквивалент);

• дексаметазон 6,6 мг внутривенно (включен в приведенную выше схему).

Кроме того, на 4 и 5 сутки пациенты, получавшие лечение соединениями по настоящему изобретению, могут получать ондансетрон по 4 мг дважды в сутки п/о.

Дозы дексаметазона, ондансетрона и ранитидина определены здесь в расчете на основную форму. Доза дифенгидрамина гидрохлорида дана в расчете на гидрохлорид. Дозы соединений по изобретению даны в расчете на основную форму.

Суточные дозы могут быть введены в виде инфузии. Инфузия может представлять собой 1-часовую инфузию, 1,5-часовую инфузию, 2-часовую инфузию, 3-часовую инфузию или дольше. Предпочтительно инфузия длится 1,5 часа.

В некоторых воплощениях доза может быть введена в соответствии со схемой, в которой применяют нагрузочную дозу и поддерживающую дозу. Нагрузочные/поддерживающие дозы по настоящему изобретению включают:

нагрузочную дозу 2,5 мг на 1-е сутки с последующим введением поддерживающей дозы 2 мг/сутки в течение последующих суток;

нагрузочную дозу 2,5 мг на 1-е сутки с последующим введением поддерживающей дозы 1,5 мг/сутки в течение последующих суток;

нагрузочную дозу 2,5 мг на 1-е сутки с последующим введением поддерживающей дозы 1 мг/сутки в течение последующих суток;

нагрузочную дозу 2,5 мг на 1-е сутки с последующим введением поддерживающей дозы 0,5 мг/сутки в течение последующих суток;

нагрузочную дозу 2 мг на 1-е сутки с последующим введением поддерживающей дозы 1,5 мг/сутки в течение последующих суток;

нагрузочную дозу 2 мг на 1-е сутки с последующим введением поддерживающей дозы 1 мг/сутки в течение последующих суток;

нагрузочную дозу 2 мг на 1-е сутки с последующим введением поддерживающей дозы 0,5 мг/сутки в течение последующих суток;

нагрузочную дозу 1,5 мг на 1-е сутки с последующим введением поддерживающей дозы 1 мг/сутки в течение последующих суток;

нагрузочную дозу 1,5 мг на 1-е сутки с последующим введением поддерживающей дозы 0,5 мг/сутки в течение последующих суток; и

нагрузочную дозу 1 мг на 1-е сутки с последующим введением поддерживающей дозы 0,5 мг/сутки в течение последующих суток.

В соответствии с дополнительным воплощением суточная доза может быть снижена в последние сутки или несколько суток режима.

В соответствии с дополнительным воплощением, если суточная доза составляет 2 мг, доза может быть снижена до 1 мг на 4-е и 5-е сутки.

Конкретные схемы дозирования включают:

- 1 мг плитидепсина, вводимого в виде 1,5-часовой инфузии один раз в сутки в течение 5 суток подряд (суммарная доза 5 мг);

- 2 мг плитидепсина, вводимого в виде 1,5-часовой инфузии один раз в сутки в течение 5 суток подряд. По усмотрению исследователя доза может быть снижена до 1 мг/сутки на 4-е и 5-е сутки (суммарная доза 8-10 мг);

- 1,5 мг плитидепсина, вводимого в виде 1,5-часовой инфузии один раз в сутки в течение 3 суток подряд (суммарная доза 4,5 мг);

- 2 мг плитидепсина, вводимого в виде 1,5-часовой инфузии один раз в сутки в течение 3 суток подряд (суммарная доза 6 мг); и

- 2,5 мг плитидепсина, вводимого в виде 1,5-часовой инфузии один раз в сутки в течение 3 суток подряд (суммарная доза 7,5 мг).

Схема однократного дозирования включает:

• Плитидепсин, вводимый в виде 1,5-часовой инфузии один раз в 1-е сутки в дозе 1-10 мг, 4-10 мг, 4,5-10 мг, 4 мг, 4,5 мг, 5 мг, 5,5 мг, 6 мг, 6,5 мг, 7 мг, 7,5 мг, 8 мг, 8,5 мг, 9 мг, 9,5 мг или 10 мг, предпочтительно 4,5 мг, 5 мг, 6 мг, 7,5 мг, 8 мг, 9 мг или 10 мг, более предпочтительно 5-9 мг, 6,5-8,5 мг, 7-8 мг или наиболее предпочтительно 7,5 мг.

• Схема однократного дозирования может дополнительно включать следующие профилактические лекарственные препараты за 20-30 минут до инфузии плитидепсина:

- дифенгидрамина гидрохлорид 25 мг в/в,

- ранитидин 50 мг в/в,

- дексаметазон 6,6 мг внутривенно,

- ондансетрон 8 мг в/в в виде медленной 15-минутной инфузии.

• 4 мг ондансетрона перорально можно назначать каждые 12 часов в течение 3 суток после введения плитидепсина для облегчения тошноты и рвоты, вызванных лекарственными препаратами. Если плитидепсин вводят утром, пациент может получить первую дозу ондансетрона во второй половине дня.

В соответствии с дополнительными воплощениями пациенты могут быть отобраны для лечения плитидепсином на основании клинических параметров и/или характеристик пациента. Подходящими параметрами могут являться измерения, раскрытые в настоящей заявке.

Схемы и дозы, описанные выше, применимы к обоим способам лечения согласно настоящему изобретению, их применению и применению соединения, как определено здесь, в изготовлении лекарственных средств, как определено здесь.

В воплощениях настоящее изобретение относится к соединению для применения в соответствии с настоящим изобретением, где соединение вводят в комбинации с одним или более чем одним из следующих профилактических лекарственных средств: дифенгидрамина гидрохлоридом, ранитидином, дексаметазоном, ондансетроном. В частности, с одним или более чем одним из 25 мг гидрохлорида дифенгидрамина в/в или эквивалента; 50 мг ранитидина в/в или эквивалента; 8 мг дексаметазона внутривенно; 8 мг ондансетрона в/в в виде медленной 15-минутной инфузии или эквивалента. Пациенты могут получать указанные профилактические лекарственные средства за 20-30 минут до инфузии плитидепсина. 8 мг дексаметазона внутривенно могут быть представлены в виде дексаметазона фосфата, что соответствует 6,6 мг дексаметазона основания.

Чтобы обеспечить более краткое описание, некоторые из количественных выражений, приведенных здесь, не снабжены термином «приблизительно». Понятно, что независимо от того, используется ли термин «приблизительно» непосредственно или нет, каждая величина, приведенная здесь, подразумевается как относящаяся к фактическому заданному значению, а также относится к приближению к такому заданному значению, которое можно логично вывести на основе опыта специалиста в данной области техники, включая эквиваленты и приближения, обусловленные условиями эксперимента и/или измерения для такого заданного значения.

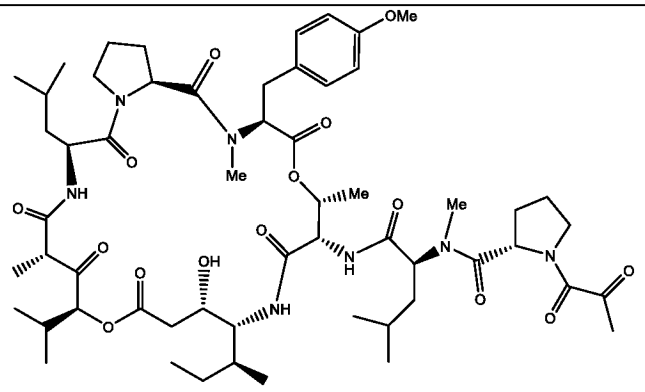
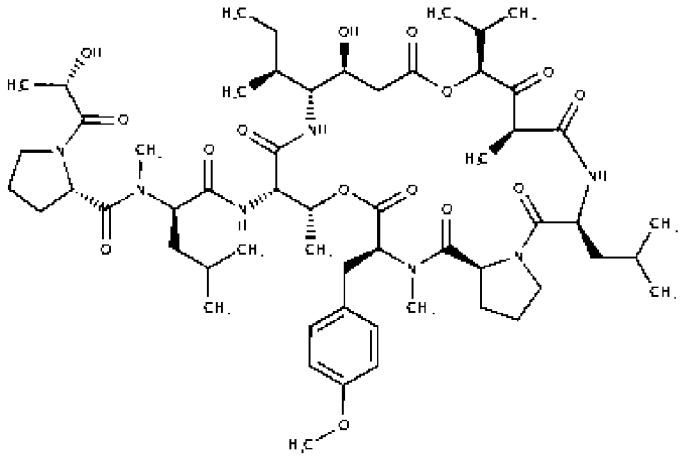
В то время как вышеприведенное раскрытие обеспечивает общее описание предмета, который охватывается объемом настоящего изобретения, включая способы, а также наилучший принцип его осуществления и применения этого изобретения, следующие примеры приведены для того, чтобы дополнительно обеспечить

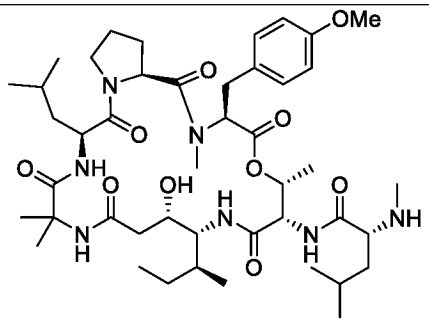
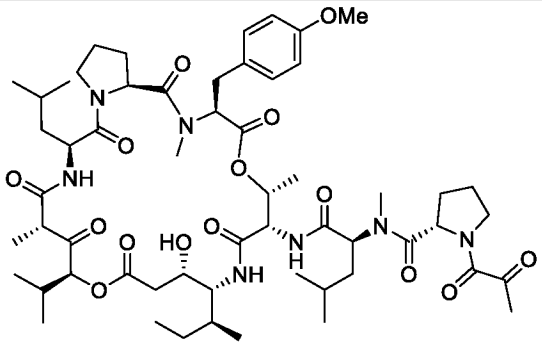
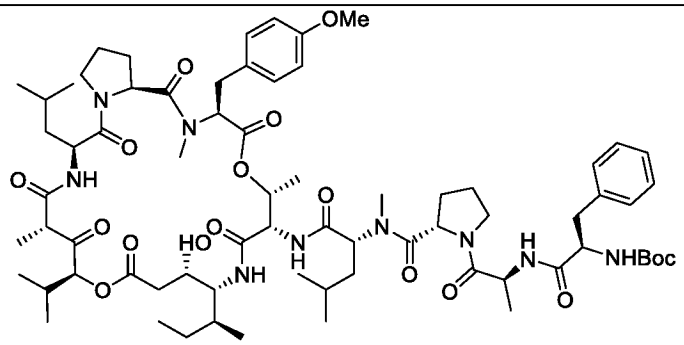
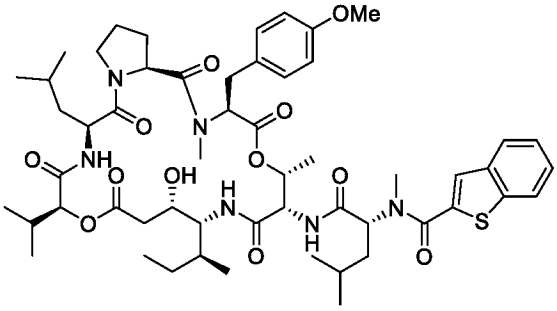
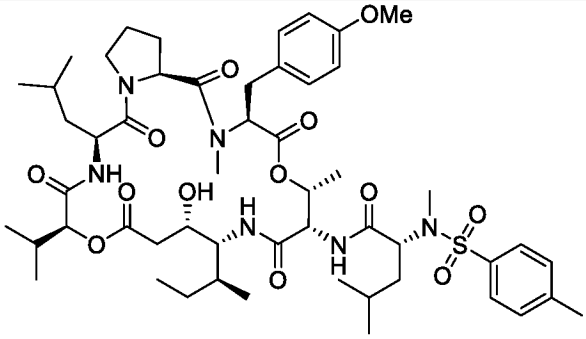
возможность специалистам в данной области техники применять это изобретение на практике и предоставить его полное письменное описание. Однако специалистам в данной области техники будет понятно, что отличительные признаки этих примеров не следует рассматривать как ограничивающие изобретение, объем которого следует понимать из формулы изобретения и ее эквивалентов, прилагаемых к настоящему описанию. Различные дополнительные аспекты и воплощения настоящего изобретения будут очевидны специалистам в данной области техники ввиду настоящего раскрытия.

ПРИМЕРЫ

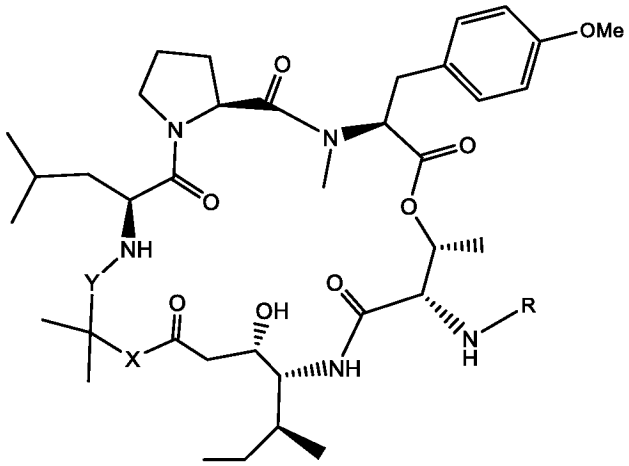
Соединения по настоящему изобретению могут быть получены согласно способам, изложенным в литературе, например: Vera et al. Med. Res. Rev. 2002, 22(2), 102-145, WO 2011/020913 (см., в частности, Примеры 1-5), WO 02/02596, WO 01/76616 и WO 2004/084812, содержание которых включено здесь посредством ссылки.

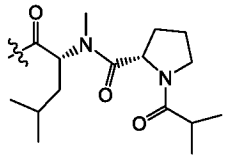
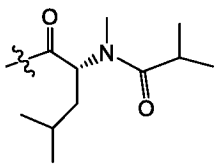
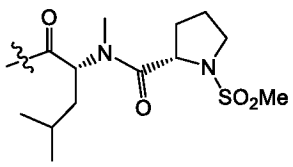
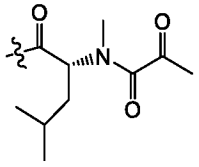
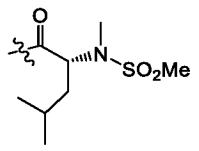
Конкретные соединения, используемые в экспериментах по настоящему изобретению, представляют собой:

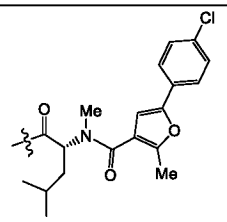
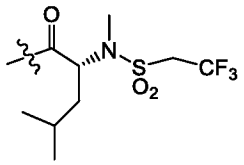
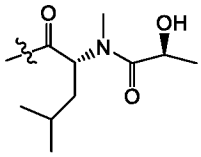
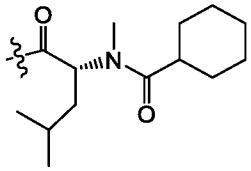
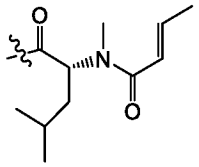
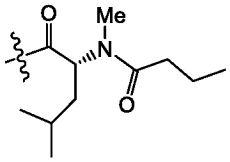
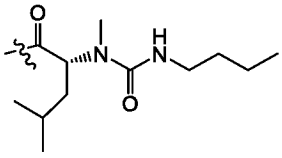
Соединение	Структура
PLD	
Дидемнин B (соединение 240)	

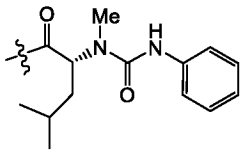
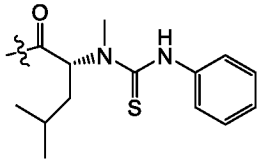
Соединение 3	
Соединение 8	
Соединение 9	
Соединение 10	
Соединение 11	

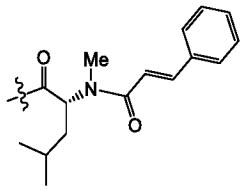
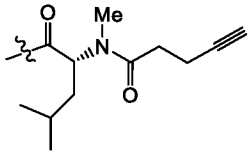
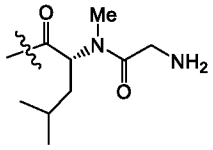
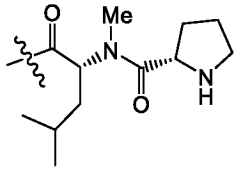
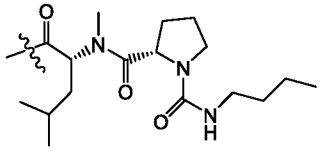
Следуя способам, описанным в WO 02/02596 и в данном описании и дополнительно раскрытым в предыдущих примерах, можно получить следующие соединения:

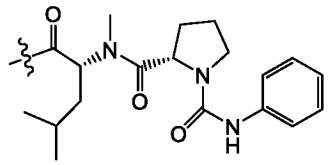
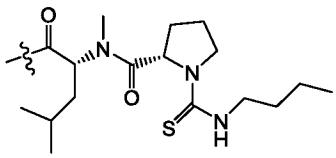
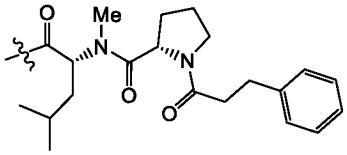
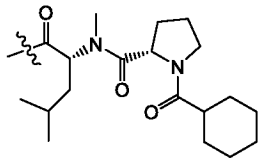
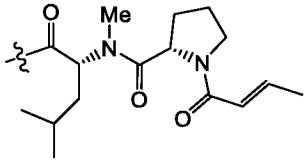


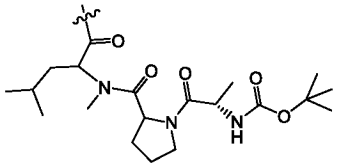
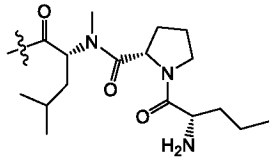
Соединение	X	Y	R
12	O	CO	
13	NH	CO	
14	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
15	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
16	O	CO	
17	NH	CO	
18	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
19	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
20	O	CO	
21	NH	CO	
22	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
23	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
24	O	CO	
25	NH	CO	
26	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
27	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
28	O	CO	
29	NH	CO	
30	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
31	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	

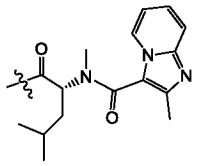
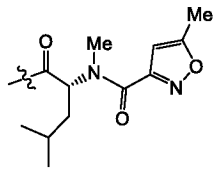
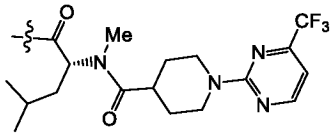
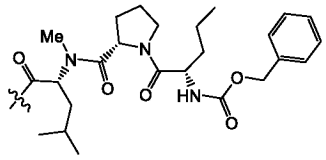
Соединение	X	Y	R
32	O	CO	
33	NH	CO	
34	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
35	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
36	O	CO	
37	NH	CO	
38	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
39	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
40	O	CO	
41	NH	CO	
42	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
43	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
44	O	CO	
45	NH	CO	
46	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
47	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
48	O	CO	
49	NH	CO	
50	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
51	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
52	O	CO	
53	NH	CO	
54	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
55	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
56	O	CO	
57	NH	CO	
58	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
59	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	

Соединение	X	Y	R
60	O	CO	
61	NH	CO	
62	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
63	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
64	O	CO	
65	NH	CO	
66	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
67	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	

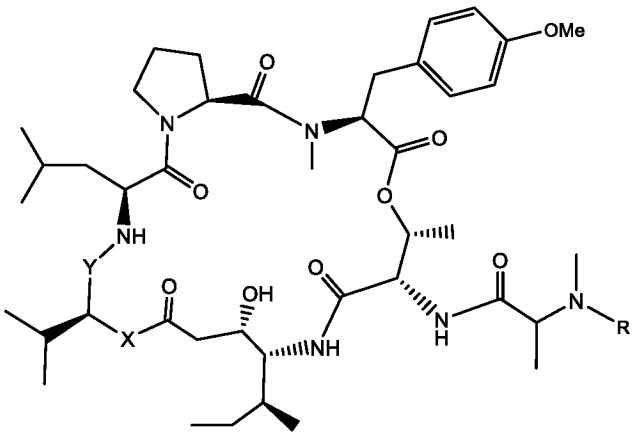
Соединение	X	Y	R
68	O	CO	
69	NH	CO	
70	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
71	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
72	O	CO	
73	NH	CO	
74	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
75	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
76	O	CO	
77	NH	CO	
78	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
79	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
80	O	CO	
81	NH	CO	
82	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
83	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
84	O	CO	
85	NH	CO	
86	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
87	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	

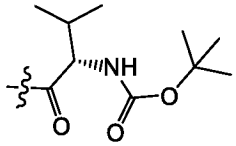
88	O	CO	
89	NH	CO	
90	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
91	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
92	O	CO	
93	NH	CO	
94	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
95	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
96	O	CO	
97	NH	CO	
98	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
99	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
100	O	CO	
101	NH	CO	
102	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
103	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
104	O	CO	
105	NH	CO	
106	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
107	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	

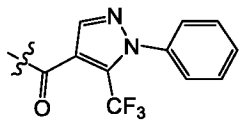
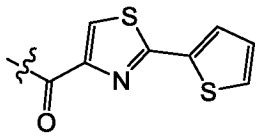
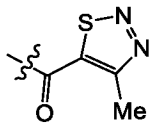
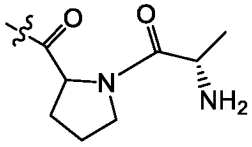
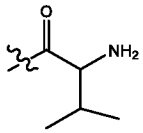
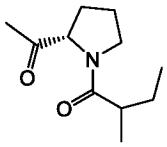
Соединение	**X**	**Y**	**R**
108	O	CO	
109	NH	CO	
110	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
111	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
112	O	CO	
113	NH	CO	
114	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
115	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	

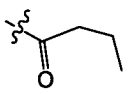
116	O	CO	
117	NH	CO	
118	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
119	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
120	O	CO	
121	NH	CO	
122	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
123	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
124	O	CO	
125	NH	CO	
126	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
127	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
128	O	CO	
129	NH	CO	
130	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
131	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	

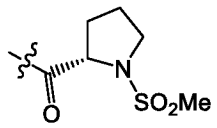
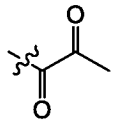
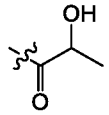
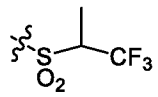
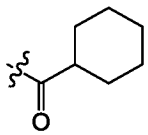
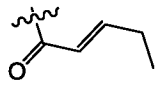
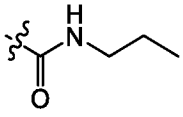
Следуя способам, описанным в WO 02/02596 и в описании, и дополнительно раскрытым в предыдущих примерах, можно получить следующие соединения:

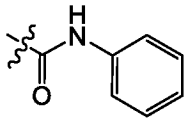


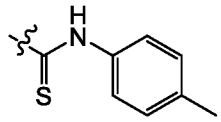
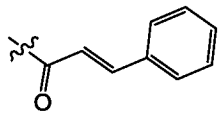
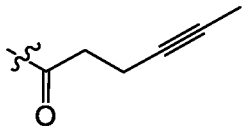
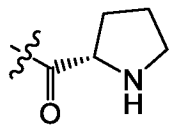
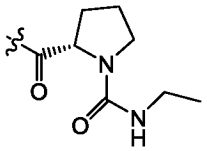
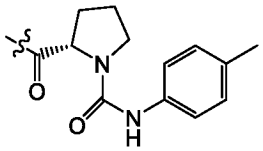
Соединение	X	Y	R
132	O	CO	
133	NH	CO	
134	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
135	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	

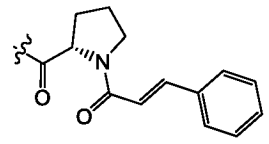
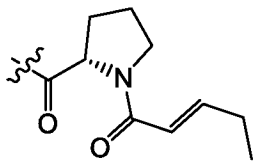
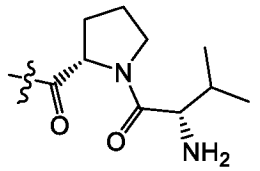
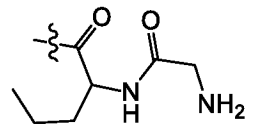
Соединение	X	Y	R
136	O	CO	
137	NH	CO	
138	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
139	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
140	O	CO	
141	NH	CO	
142	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
143	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
144	O	CO	
145	NH	CO	
146	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
147	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
148	O	CO	
149	NH	CO	
150	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
151	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
152	O	CO	
153	NH	CO	
154	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
155	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
156	O	CO	
157	NH	CO	
158	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
159	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	

Соединение	X	Y	R
160	O	CO	
161	NH	CO	
162	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
163	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	

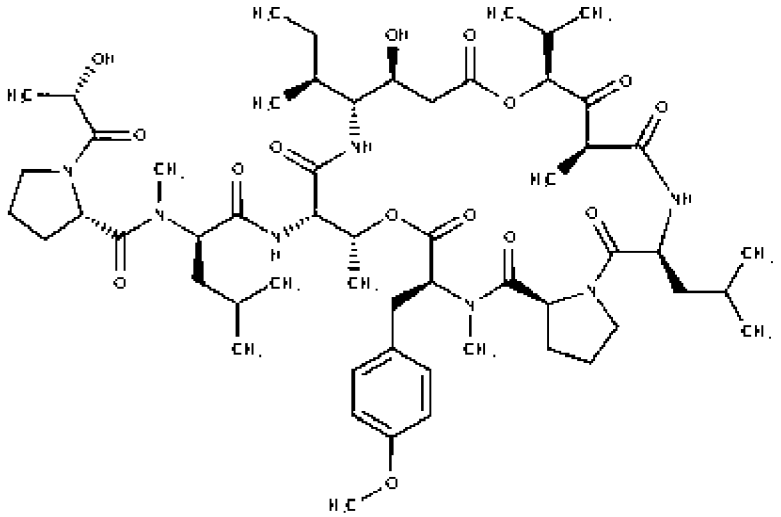
164	O	CO	
165	NH	CO	
166	O	–COCH(CH_3)CO-	
167	NH	–COCH(CH_3)CO-	
168	O	CO	
169	NH	CO	
170	O	–COCH(CH_3)CO-	
171	NH	–COCH(CH_3)CO-	
172	O	CO	
173	NH	CO	
174	O	–COCH(CH_3)CO-	
175	NH	–COCH(CH_3)CO-	
176	O	CO	-SO_2Me
177	NH	CO	
178	O	–COCH(CH_3)CO-	
179	NH	–COCH(CH_3)CO-	
180	O	CO	
181	NH	CO	
182	O	–COCH(CH_3)CO-	
183	NH	–COCH(CH_3)CO-	
184	O	CO	
185	NH	CO	
186	O	–COCH(CH_3)CO-	
187	NH	–COCH(CH_3)CO-	
188	O	CO	
189	NH	CO	
190	O	–COCH(CH_3)CO-	
191	NH	–COCH(CH_3)CO-	
192	O	CO	
193	NH	CO	
194	O	–COCH(CH_3)CO-	
195	NH	–COCH(CH_3)CO-	

196	O	CO	
197	NH	CO	
198	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
199	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	

Соединение	**X**	**Y**	**R**
200	O	CO	
201	NH	CO	
202	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
203	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
204	O	CO	
205	NH	CO	
206	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
207	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
208	O	CO	
209	NH	CO	
210	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
211	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
212	O	CO	
213	NH	CO	
214	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
215	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
216	O	CO	
217	NH	CO	
218	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
219	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
220	O	CO	
221	NH	CO	
222	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
223	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	

224	O	CO	
225	NH	CO	
226	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
227	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
228	O	CO	
229	NH	CO	
230	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
231	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
232	O	CO	
233	NH	CO	
234	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
235	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	
236	O	CO	
237	NH	CO	
238	O	–COCH(CH$_3$)CO-	
239	NH	–COCH(CH$_3$)CO-	

Еще одним соединением является Соединение 240, известное как дидемнин B, структура которого показана ниже:



ПРИМЕР 1

Анализ рекомбинантного вируса проводили как на клетках MT-2, так и на PBMC (мононуклеарные клетки периферической крови), предварительно активированных PHA

(фитогемагглютинин) плюс IL-2. Клетки инфицировали супернатантами, полученными из клеток 293t, трансфицированных полноразмерными инфекционными плазмидами ВИЧ-1: pNL4.3-Luc (X4-тропный вирус), pNL4.3-Renilla (X4-тропный вирус, способный проводить более одного цикла репликации), pNL4.3-Δenv-Luc плюс pVSV-env (ВИЧ, псевдотипированный белком G VSV (вирус везикулярного стоматита)) или pJR-Renilla (R5-тропный вирус, способный проводить более одного цикла репликации). Устойчивые вирусы были получены посредством клонирования в *pol* ген плазмиды NL4.3-Renilla вирусов от разных инфицированных доноров. Вирус 9D несет следующие мутации: 41L, 67N, 70R, 98G, 118I, 184V, 215F, 219Q, 74I, а вирус 4D: K65R, K70R, V75I, F77L, F116Y, Q151M, M184I, L10I. Затем анализ проводили в 96-луночных микропланшетах, засеянных 100 мкл, содержащими 250000 (PBMC) или 100000 (MT-2) клеток на лунку. Тестируемые соединения добавляли к культуре в диапазоне концентраций от 50 до 0,0016 мкг/мл (100 мкл/лунка). Наконец, клеточную культуру инфицировали супернатантами, полученными в результате трансфекции различными плазмидами, описанными выше. Через 48 часов супернатант клеточной культуры удаляли и клетки лизировали с помощью системы анализа люциферазы или системы анализа люциферазы Renilla (оба от компании Promega) согласно инструкциям производителя, и активность люциферазы Renilla измеряли с помощью люминометра (Berthold Detection systems). Все эксперименты контролировали с помощью клеток, обработанных носителем (DMSO), и необработанных клеток.

Ингибирование репликации ВИЧ-1 оценивали посредством измерения снижения активности люциферазы Renilla или RLU (относительных световых единиц) на люминометре при 100% инфицировании необработанных клеток.

Соединение 3 (Фиг. 1A и 1B) продемонстрировало противовирусную активность как в клетках MT-2, так и в PBMC (IC_{50} 1,39 мкМ и 0,16 мкМ, соответственно). Это соединение было более токсичным для PBMC, как показано на Фиг. 1. Токсичные концентрации не достигались при 57,3 мкМ в клетках MT-2, в то время как в PBMC значение CC_{50} составляло приблизительно 27 мкМ.

Соединение 8 (Фиг. 2A и 2B) также продемонстрировало противовирусную активность как в клетках MT-2, так и в PBMC. Хотя при концентрации 50 мкМ она была неспецифической, при 10 мкМ она была специфической, при этом значение IC_{50} было в 100 раз ниже.

Соединения 9 (Фиг. 3A и 3B), 10 (Фиг. 4A и 4B) и 11 (Фиг. 5A и 5B) были наиболее эффективными соединениями из всех протестированных соединений. Соединения 9, 10 и 11 продемонстрировали значения IC_{50} в наномолярном диапазоне в PBMC (0,63, 0,86 и 69,4 нМ, соответственно), и они являются одними из наиболее эффективных противовирусных соединений *in vitro*, описанных в литературе.

ПРИМЕР 2

Противовирусную активность соединений по изобретению тестировали на клетках Huh-7 (клеточная линия гепатомы человека), инфицированных HCoV-229E. HCoV-229E имеет механизм размножения и распространения, очень похожий на SARS-COV-2. Действительно, N-белок HCoV-229E обладает более чем 90% белковой гомологией с гомологичным N-белком в SARS-CoV-2. Полагают, что всем коронавирусам необходим N-белок (нуклеокапсид), чтобы связываться с EF1A для эффективной репликации и синтеза вирусных белков. Снижение или прекращение связывания N с EF1A снижает жизнеспособность вируса для распространения.

Соединения по изобретению, представленные в Таблице 1 ниже, разводили в DMSO и хранили при -20ºC.

Клетки Huh-7 (клеточная линия гепатомы человека), выращенные до конфлюентности в M96-луночном планшете, инфицировали вирусом HCoV-229E-GFP при MOI (множественность заражения) 0,01 БОЕ (бляшкообразующие единицы). Вирусный материал представлял собой HCoV-229E-GFP (от 31 января 2013 года) в концентрации $3x10^7$ БОЕ/мл.

Через 8 часов после инфицирования среду заменяли средой с соответствующими разведениями соединений (конечная концентрация DMSO 2%), следуя схеме:

Таблица 1

	1	2	3	4	5
A (Фиг. 6-10)	50 нМ	5 нМ	0,5 нМ	5 нМ	0,5 нМ
B (Фиг. 11-14)	50 нМ	5 нМ	0,5 нМ	0,5 нМ	
C (Фиг. 15-18)	50 нМ	5 нМ	0,5 нМ	0,5 нМ	
D (Фиг. 19-21)	50 нМ	5 нМ	0,5 нМ		
E (Фиг. 22-24)	50 нМ	5 нМ	0,5 нМ		
F (Фиг. 25-28)	50 нМ	5 нМ	0,5 нМ	0,5 нМ	

A - DMSO (контроль); B - Соединение 240 (дидемнин B); C - PLD; D - Соединение 9; E - Соединение 10; F - PLD.

Флуоресцентные клетки наблюдали через 24 часа после инфицирования. Фотографии были получены при использовании автоматизированной системы. Клетки фиксировали в течение 30 мин с помощью 4% PFA (параформальдегид), промывали PBS (фосфатно-солевой буфер), и ядра клеток окрашивали DAPI (4',6-диамидин-2-фенилиндол), 1:200 в PBS в течение 20 мин при комнатной температуре. Зеленым цветом на изображениях показаны меченные GFP (зеленый флуоресцентный белок) вирусные частицы. Синим цветом на изображениях показаны ядра, окрашенные DAPI.

В течение короткого времени конфлюэнтные культуры Huh-7 инфицировали при множественности заражения (MOI) 0,01 БОЕ/лунка вирусным инокулятом 3×10^7 БОЕ/мл, а через 8 часов добавляли плитидепсин в диапазоне концентраций от 0,5 нМ до 50 мкМ. Культуры с плитидепсином инкубировали в течение 48 часов и затем определяли жизнеспособность вируса с помощью флуоресценции. Полученные результаты показали противовирусный эффект, индуцированный плитидепсином при концентрациях всего лишь 0,5 нМ (0,555 мкг/л), что намного ниже, чем у других противовирусных препаратов.

Показано, что соединения по изобретению являются эффективными противовирусными агентами в диапазоне протестированных концентраций, сохраняя при этом жизнеспособность клеток.

ПРИМЕР 3

Многоцентровое рандомизированное параллельное и подтверждающее концепцию исследование было проведено для оценки профиля безопасности трех доз плитидепсина у пациентов с COVID-19, нуждающихся в госпитализации. Подробности исследования доступны через ClinicalTrials.gov Идентификатор: NCT04382066.

Основная цель исследования состояла в том, чтобы определить профиль безопасности и токсикологический профиль плитидепсина при каждом уровне дозы, вводимой в соответствии с предложенной схемой введения, у пациентов с диагностированным COVID-19.

Вторичные цели состояли в том, чтобы оценить эффективность плитидепсина у пациентов с COVID-19 при предложенных уровнях доз исходя из: изменения вирусной нагрузки SARS-CoV-2 по сравнению с исходным уровнем; времени до отрицательного результата теста на обнаружение SARS-CoV-2 посредством метода ПЦР; кумулятивной инцидентности по тяжести заболевания (оценка на основании: летальности; потребности в инвазивной искусственной вентиляции легких и/или госпитализации в отделение

интенсивной терапии; потребности в неинвазивной искусственной вентиляции легких; потребности в оксигенотерапии) и подбора рекомендуемых уровней доз плитидепсина для II/III фазы исследования эффективности.

Пациенты, включенные в исследование, были рандомизированы в соотношении 1:1:1 для получения:

- Группа (A) 1,5 мг плитидепсина, вводимого в виде 1,5-часовой инфузии один раз в сутки в течение 3 суток подряд (суммарная доза 4,5 мг).

- Группа (B) 2,0 мг плитидепсина, вводимого в виде 1,5-часовой инфузии один раз в сутки в течение 3 суток подряд (суммарная доза 6,0 мг).

- Группа (C) 2,5 мг плитидепсина, вводимого в виде 1,5-часовой инфузии один раз в сутки в течение 3 суток подряд (суммарная доза 7,5 мг).

Все пациенты за 20-30 минут до инфузии плитидепсина получали следующие профилактические лекарственные препараты:

- дифенгидрамина гидрохлорид 25 мг в/в или эквивалент;

- ранитидин 50 мг в/в или эквивалент;

- дексаметазон 6,6 мг внутривенно;

- ондансетрон 8 мг в/в в виде медленной 15-минутной инфузии или эквивалент.

Пациенты, включенные в исследование, получали лечение в течение 3 суток.

Плитидепсин выпускают в виде порошка для приготовления концентрата для приготовления раствора для инфузии в концентрации 2 мг/флакон. Перед применением содержимое флаконов разводят 4 мл растворителя с получением раствора от бесцветного до слегка желтоватого цвета, содержащего 0,5 мг/мл плитидепсина, 25 мг/мл маннита, 0,15 мл/мл масла (рицинолеата макроголглицерина), 0,15 мл/мл этанола и 0,70 мл/мл воды для инъекций. Перед инфузией необходимо сделать дополнительное разведение в любом подходящем растворе для внутривенного введения.

Плитидепсин 2 мг выпускают во флаконах из прозрачного стекла типа I с бромбутиловой резиновой пробкой, закрытой алюминиевым колпачком. В каждом флаконе содержится 2 мг плитидепсина.

Растворитель для восстановления рицинолеат макроголглицерина (полиоксил 35 касторовое масло)/абсолютный этанол/вода для инъекций, 15%/15%/70% (об./об./об.), выпускают во флаконе из бесцветного стекла типа I. Ампулы имеют объем 4 мл.

Плитидепсин будет промаркирован кодом протокола исследования, номером серии, составом, сроком годности, условиями хранения, именем исследователя и

спонсора. Исследуемый препарат будет промаркирован в соответствии с Приложением 13 Европейской надлежащей производственной практики. Плитидепсин следует хранить при температуре от 2°C до 8°C, а флаконы следует хранить в картонной упаковке для защиты от света. Лекарственный препарат в этих условиях стабилен в течение 60 месяцев.

После восстановления во флаконе 2 мг плитидепсина с помощью 4 мл раствора рицинолеат макроголглицерина/этанол/вода для инъекций восстановленный раствор следует развести и использовать сразу после приготовления. Если продукт не используется немедленно, ответственность за время и условия хранения до использования лежит на пользователе. Было показано, что восстановленный концентрированный раствор лекарственного препарата физически, химически и микробиологически стабилен в течение 24 часов при хранении в холодильнике (5°C±3°C) и в течение 6 часов при хранении в оригинальном флаконе при внутреннем освещении при комнатной температуре. Если перед введением требуется хранение, растворы следует хранить в холодильнике и в защищенном от света месте и использовать в течение 24 часов после восстановления.

Концентрация в плазме

На Фиг. 29 проиллюстрировано моделирование профилей общей концентрации плитидепсина в плазме в зависимости от времени после приема суточной дозы (D1-D5) 1,0 мг и 2,0 мг. Горизонтальные черные линии представляют общие концентрации в плазме, связанные с концентрациями в легких, эквивалентные IC_{50}, IC_{90} и $3\times IC_{90}$ *in vitro*. При обоих уровнях дозы (1,0 мг и 2,0 мг) концентрации в плазме выше IC_{50} будут достигаться в течение всего периода лечения и будут оставаться выше IC_{90} в течение большей части интервала введения. Кумуляция после пяти повторных введений является минимальной.

Дальнейший режим дозирования составляет 1,5 мг в сутки в течение 5 суток. На Фиг. 30 проиллюстрирован дополнительный режим, который модулирует общие концентрации плитидепсина в плазме, связанные с начальной фиксированной дозой 1 мг (1 сутки), вводимой в виде 1-часовой в/в инфузии с последующим введением суточных доз по 0,5 мг (D2-D5). При таком режиме дозирования концентрации плитидепсина в плазме превышают IC_{50} в течение всего периода лечения и остаются выше IC_{90} в течение 18 и 14 часов после инфузии дозы 1 мг и 0,5 мг, соответственно. То есть прогнозируется минимальная кумуляция после повторного введения. Согласно

этому режиму предусмотрена нагрузочная доза 1 мг плитидепсина, вводимая в виде 1-часовой в/в инфузии в первые сутки лечения, с последующим введением поддерживающей дозы 0,5 мг один раз в сутки в течение 4 суток.

На Фиг. 31 проиллюстрировано моделирование профилей общей концентрации плитидепсина в плазме в зависимости от времени после приема суточной дозы (D1-D3) 1,5 мг, 2,0 мг и 2,5 мг. Горизонтальные черные линии представляют общие концентрации в плазме, связанные с концентрациями в легких, эквивалентные IC_{50}, IC_{90} и $3\times IC_{90}$ *in vitro*. При всех трех уровнях дозировки (1,5 мг, 2,0 мг и 2,5 мг) концентрации в плазме выше IC_{50} будут достигаться в течение всего периода лечения и будут оставаться выше IC_{90} в течение большей части интервала введения. Кумуляция после трех повторных введений является минимальной.

Промежуточные результаты

На сегодняшний день доступны данные по девяти пациентам. PLD вводили в виде 90-минутной в/в инфузии ежедневно в течение 3 суток подряд (1-3 сутки) с оценкой вирусной нагрузки с помощью ПЦР на исходном уровне, на 4-е сутки, 7-е сутки, 15-е сутки и 31-е сутки.

Пациент 1: мужчина 50 лет, двусторонняя пневмония. Получал PLD 1,5 мг×3. ПЦР-тест на COVID 19: ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ на исходном уровне, сменился на ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (отсутствие вирусной нагрузки) на 4-е сутки. Резкое клиническое улучшение. Выписка из стационара на 7-е сутки. Таким образом, при PLD 1,5 мг×3 вирусная нагрузка была подавлена на 4-е сутки. С PLD достигнуто резкое клиническое улучшение, включая подавление всей вирусной нагрузки и лечение двусторонней пневмонии, что позволило выписать пациента из стационара на 7-е сутки.

Пациент 2: мужчина 40 лет, двусторонняя пневмония. Получал PLD 1,5 мг×3. На шестые сутки улучшение не наступило, переход на ремдесивир плюс TOL плюс кортикоиды плюс опиаты. ПЦР сменился на отрицательный на 15-е сутки, выписка из стационара на 19-е сутки.

Пациент 3: мужчина 53 лет, двусторонняя пневмония. Получал PLD 1,5 мг×3. PLD предотвратил клиническое ухудшение. Выписка из стационара на 10-е сутки, ПЦР сменился на отрицательный на 31-е сутки.

Пациент 4: мужчина 42 лет, двусторонняя пневмония. Получал PLD 2,0 мг×3. Потребовалась терапия кортикостероидами. ПЦР-тест на COVID-19: ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ на исходном уровне и все еще положительный на 7-е сутки. На 15-

е сутки у пациента был отрицательный результат ПЦР, как показано на Фиг. 37a. Пациент в достаточной степени восстановился для выписки из стационара на 10-е сутки.

Пациент 5: женщина 33 лет, двусторонняя пневмония при поступлении. Получала PLD 1,5 мг×3. ПЦР-тест на COVID 19: ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ на исходном уровне, сменился на ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (отсутствие вирусной нагрузки) на 4-е сутки, как показано на Фиг. 37b. Двусторонняя пневмония регрессировала на 6-е сутки (нормальное Rx Lung). Значительное клиническое улучшение. Выписка из стационара на 8-е сутки. Рентгенограммы, показывающие регрессию пневмонии, показаны на Фиг. 34a-c. На Фиг. 34a очевидна двусторонняя пневмония. После лечения PLD замечено улучшение на 6-е сутки. На Фиг. 34b явно виден ламинарный ателектаз. Последующее рентгенологическое исследование на 15-е сутки показало возвращение к норме на Фиг. 34c. При PLD 1,5 мг×3 вирусная нагрузка была подавлена на 4-е сутки. С PLD достигнуто значительное клиническое улучшение, включая подавление всей вирусной нагрузки и лечение двусторонней пневмонии, что позволило выписать пациента из стационара на 8-е сутки.

Пациент 6: женщина 69 лет, ХОБЛ с выраженными симптомами. Односторонняя пневмония при поступлении. Получала PLD 1,5 мг×3. ПЦР-тест на COVID 19: ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ на исходном уровне, сменился на ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (отсутствие вирусной нагрузки) на 7-е сутки, как показано на Фиг. 37c. Видно значительное клиническое улучшение. Пациент выписан на 8-е сутки. Рентгеновские снимки, показывающие прогрессирование пневмонии, показаны на Фиг. 35a-c. На Фиг. 35a очевидна односторонняя пневмония, которая прогрессировала до двусторонней пневмонии на Фиг. 35b. На Фиг. 35c видно улучшение. С PLD достигнуто значительное клиническое улучшение, включая подавление всей вирусной нагрузки и лечение пневмонии, как показано на Фиг. 35d, что позволило выписать пациента из стационара на 8-е сутки.

Пациент 7: женщина 39 лет, инфильтративные изменения в легких. Получала PLD 2,0 мг×3. ПЦР-тест на COVID 19: ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ на исходном уровне, сменился на ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (отсутствие вирусной нагрузки) на 7-е сутки, как показано на Фиг. 37d. После лечения PLD значительное клиническое улучшение. Выписка из стационара на 8-е сутки.

Пациент 8: мужчина 32 лет. Получал PLD 1,5 мг×3. Эффективность не поддается оценке, выписка из стационара на 4-е сутки.

Пациент 9: мужчина 34 лет. Получал PLD 2,0 мг×3. ПЦР-тест на COVID-19: ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ на исходном уровне и все еще положительный на 7-е сутки. Однако значительное клиническое улучшение и выписка из стационара на 8-е сутки.

Анализы на С-реактивный белок

У пациентов 5, 7 и 9 также измеряли влияние PLD на воспалительные цитокины, и результаты анализов на С-реактивный белок показаны на Фиг. 36. У пациента 5 (Фиг. 36a) после введения PLD наблюдается резкое падение на 2-е сутки. У пациентов 7 (Фиг. 36b) и 9 (Фиг. 36c) после введения PLD резкое падение наблюдается на 3-и сутки. Эти данные демонстрируют противовоспалительные свойства PLD.

Обсуждение

Предварительные результаты клинических испытаний PLD на пациентах с COVID-19 еще раз демонстрируют замечательные свойства PLD при лечении инфекции SARS-CoV-2 и COVID-19.

6 из 8 поддающихся оценке пациентов продемонстрировали изменения ПЦР-теста при SARS-CoV-2 на отрицательный, при этом медианное время изменения ПЦР составило 7 суток (4-31). Противовирусные свойства PLD при коронавирусной инфекции, а именно SARS-CoV-2, клинически продемонстрированы с полным подавлением вирусной нагрузки.

Примечательно, что из 9 пациентов, протестированных на данный момент, благодаря введению PLD ни один из пациентов не нуждался в искусственной вентиляции легких или в помещении в отделение интенсивной терапии, и в ходе исследования не было смертей. С PDL достигался контроль над заболеванием и значительные клинические улучшения у 6 из 8 пациентов, поддающихся оценке, и только 2 из 8 нуждались в специфической терапии в отношении COVID-19 после PLD. Медианное время до выписки из стационара составило 8 суток (7-19). Эти результаты демонстрируют, что PLD является эффективной терапией инфекции SARS-CoV-2 и COVID-19, а также пневмонии, вызванной инфекцией SARS-CoV-2.

Специальный анализ первой когорты при дозах 1,5 мг и 2 мг подтвердил, что PLD в введенных дозах был активен, приводил к резкому улучшению и полному контролю над заболеванием. Полное подавление вирусной нагрузки отмечено у подавляющего большинства пациентов.

Результаты

По завершении исследования 45 пациентов, госпитализированных с COVID-19, были рандомизированы для лечения плитидепсином в дозах 1,5, 2,0 и 2,5 мг ежедневно в течение 3 суток. Лечение хорошо переносилось во всех 3 дозовых когортах. Результаты лечения, оцениваемые по частоте выписки из стационара, зависели от тяжести заболевания и исходной вирусной нагрузки. Во всех дозовых когортах 100% (9/9) пациентов с легким заболеванием, 82% (23/28) с заболеванием средней степени тяжести и 57% (4/7) с тяжелым заболеванием были выписаны на 15-е сутки. Во всех дозовых когортах медиана вирусной нагрузки на исходном уровне составляла 6,2 (от 0 до 10,6) $\log_{10}$ копий/мл, а среднее снижение вирусной нагрузки на -3,1 $\log_{10}$ копий/мл было достигнуто на 7-е сутки и -4,5 $\log_{10}$ копий/мл на 15-е сутки.

Исследование представляло собой многоцентровое открытое исследование фазы 1, в котором 45 пациентов, госпитализированных для лечения COVID-19, были рандомизированы на 3 дозовые группы, включающие 1,5, 2,0 и 2,5 мг плитидепсина, вводимого в виде 1,5-часовой в/в инфузии один раз в сутки в течение 3 суток подряд. Основная цель этого исследования состояла в том, чтобы определить профиль безопасности и токсикологический профиль при каждом уровне дозы исходя из (1) частоты нежелательных явлений, возникающих в ходе лечения (TEAE), не менее чем 3 степени на 3, 7, 15 и 31 сутки с использованием общих терминологических критериев нежелательных явлений (CTCAE), версия 5.0, Национального института онкологии США (NCI); (2) процента пациентов, не способных завершить лечение, и причин; (3) процента пациентов с TEAE и SAE (тяжелые нежелательные явления) на 3, 7, 15 и 31 сутки; (4) изменения исходных гематологических и негематологических параметров на 3, 7, 15 и 31 сутки; и (5) процента пациентов с отклонениями ЭКГ (электрокардиограмма) на 2, 3, 4, 5, 6, 7, 15 и 31 сутки. Вторичная цель состояла в том, чтобы выбрать рекомендуемую дозу для опорного исследования.

Результаты для конечных точек безопасности, указанных в протоколе, резюмируются следующим образом:

• <u>AE (нежелательные явления) не менее чем 3 степени</u>: только у 31% (14/45) пациентов наблюдались AE не менее чем 3 степени, и только у 2 пациентов развились AE не менее чем 3 степени, связанные с лечением: по 1 случаю анафилактической реакции во время первой инфузии плитидепсина, что привело к прекращению лечения, и случаю диареи, который не повлиял на лечение плитидепсином. В соответствии с тем, что AE не менее чем 3 степени в основном связаны с инфекцией COVID-19,

распространенность AE не менее чем 3 степени в значительной степени отражала процент пациентов с тяжелым заболеванием в каждой когорте, с самой высокой распространенностью в когорте 2,5 мг (26,7% с тяжелым заболеванием, 40,0% AE не менее чем 3 степени), более низкий процент в когорте 1,5 мг (13,3% с тяжелым заболеванием, 33,3% AE не менее чем 3 степени) и самый низкий процент в когорте 2,0 мг (6,7% с тяжелым заболеванием, 20,0% AE не менее чем 3 степени). Ни одно из событий, представляющих особый интерес, не произошло, за исключением 1 случая повышения ALT (аланинтрансаминаза) не менее чем 3 степени.

• Пациенты, которые не смогли завершить лечение: только 1 пациент не смог завершить лечение плитидепсином.

• Пациенты с SAE: в общей сложности 10 пациентов испытывали SAE, в том числе 6 пациентов, получавших дозу 1,5 мг, 1 пациент, получавший дозу 2,0 мг, и 3 пациента, получавших дозу 2,5 мг. За исключением 1 случая анафилактической реакции, все эти события были связаны с инфекцией COVID-19.

• Пациенты с AE: для любых регистрируемых AE не было отмечено дозозависимых тенденций, а наиболее часто регистрируемые AE (за исключением инфекций) соответствовали профилю безопасности, наблюдаемому у пациентов с прогрессирующими гематологическими злокачественными новообразованиями и солидными опухолями, получающих плитидепсин в качестве монотерапии, включая желудочно-кишечные расстройства в виде запора (29% против 18% для пациентов с раком и COVID-19 соответственно), диареи (31% против 18%), тошноты (64% против 42%) и рвоты (38% против 18%) и генерализованные симптомы астении/усталости (83% против 13%) и лихорадки (28% против 47%).

• Изменения лабораторных параметров: хотя приблизительно у половины пациентов (51%) наблюдалось изменение гематологических параметров не менее чем 1 степени, а у большинства пациентов (89%) в ходе исследования наблюдалось изменение химических показателей не менее чем 1 степени, у немногих пациентов наблюдалось изменение более 1 степени. По гематологическим показателям у 6 пациентов имелось ухудшение лимфопении на 2-3 степени, а у 2 пациентов ухудшение нейтропении на 2 степени. По химическим показателям у 5 пациентов имелось повышение ALT на 2-3 степени, у 2 пациентов повышение AST (аспартаттрансаминаза) на 2-3 степени, у 2 пациентов повышение GGT (*гамма*-глутамилтрансфераза) на 2-3 степени и у 1 пациента повышение CPK (креатинфосфокиназа) на 2 степени.

На основании этих результатов сделан вывод, что лечение плитидепсином хорошо переносилось, и не было возможности обнаружить разницу в безопасности между 3 исследуемыми дозами.

Эффективность у пациентов с COVID-19

Эффективность оценивали в общей сложности у 44 пациентов; у 1 пациента в когорте 1,5 мг, у которого развилась анафилактическая реакция во время первой инфузии плитидепсина, лечение было прекращено, и его эффективность не оценивали. Результаты для конечных точек эффективности, указанных в протоколе, показали эквивалентные результаты для всех 3 дозовых когорт (Таблица 2). Результаты лечения зависели от исходной тяжести заболевания и вирусной нагрузки. В соответствии с этими результатами недавнее исследование показало, что вирусная нагрузка SARS-CoV-2 связана с повышенной тяжестью заболевания и смертностью. Во всех дозовых когортах 100% (9/9) пациентов с легким заболеванием были выписаны на 15-е сутки по сравнению с 82% (23/28) с заболеванием средней степени тяжести и 57% (4/7) с тяжелым заболеванием.

Конечная точка	Дозовая когорта			
	1,5 мг N=14[A]	2,0 мг N=15	2,5 мг N=15	Суммарно N=44
Пациенты, выписанные из стационара на	n (%)			
8 сутки	6 (42,9)	9 (60,0)	10 (66,7)	25 (56,8)
15 сутки	11 (78,6)	14 (93,3)	11 (73,3)	36 (81,8)
31 сутки	13 (92,9)	14 (93,3)	13 (86,7)	40 (90,9)
Смертность с 1 суток по				
7 сутки	0	0	0	0
15 сутки	0	0	0	0
31 сутки	1 (7,1)	0	1 (6,7)	2 (4,5)
Пациенты, нуждающиеся в инвазивной искусственной вентиляции легких и/или госпитализации в ОИТ с 1-х суток по				
7 сутки	2 (14,3)	1 (6,7)	2 (13,3)	5 (11,4)
15 сутки	2 (14,3)	1 (6,7)	3 (20,0)	6 (13,6)
31 сутки	2 (14,3)	1 (6,7)	3 (20,0)	6 (13,6)

Пациенты, нуждающиеся в неинвазивной искусственной вентиляции легких с 1-х суток по				
7 сутки	3 (21,4)	0	1 (6,7)	4 (9,1)
15 сутки	3 (21,4)	0	2 (13,3)	5 (11,4)
31 сутки	3 (21,4)	1 (6,7)	2 (13,3)	6 (13,6)
Пациенты, нуждающиеся в госпитализации в ОИТ с 1-х суток по				
7 сутки	2 (14,3)	1 (6,7)	2(13,3)	5 (11,4)
15 сутки	2 (14,3)	1 (6,7)	3 (20,0)	6 (13,6)
31 сутки	2 (14,3)	1 (6,7)	3 (20,0)	6 (13,6)
Пациенты, нуждающиеся в оксигенотерапии на				
7 сутки	10 (71,4)	10 (66,7)	11 (73,3)	31 (70,5)
15 сутки	4 (28,6)	1 (6,7)	4 (26,7)	9 (20,5)
31 сутки	0	2 (13,3)	1 (6,7)	3 (6,8)
Среднее изменение вирусной нагрузки от исходного уровня на[B]	$\log_{10}$ копий/мл			
4 сутки	-1,58	-1,92	-2,16	-1,90
7 сутки	-3,39	-2,69	-3,21	-3,07
15 сутки	-5,47	-3,62	-4,40	-4,48
31 сутки	-6,06	-4,71	-5,20	-5,27
Среднее время от исходного уровня до неопределяемой вирусной нагрузки, сутки	7	13	12	11

Таблица 2. Сводные данные конечных точек эффективности, указанных в протоколе, в исследовании APLICOV-PC

Аббревиатуры: ОИТ - отделение интенсивной терапии

A: Лечение пациента, у которого развилась анафилактическая реакция во время первой инфузии плитидепсина, было прекращено, и его эффективность не оценивали.

B: Результаты основаны на данных 39 пациентов: 1 пациент пропустил оценку исходной вирусной нагрузки, а у 4 пациентов исходная вирусная нагрузка была ниже предела количественного определения, несмотря на положительный результат теста полимеразной цепной реакции в течение 48 часов до включения в исследование.

Заключение о соотношении польза-риск

В исследовании APLICOV-PC у большинства пациентов (84%) имелось заболевание от легкой до средней степени тяжести, а 82% пациентов были выписаны на 15-е сутки. Поскольку прогрессирующее ухудшение дыхательной функции и развитие синдрома высвобождения цитокинов обычно происходят в среднем через 10 суток после появления симптомов, считают, что конечная точка выписки из стационара на 15-е сутки отражает успешное уменьшение интенсивности угрожающих жизни осложнений.

Апостериорный анализ показал, что ответ на лечение, оцениваемый по частоте выписки из стационара, коррелировал с исходной тяжестью заболевания и вирусной нагрузкой. В дозовых когортах 100% (9/9) пациентов с легким заболеванием были выписаны на 15-е сутки по сравнению с 82% (23/28) с заболеванием средней степени тяжести и 57% (4/7) с тяжелым заболеванием.

В исследовании APLICOV-PC медиана исходной вирусной нагрузки составляла 6,1 $\log_{10}$ копий/мл, а на 15-е сутки наблюдали среднее снижение вирусной нагрузки на -4,2 $\log_{10}$. Эти результаты подтверждают вывод о том, что плитидепсин снижает репликацию вируса.

Принимая во внимание низкую частоту связанных с приемом лекарств АЕ не менее чем 3 степени и высокую частоту выписки на 15-е сутки, а также среднее снижение исходной вирусной нагрузки на -4,2 $\log_{10}$ на 15-е сутки (зарегистрированное снижение на -3,0 log для пациентов с заболеванием средней степени тяжести), продемонстрировано положительное соотношение пользы и риска плитидепсина для лечения пациентов, госпитализированных с инфекцией COVID-19.

ПРИМЕР 4

Активность плитидепсина в отношении SARS-CoV-2 была дополнительно подтверждена в анализе *in vitro* с использованием клеток Vero.

Вирус и клетки

SARS-CoV-2 был получен из Корейских центров по контролю и профилактике заболеваний (KCDC). Клетки Vero были получены из Американской коллекции типовых культур (ATCC CCL-81).

Анализ кривой зависимости доза-эффект (DRC) посредством иммунофлуоресценции

Соединение готовили посредством двукратных серийных разведений с 20 точками концентраций с помощью DMSO и Ampolla (кремофор:этанол:вода (15:15:70))

соответственно. Через 24 часа после посева клетки обрабатывали соединением при максимальной концентрации 5 мкМ. Через час планшеты переносили в контейнмент BSL-3 для инфицирования вирусом и добавляли SARS-CoV-2 при множественности заражения (MOI) 0,0125. Планшеты инкубировали при 37°C в течение 24 часов. Клетки фиксировали через 24 часа после инфицирования с помощью 4% параформальдегида (PFA) для пермеабилизации. Клетки обрабатывали 1-м антителом против нуклеокапсида (N) SARS-CoV-2 и 2-м 488-конъюгированным козьим анти-кроличьим IgG-антителом, и обрабатывали красителем Hoechst 33342 для окрашивания клеток для анализа посредством иммунофлуоресценции. Изображения, полученные с помощью системы клеточной визуализации Operetta (Perkin Elmer), анализировали с использованием собственного программного обеспечения для количественного определения числа клеток и степени инфицирования, а противовирусную активность нормализовали к положительному (имитация) и отрицательному (0,5% DMSO) контролям в каждом планшете для анализа.

DRC (кривые доза-эффект) были подобраны с помощью сигмоидальных моделей доза-эффект по следующему уравнению: Y = Bottom + (Top Bottom)/(1 + (IC_{50}/X)Hillslope) с использованием программного обеспечения XLfit 4 или Prism7. Значения IC_{50} рассчитывали из нормированных кривых, соответствующих набору данных активности. Все значения IC_{50} и CC_{50} измеряли в двух повторностях, и качество каждого анализа контролировали с помощью Z'-фактора и коэффициента вариабельности в процентах (%CV).

Кривые доза-эффект показаны на Фиг. 32A-C (три повтора). Синие квадраты представляют ингибирование вирусной инфекции (%), а красные треугольники представляют жизнеспособность клеток (%). Средние значения ± стандартное отклонение рассчитывали исходя из повторных экспериментов. Плитидепсин был способен ингибировать вызванные вирусом цитопатические эффекты (квадраты) в концентрациях, при которых цитотоксические эффекты лекарственного препарата не наблюдались (кружки) во всех экспериментах. В этом эксперименте плитидепсин имел IC_{50} 0,0033-0,0039 мкМ по сравнению с CC_{50} 0,178-0,431 мкМ, что дает SI 49,95-129,92.

ПРИМЕР 5

Активность плитидепсина в отношении SARS-CoV-2 была дополнительно подтверждена в отдельном анализе *in vitro* с использованием клеток Vero.

Культуры клеток

Клетки Vero E6 (ATCC CRL-1586) культивировали в модифицированной по способу Дульбекко среде Игла (DMEM; Lonza) с добавлением 5% фетальной телячьей сыворотки (FCS; EuroClone), 100 Ед/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина и 2 мМ глутамина (все от компании ThermoFisher Scientific).

Выделение, титрование и секвенирование вируса

Вирус SARS-CoV-2 был выделен из мазка из носоглотки, взятого у 89-летнего пациента мужского пола, давшего информированное согласие и получавшего лечение бетафероном и гидроксихлорохином в течение 2 суток перед отбором образца. Мазок отбирали в 3 мл среды (Deltaswab VICUM) для снижения вязкости и хранили при -80°C до использования. Клетки Vero E6 культивировали в колбе для культивирования клеток (25 $см^2$) в количестве $1,5\times10^6$ клеток в течение ночи перед инокуляцией 1 мл обработанного образца в течение 1 часа при 37°C и 5% CO_2. После этого добавляли 4 мл DMEM с добавлением 2% FCS, и клетки инкубировали в течение 48 часов. Супернатант собирали, центрифугировали при 200×g в течение 10 мин для удаления клеточного дебриса и хранили при -80°C. Клетки ежедневно оценивали на цитопатический эффект, и супернатант подвергали экстракции вирусной РНК и специфической ОТ-кПЦР (количественной ПЦР с обратной транскрипцией) с использованием анализов области генов UpE, RdRp и N вируса SARS-CoV-2 (Corman et al., 2020). Вирус размножали за два пассажа и вирусный материал готовили, собирая супернатант с Vero E6.

Вирусную РНК экстрагировали непосредственно из вирусного материала с использованием набора Indimag Pathogen (Indical Biosciences) и транскрибировали в кДНК с использованием набора реагентов PrimeScript™ RT (Takara) с использованием олиго-dT и случайных гексамеров в соответствии с инструкцией производителя. Подготовку библиотеки ДНК проводили с использованием панели SWIFT amplicon SARS-CoV-2 (Swift Biosciences). Затем готовые библиотеки для секвенирования загружали на платформу MiSeq Illumina и набор для секвенирования парных концов на 300 пар оснований. Чтения последовательностей отфильтровывали по качеству, а последовательности адаптерных праймеров обрезали с использованием триммоматика (trimmomatic). Последовательности праймеров для амплификации удаляли с помощью программы Cutadapt (Martin, 2011). Затем чтения последовательностей картировали на референсную последовательность коронавируса (NC_045512.2) с использованием программного инструмента Bowtie2 (Langmead, B. and Salzberg, S, 2012). Консенсусную

геномную последовательность задавали из полученного выравнивания при среднем перекрытии 18×1800×879 с использованием набора утилит Samtools (Li et al., 2009). Геномная последовательность была депонирована в репозитории GISAID (http://gisaid.org) под номером доступа EPI_ISL_510689.

Соединение

Плитидепсин использовали в диапазоне концентраций от 100 мкМ до 0,0512 нМ при серийных разведениях 1/5, а также анализировали от 10 мкМ до 0,5 нМ при разведениях 1/3.

Противовирусная активность

Плитидепсин в возрастающих концентрациях добавляли к клеткам Vero E6 вместе с $10^{1,8}$ $TCID_{50}$/мл (инфекционный титр вируса) SARS-CoV-2, концентрация, при которой достигается 50% цитопатического эффекта. Неэкспонированные клетки использовали в качестве отрицательного контроля инфекции. Для обнаружения любого цитотоксического эффекта, связанного с лекарственным средством, клетки Vero E6 аналогичным образом культивировали в присутствии возрастающих концентраций лекарственного средства, но в отсутствие вируса. Цитопатические или цитотоксические эффекты вируса или лекарственных средств измеряли через 3 суток после инфицирования с использованием люминесцентного анализа жизнеспособности клеток CellTiter-Glo (Promega). Люминесценцию измеряли на люминометре Fluoroskan Ascent FL (ThermoFisher Scientific).

Расчет IC_{50} и статистический анализ

Кривые отклика были скорректированы в соответствии с нелинейной регрессионной моделью, рассчитанной с помощью четырехпараметрической логистической кривой с переменным наклоном. Клетки, неподвергнутые воздействию вируса, использовали в качестве отрицательного контроля инфекции и принимали за 100%-ную жизнеспособность, а также использовали для нормализации данных и расчета процента цитопатического эффекта. Статистические отличия от 100% оценивали с помощью t-критерия для одной выборки. Все анализы и фигуры были созданы с помощью программного обеспечения GraphPad Prism v8.0b.

Цитопатический эффект на клетки Vero E6, подвергнутые воздействию фиксированной концентрации SARS-CoV-2 в присутствии возрастающих концентраций плитидепсина, показан на Фиг. 33. Лекарственный препарат использовали в диапазоне концентраций от 10 мкМ до 0,5 нМ при разведении 1/3. Показана нелинейная

аппроксимация к переменной кривой отклика из одного репрезентативного эксперимента в двух повторностях (квадраты). Конкретное значение IC_{50} для этого эксперимента указано на данной фигуре. Также показан цитотоксический эффект на клетки Vero E6, подвергнутые воздействию возрастающих концентраций плитидепсина в отсутствие вируса (кружки).

SARS-CoV-2 в постоянной концентрации смешивали с плитидепсином в возрастающих концентрациях и добавляли к клеткам Vero E6. Для контроля вызванной лекарственным препаратом цитотоксичности клетки Vero E6 также культивировали с возрастающими концентрациями плитидепсина в отсутствие SARS-CoV-2. Плитидепсин был способен ингибировать индуцированные вирусом цитопатические эффекты (красные квадраты) в концентрациях, при которых не наблюдалось цитотоксических эффектов лекарственного препарата (серые кружки). Среднее значение IC_{50} и стандартное отклонение для плитидепсина в двух экспериментах с двумя повторностями каждый составило 0,06 ± 0,02 мкМ.

ПРИМЕР 6. Фаза 3 многоцентрового рандомизированного контролируемого исследования для определения эффективности и безопасности двух уровней доз плитидепсина по сравнению с контролем у взрослых пациентов, нуждающихся в госпитализации для лечения инфекции COVID-19 средней степени тяжести

Показание: лечение пациентов, госпитализированных для лечения инфекции COVID-19 средней степени тяжести.

Цели:

Первичная цель:

• Сравнение плитидепсина 1,5 или 2,5 мг с контролем по проценту пациентов, достигших полного выздоровления на 8-е сутки (±1), определяемому как (1) соответствие категориям от 0 до 2 по 11-балльной шкале клинического прогрессирования Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), приведенной ниже, (2) наличие индекса Бартеля более 90/100 на момент выписки, и (3) отсутствие повторной госпитализации по поводу инфекции COVID-19 вплоть до 31-х суток.

0: не инфицирован, вирусная РНК не обнаружена

1: бессимптомный, обнаружена вирусная РНК

2: с проявлением симптомов, независим от посторонней помощи

3: с проявлением симптомов, требуется помощь

4: госпитализирован, без оксигенотерапии (если госпитализирован только для изоляции, регистрировать статус как для амбулаторного пациента)

5: госпитализирован, кислород через маску или назальные канюли

6: госпитализирован, кислород с помощью неинвазивной вентиляции (НИВ) или высокого потока

7: интубация и искусственная вентиляция легких $pO_2/FIO_2 \geq 150$ или $SpO_2/FIO_2 \geq 200$

8: искусственная вентиляция легких $pO_2/FIO_2 < 150$ ($SpO_2/FIO_2 < 200$) или вазопрессоры

9: искусственная вентиляция легких $pO_2/FIO_2 < 150$ и вазопрессоры, диализ или экстракорпоральная мембранная оксигенация (ЭКМО)

10: смерть

Ключевые вторичные цели этого исследования состоят в том, чтобы сравнить плитидепсин 1,5 и 2,5 мг с контролем по следующим параметрам:

• Время до полного выздоровления (в сутках), определяемое как первые сутки, начиная с 1-х суток и вплоть до конца исследования на 31-е сутки, когда пациент (1) соответствует категориям от 0 до 2 по 11-балльной шкале клинического прогрессирования ВОЗ, приведенной выше, (2) имеет индекс Бартеля >90/100 на момент выписки и (3) не имеет последующей повторной госпитализации по поводу инфекции COVID-19

• Клинический статус, оцененный по 11-балльной шкале клинического прогрессирования ВОЗ, на 8-е сутки (±1).

Другие вторичные цели данного исследования представляют собой:

• Безопасность и переносимость на основании нежелательных явлений, возникающих в ходе лечения (TEAE), TEAE не менее чем 3 степени, серьезных нежелательных явлений (SAE) и серьезных нежелательных реакций (SAR).

• Сравнение эффективности и безопасности/переносимости между группами плитидепсина (1,5 и 2,5 мг) в случае, если обе группы значительно лучше, чем контрольная группа, по первичной конечной точке.

• Сравнение процента пациентов, достигших полного выздоровления на 8-е сутки (±1), как определено выше, для объединенных групп, получавших плитидепсин, по сравнению с контрольной группой.

• Процент пациентов в каждой группе исследования, нуждающихся в повторной госпитализации по поводу инфекции COVID-19.

• Клинический статус в каждой группе исследования, оцененный по 11-балльной шкале клинического прогрессирования ВОЗ на 4-е, 15-е и 31-е сутки.

• Продолжительность оксигенотерапии (в сутках) для каждой группы исследования.

• Процент пациентов в каждой группе исследования, нуждающихся в высокопоточной оксигенации на 4-е, 8-е, 15-е и 31-е сутки.

• Процент пациентов в каждой группе исследования, нуждающихся в неинвазивной искусственной вентиляции легких на 4-е, 8-е, 15-е и 31-е сутки.

• Процент пациентов в каждой группе исследования, нуждающихся в инвазивной искусственной вентиляции легких или ЭКМО на 4-е, 8-е, 15-е и 31-е сутки.

• Процент пациентов в каждой группе исследования, нуждающихся в госпитализации в отделение интенсивной терапии (ОИТ) на 4-е, 8-е, 15-е и 31-е сутки.

• Продолжительность госпитализации в ОИТ для каждой группы исследования.

• Процент пациентов, получающих последующую противовирусную терапию или иммуномодулирующие препараты на 4-е, 8-е, 15-е и 31-е сутки.

• Процент пациентов с внутрибольничной инфекцией в каждой группе исследования.

• Смертность в каждой группе исследования на 4-е, 8-е, 15-е и 31-е сутки.

• Изменение вирусной нагрузки коронавируса-2 тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV-2) в каждой группе исследования с 1-х суток до введения исследуемого препарата до 8-х суток, измеренное с помощью количественной полимеразной цепной реакции (кПЦР) из образцов оро-назофарингеального экссудата.

• Процент пациентов в каждой группе исследования с неопределяемой вирусной нагрузкой SARS-CoV-2 на 8-е сутки, измеренной с помощью кПЦР из образцов оро-назофарингеального экссудата.

Изменение провоспалительных биомаркеров (С-реактивный белок [CRP], лактатдегидрогеназа [LDH], ферритин, интерлейкин [IL]-6, IL-1β, IL-10 и фактор некроза опухоли альфа [TNFα]) в каждой группе исследования от исходного уровня до 2-х, 3-х, 4-х, 8-х, 15-х и 31-х суток.

Методология/дизайн исследования:

Это многоцентровое открытое контролируемое исследование фазы 3, в котором взрослые, нуждающиеся в госпитализации и добавлении O_2 для лечения инфекции COVID-19 средней степени тяжести, будут рандомизированы в соотношении 1:1:1 в:

• Группу 1,5 мг плитидепсина: пациенты будут получать 1,5 мг/сутки плитидепсина внутривенно (в/в) в комбинации с 6,6 мг/сутки дексаметазона в/в на 1-3 сутки с последующим пероральным (п/о)/в/в введением 6 мг/сутки дексаметазона с 4-х суток и по 10-е сутки (согласно заключению врача в соответствии с клиническим состоянием пациента и дальнейшим развитием клинической картины).

• Группу 2,5 мг плитидепсина: пациенты будут получать 2,5 мг/сутки плитидепсина в/в в комбинации с 6,6 мг/сутки дексаметазона в/в на 1-3 сутки с последующим введением 6 мг/сутки дексаметазона п/о/в/в с 4-х суток и по 10-е сутки (согласно заключению врача в соответствии с клиническим состоянием пациента и дальнейшим развитием клинической картины).

• Контрольную группу: пациенты будут получать 6,6 мг/сутки дексаметазона в/в на 1-3 сутки с последующим введением 6 мг/сутки дексаметазона п/о/в/в с 4-х суток и по 10-е сутки (согласно заключению врача в соответствии с клиническим состоянием пациента и дальнейшим развитием клинической картины). Кроме того, в соответствии с местными рекомендациями по лечению, пациенты могут получать 200 мг ремдесивира в/в в 1-е сутки с последующим введением по 100 мг/сутки в/в со 2-х по 5-е сутки.

Рандомизация будет стратифицирована по 2 факторам:

• Намерение вводить ремдесивир, если пациент рандомизирован в контрольную группу (да или нет); и

• Индекс коморбидности Чарльсона 13,14 (0-1 против более 1).

С момента начала лечения в 1-е сутки пациенты будут наблюдаться в больнице в течение по меньшей мере 4 суток, а затем на протяжении 31 суток или до регрессии/стабилизации TEAE, возникших в течение 31 суток. Пациенты, выписанные из больницы до 8-х суток, будут возвращаться в амбулаторию для оценки на 8-е и 31-е сутки (приложение 5).

Независимый комитет по мониторингу данных (НКМД) будет контролировать проведение исследования (конечную точку безопасности и основную конечную точку), включая анализ сводных данных по безопасности в соответствии с требованиями испытаний.

Диагноз и основные критерии включения и исключения:

Ниже приведены критерии включения:

1. Подписанное информированное согласие, полученное до начала каких-либо конкретных процедур исследования и лечения в рамках исследования.

2. Лабораторно подтвержденная инфекция SARS-CoV-2, определенная с помощью качественной полимеразной цепной реакцией (ПЦР) в местной лаборатории из оро-назофарингеального экссудата (или другого образца из дыхательных путей), собранного не более чем за 48 часов до лечения в рамках исследования в 1 сутки.

3. Госпитализация по клиническим показаниям для лечения инфекции SARS-CoV-2 (COVID-19) средней степени тяжести, определяемой по следующим критериям:

• Положительный ПЦР-тест на SARS-CoV-2

• Симптомы заболевания COVID-19 средней степени тяжести, которые могут включать любые симптомы легкой формы заболевания или одышку при физической нагрузке

• Клинические признаки, указывающие на заболевание COVID-19 средней степени тяжести, такие как частота дыхания не менее 20 вдохов, но менее 30 вдохов в минуту, уровень SpO_2 (сатурация) более 93%, но менее 95% при комнатном воздухе на уровне моря, частота сердечных сокращений не менее 90, но менее 125 ударов в минуту, и требующие добавки O_2

• Отсутствие клинических признаков, указывающих на тяжелое заболевание, которые могут включать одышку в покое или респираторный дистресс-синдром

4. Появление симптомов COVID-19 не позднее чем за 6 суток до начала лечения в рамках исследования в 1 сутки.

5. Мужчина или женщина в возрасте 18 лет и старше.

6. Адекватная функция костного мозга, печени, почек и метаболизма, определяемая следующими тестами, проводимыми в местной лаборатории:

• Абсолютное количество нейтрофилов не менее 1000/мм^3 ($1{,}0\times10^9$/л)

• Количество лимфоцитов не менее 500/мм^3 ($0{,}5\times10^9$/л)

• Количество тромбоцитов не менее 100000/мм^3 (100×10^9/л)

• Гемоглобин более 9,0 г/дл

• Аланинтрансаминаза (ALT), аспартаттрансаминаза (AST) не более 3× верхнего предела нормы (ВПН)

• Билирубин сыворотки не более 1× ВПН (не более 3× ВПН, если подтвержден синдром Жильбера)

• Расчетный клиренс креатинина не менее 30 мл/мин (формула Кокрофта и Голта)

• Креатинфосфокиназа не более 2,5× ВПН

7. Согласие не участвовать в другом интервенционном клиническом исследовании на протяжении 31 суток.

8. Женщины репродуктивного возраста должны иметь отрицательный результат анализа крови на беременность в местной лаборатории при включении в исследование и должны быть некормящими.

9. Женщины и мужчины, имеющие партнеров детородного возраста, должны использовать эффективные средства контрацепции во время лечения в рамках исследования и в течение 3 месяцев после приема последней дозы плитидепсина.

Критерии исключения были следующими:

1. Субъекты с предисходным (то есть в предыдущем месяце) ухудшением общего состояния здоровья по любой причине, кроме COVID-19, которым требуется либо помощь в повседневной жизни, либо постоянная оксигенотерапия.

2. Участие в другом клиническом испытании по лечению инфекции COVID-19 либо пациентов, ранее включенных в клинические испытания и находящихся в настоящее время под наблюдением, либо пациентов, ранее вакцинированных от COVID-19.

3. Доказательства дыхательной недостаточности на момент рандомизации, основанные на использовании ресурсов, требующих по меньшей мере одного из следующего: эндотрахеальная интубация и искусственная вентиляция легких, доставка кислорода через назальную канюлю с высоким потоком, неинвазивная вентиляция с положительным давлением, ЭКМО (экстракорпоральная мембранная оксигенация) или клинически диагностированная дыхательная недостаточность (то есть клиническая потребность в одном из предшествующих способов лечения, но предшествующие способы лечения не могут быть назначены в условиях ограниченных ресурсов).

4. Пациенты с клиническими показаниями для лечения SARS-CoV-2 (COVID 19) с исходной тяжестью заболевания, оцененной как тяжелая (при положительном результате стандартного анализа ОТ-ПЦР или эквивалентного теста на тяжелое заболевание COVID-19 указывают симптомы, которые могут включать любой симптом заболевания средней степени тяжести или одышку в покое, или респираторный дистресс-

синдром, клинические признаки, указывающие на тяжелое системное заболевание COVID-19, такие как частота дыхания не менее 30 в минуту, частота сердечных сокращений не менее 125 ударов в минуту, SpO_2 не более 93% при комнатном воздухе на уровне моря, или PaO_2/FiO_2 менее 300).

5. Пациенты, получающие противовирусные препараты, ингибитор рецептора IL-6, кортикостероиды или иммуномодулирующие препараты для лечения инфекции COVID-19 в течение 4 недель до включения в исследование.

6. Иммунизация живой вакциной в анамнезе в течение последних 4 недель до включения в исследование; субъекты не должны получать живую аттенуированную вакцину против гриппа в течение 4 недель до включения в исследование или в любое время во время исследования.

7. Пациенты, получающие лечение хлорохином или производными в течение 8 недель до включения в исследование или во время исследования.

8. Лечение сильными ингибиторами или индукторами цитохрома P450 3A4 (CYP3A4).

9. Вирусное заболевание (кроме COVID-19), требующее лечения, за исключением пациентов с пролеченной и адекватно контролируемой (неопределяемой) инфекцией вируса иммунодефицита человека.

10. Интервал QT, скорректированный с использованием формулы с поправкой на удлинение Фридериции, более 450 мс для мужчин или более 470 мс для женщин на основании трехкратной регистрации электрокардиограммы (ЭКГ) при скрининге.

11. Ранее существовавшие невропатии любого типа не менее 2 степени.

12. Повышенная чувствительность к активному ингредиенту или любому из эксципиентов (маннит, макроголглицерингидроксистеарат и этанол).

13. Беременные женщины (отрицательный результат анализа крови на беременность требовался для всех женщин детородного возраста при скрининге) или кормящие грудью.

14. Женщины и мужчины с партнерами детородного возраста (женщины без хирургической стерилизации или в постменопаузе, определяемой как аменорея в течение более 12 месяцев), которые не используют по меньшей мере 1 способ контрацепции, указанный в протоколе.

15. Любое другое клинически значимое заболевание или отклонение лабораторных показателей, которое, по мнению исследователя, могло бы поставить под

угрозу безопасность пациента или потенциально повлиять на соблюдение пациентом режима лечения или наблюдения за безопасностью/эффективностью в исследовании.

Исследуемые продукты, дозы и способ введения:

Плитидепсин для инъекций представлен во флаконах, содержащих 2 мг порошка плитидепсина. Для введения содержимое флакона восстанавливают посредством добавления 4 мл растворителя для плитидепсина с получением слегка желтоватого раствора, содержащего 0,5 мг/мл плитидепсина с эксципиентами: маннитом, макроголглицерингидроксистеаратом и этанолом. Необходимое количество восстановленного раствора плитидепсина добавляют в пакет для внутривенного вливания, содержащий 0,9% раствор хлорида натрия для инъекций или 5% раствор глюкозы для инъекций, и вводят в виде в/в инфузии в течение 60 минут.

Для предотвращения инфузионных реакций, связанных с плитидепсином, все пациенты должны получить следующие лекарственные средства за 20-30 минут до начала инфузии плитидепсина:

• Ондансетрон 8 мг в/в (или эквивалент; примечание: ондансетрон является запрещенным препаратом для пациентов в субисследовании скорректированного интервала QT [QTc] во время оценки QT [1-3 сутки])

• Дифенгидрамина гидрохлорид 25 мг в/в (или эквивалент)

• Ранитидин 50 мг в/в (или эквивалент)

• Дексаметазон 6,6 мг в/в

Кроме того, на 4-е и 5-е сутки пациенты, получавшие плитидепсин, должны получать ондансетрон по 4 мг два раза в сутки перорально.

Референсная терапия, доза, лекарственная форма и способ введения:

Дексаметазон: пациенты, как в группе плитидепсина, так и в контрольной группе, будут получать 6,6 мг/сутки дексаметазона в/в с 1-х по 3-и сутки с последующим введением 6 мг/сутки дексаметазона п/о/в/в с 4-х суток и по 10-е сутки (согласно заключению врача в соответствии с клиническим состоянием пациента и дальнейшим развитием клинической картины).

Ремдесивир: в соответствии с местными рекомендациями по лечению пациенты, рандомизированные в контрольную группу, могут получать 200 мг ремдесивира в/в в 1-е сутки с последующим введением 100 мг/сутки в/в со 2-х по 5-е сутки.

Лучшая поддерживающая терапия (BSC): BSC в соответствии с рекомендациями по лечению COVID-19 Национального института здравоохранения США

(www.covid19treatmentguidelines.nih.gov) или другими рекомендациями страны будет предоставлена всем участникам исследования.

ПРИМЕР 7. Открытое рандомизированное исследование II фазы для оценки безопасности и снижения вирусной нагрузки терапии единственной линии плитидепсином у взрослых пациентов с COVID-19 при выписке из отделения неотложной помощи

Показания: Лечение пациентов с легкой формой инфекции COVID-19.

Пациенты будут включены в исследование при наличии острой клинической инфекции (появление симптомов в предыдущие 5 суток), при которой диагноз инфекция COVID-19 установлен с помощью диагностического метода, который может представлять собой положительный результат теста на антиген или положительный результат ПЦР-теста.

В исследование включены две группы:

группа (A) однократная доза 7,5 мг плитидепсина, вводимая в виде медленной инфузии в течение 90 минут (± 10 минут), плюс симптоматическое лечение в соответствии с обычной клинической практикой в центрах, участвующих в исследовании.

группа (B) симптоматическое лечение в соответствии с обычной клинической практикой в центрах, участвующих в исследовании.

Все пациенты получают следующие профилактические лекарственные средства за 20-30 минут до инфузии плитидепсина:

- Дифенгидрамина гидрохлорид 25 мг в/в,
- Ранитидин 50 мг в/в,
- Дексаметазон 6,6 мг внутривенно,
- Ондансетрон 8 мг в/в в виде 15-минутной медленной инфузии.

4 мг ондансетрона перорально назначают каждые 12 часов в течение 3 суток после введения плитидепсина для облегчения тошноты и рвоты, вызванных лекарственными препаратами. Если плитидепсин вводят утром, пациент получает первую дозу ондансетрона во второй половине дня.

Исследование может показать, что однократная доза плитидепсина, введенная пациентам, приводит к снижению вирусной нагрузки. Это может быть выражено в виде значения порогового цикла репликации (Ct), превышающего 30 (Ct более 30), на 6-е сутки после введения. Например, исследование может показать, что у пациентов с

инфекцией COVID-19, которые должны быть выписаны из отделения неотложной помощи, наблюдается снижение вирусной нагрузки на 6-е сутки после выписки из отделения неотложной помощи, выраженное в виде значения порогового цикла репликации (Ct), превышающего 30 (Ct более 30), при введении однократной дозы плитидепсина. Это может быть выражено в виде снижения вирусной нагрузки SARS-CoV-2 по сравнению с исходным уровнем. Это может быть выражено в виде снижения процента пациентов, нуждающихся в госпитализации после введения. Это может быть выражено в виде снижения процента пациентов, которым требуется инвазивная искусственная вентиляция легких и/или госпитализация в отделение интенсивной терапии после введения. Это может быть выражено в виде уменьшения числа пациентов, у которых развиваются последствия, связанные с персистирующим заболеванием. Это может быть выражено в виде увеличения процента пациентов с нормализацией аналитических показателей, выбранных в качестве критериев неблагоприятного прогноза (включая, например лимфопению, ЛДГ, D-димер или ПЦР). Это может быть выражено в виде увеличения процента пациентов с нормализацией клинических критериев (исчезновение симптомов), включая, например: головную боль, лихорадку, кашель, утомляемость, одышку (затруднение дыхания), артромиалгию или диарею.

Исследование может показать, что лечение однократной дозой плитидепсина может устранить вирусную нагрузку SARS-CoV-2 у пациента на 6-е сутки, что, по данным ряда исследований, приводит к клиническому улучшению и, следовательно, снижению осложнений, понимаемых как госпитализация, попадание в ОИТ и смерть. В дополнение к улучшению прогноза пациентов в краткосрочной перспективе снижение вирусной нагрузки, как полагают, является ключевым для достижения двух других целей. Во-первых, снижение инфекционности бессимптомных или малосимптомных пациентов с высокой вирусной нагрузкой (ТС менее 25), известных как суперконтагаторы. Во-вторых, снижение вирусной нагрузки может иметь решающее значение для предотвращения долгосрочных осложнений, известных как персистирующий COVID или долгий COVID.

Валидированная популяционная фармакокинетическая модель плитидепсина (Nalda-Molina R, et al. Population pharmacokinetics meta-analysis of plitidepsin (Aplidin) in cancer subjects. Cancer Chemother Pharmacol. 2009 Jun;64(1):97-108. doi: 10.1007/s00280-008-0841-4) была использована для подтверждения того, что общая концентрация в плазме может достичь расчетных целевых концентраций в легких. На фиг. 38 показаны

результаты, и можно видеть, что концентрации в плазме выше IC_{50} и IC_{90} могут быть получены в течение более чем 6 суток.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

• Almazan, F., Galan, C., Enjuanes, L., 2004. The nucleoprotein is required for efficient coronavirus genome replication. J. Virol. 78, 12683–12688. 10 Baric et al., **1988**

• Baric, R.S., Nelson, G.W., Fleming, J.O., Deans, R.J., Keck, J.G., Casteel, N., Stohlman, S.A. Interactions between coronavirus nucleocapsid protein and viral RNAs: implications for viral transcription. J. Virol. **1988,** 62, 4280–4287

• Escors, D., Camafeita, E., Ortego, J., Laude, H., Enjuanes, L. Organization of two transmissible gastroenteritis coronavirus membrane protein topologies within the virion and core. J. Virol. **2001,**75, 12228–12240.

• Fang, S.G.; Shen, H.; Wang, J.; Tay, F.P.; Liu, D.X. Proteolytic processing of polyproteins 1a and 1ab between non-structural proteins 10 and 11/12 of Coronavirus infectious bronchitis virus is dispensable for viral replication in cultured cells. *Virology* **2008**, *379*, 175-180.

• Graham, R.L.; Donaldson, E.F.; Baric, R.S. A decade after SARS: Strategies for controlling emerging coronaviruses. *Nat. Rev. Microbiol.* **2013**, *11*, 836–848.

• Lai, M.M.; Cavanagh, D. The molecular biology of coronaviruses. *Adv. Virus Res.* **1997**, *48*, 1–100.

• Losada A, Berlanga JJ, Molina-Guijarro JM, Jiménez-Ruiz A, Gaggo F, Avilés P, de Haro C, Martínez-Leal JF., Generation of endoplasmic reticulum stress and inhibition of autophagy by plitidepsin induces proteotoxic apoptosis in cancer cells. Biochem Pharmacol. **2020** Feb; 172:113744

• Losada A, Muñoz-Alonso MJ, García C, Sánchez-Murcia PA, Martínez-Leal JF, Domínguez JM, Lillo MP, Gago F, Galmarini CM., Translation Elongation Factor eEF1A2 is a Novel Anticancer Target for the Marine Natural Product Plitidepsin. Sci Rep. **2016** 7;6:35100

• Losada A, Muñoz-Alonso MJ, Martínez-Díez M, Gago F, Domínguez JM, Martínez-Leal JF, Galmarini CM., Binding of eEF1A2 to the RNA-dependent protein kinase PKR modulates its activity and promotes tumour cell survival. Br J Cancer. **2018**;119(11):1410-1420

• M. D. Vera and M. M. Joullié, Natural products as probes of cell biology: 20 years of didemnin research Med. Res. Rev., **2002**, 22, 102

• Pyrc, K.; Berkhout, B.; van der Hoek, L. The novel human coronaviruses NL63 and HKU1. *J. Virol.* **2007**, *81*, 3051–3057.

• Rabouw HH, Langereis MA, Knaap RC, Dalebout TJ, Canton J, Sola I, Enjuanes L, Bredenbeek PJ, Kikkert M, de Groot RJ, van Kuppeveld FJ., Middle East Respiratory Coronavirus Accessory Protein 4a Inhibits PKR-Mediated Antiviral Stress Responses. PLoS Pathog. **2016,** 26;12(10):e1005982.

• Remington s Pharmaceutical Sciences, 17th Ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., **1995**

• Risco, C., Anton, I.M., Enjuanes, L., Carrascosa, J.L. The transmissible gastroenteritis coronavirus contains a spherical core shell consisting of M and N proteins. J. Virol. **1996,** 70, 4773-4777

• Snijder, E.J.; Bredenbeek, P.J.; Dobbe, J.C.; Thiel, V.; Ziebuhr, J.; Poon, L.L.; Guan, Y.; Rozanov, M.; Spaan, W.J.; Gorbalenya, A.E. Unique and conserved features of genome and proteome of SARS-coronavirus, an early split-off from the coronavirus group 2 lineage. *J. Mol. Biol.* **2003**, *331*, 991–1004

• Stark G.R., Kerr, I.M., Williams, B.R., Silverman, R.H., and Schreiber, R.D., How cells respond to interferons. Annu. Rev. Biochem. **1998**, 67**:** 227–264.

• Stohlman, S.A., Baric, R.S., Nelson, G.N., Soe, L.H., Welter, L.M., Deans, R.J. Specific interaction between coronavirus leader RNA and nucleocapsid protein. J. Virol. **1988,** 62, 4288-4295

• Sturman, L.S., Holmes, K.V., Behnke, J. Isolation of coronavirus envelope glycoproteins and interaction with the viral nucleocapsid. J. Virol. **1980,**33, 449–462.

• Williams B.R. PKR; a sentinel kinase for cellular stress. Oncogene. **1999**;18:6112–6120

• Xin Z, Hongyan S, Jianfei C, Da S, Changlong L, Li F., EF1A interacting with nucleocapsid protein of transmissible gastroenteritis coronavirus and plays a role in virus replication. Vet Microbiol. **2014**, 27;172(3-4):443-8

• Xu, Jiabao & Zhao, Shizhe & Teng, Tieshan & Abdalla, Abualgasim & Zhu, Wan & Xie, Longxiang & Wang, Yunlong & Guo, Xiangqian., Systematic Comparison of Two Animal-to-Human Transmitted Human Coronaviruses: SARS-CoV-2 and SARS-CoV. Viruses. **2020**, 12. 244.

• Zhou, B., Liu, J., Wang, Q., Liu, X., Li, X., Li, P., Ma, Q., Cao, C. The nucleocapsid protein of severe acute respiratory syndrome coronavirus inhibits cell cytokinesis and proliferation by interacting with translation elongation factor 1 alpha. J. Virol. **2008,** 82, 6962–6971.

• 1. Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, et al. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. JAMA 2012; 307: 2526-2533;

• 2. Technical document. Clinical management of COVID-19: hospital care. Date: 03/19/2020 Source: Ministry of Health. Spain.

• 3. Wiersinga WJ, Bonten MJ, Boersma WG, et al. Management of community-acquired pneumonia in adults: 2016 guideline update from the Dutch Working Party on Antibiotic Policy (SWAB) and Dutch Association of Chest Physicians (NVALT). Neth J Med. 2018 Jan; 76 (1): 4-13.

• 4. Lim WS1, Baudouin SV, George RC, et al. BTS guidelines for the management of community acquired pneumonia in adults: update 2009. Thorax. 2009 Oct; 64 Suppl 3: iii1-55. doi: 10.1136 / thx.2009.121434.]

• 5. Rodriguez-Morales AJ, Cardona-Ospina JA, Gutiérrez-Ocampo E, et al. Clinical, laboratory and imaging features of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. Travel Med Infect Dis. 2020 Mar 13: 101623

• 6. Contingency plan for intensive medicine services against the pandemic COVID-19 of the Spanish Society of Intensive Nursing and Coronary Units.

• 7. Fleming TR. One-sample multiple testing procedure for phase II clinical trials. Biometrics. 1982 Mar; 38 (1): 143-51.

• 8. Rinehart KL Jr, Gloer JB, Hughes RG et al. Didemnins: antiviral and antitumor depsipeptides from a caribbean tunicate. Science. 1981 May 22; 212 (4497): 933-5.

• 9. Canonico PG, Pannier WL, Huggins JW, Rienehart KL. Inhibition of RNA viruses in vitro and in Rift Valley fever-infected mice by didemnins A and B. Antimicrob Agents Chemother. 1982 Oct; 22 (4): 696-7.

• 10. Losada, A., et al., Translation Elongation Factor eEF1A2 is a Novel Anticancer Target for the Marine Natural Product Plitidepsin. Sci Rep, 2016. 6: p. 35100.

• 11. Mateyak, M.K. and T.G. Kinzy, eEF1A: thinking outside the ribosome. J Biol Chem, 2010. 285 (28): p. 21209-13.

• 12. Zhou, B., et al., The nucleocapsid protein of severe acute respiratory syndrome coronavirus inhibits cell cytokinesis and proliferation by interacting with translation elongation factor 1alpha. J Virol, 2008. 82 (14): p. 6962-71.

• 13. Ma-Lauer, Y., et al., Influences of cyclosporin A and non-immunosuppressive derivatives on cellular cyclophilins and viral nucleocapsid protein during human coronavirus 229E replication. Antiviral Res, 2020. 173: p. 104620.

• 14. Cervantes-Barragan, L., et al., Dendritic cell-specific antigen delivery by coronavirus vaccine vectors induces long-lasting protective antiviral and antitumor immunity. mBio, 2010. 1 (4).

• 15. Wang M, Cao R, Zhang L, et al. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. Cell Research 2020; 30: 269–271.

• 16. PharmaMar, data on file; VPT1992 / 2014.

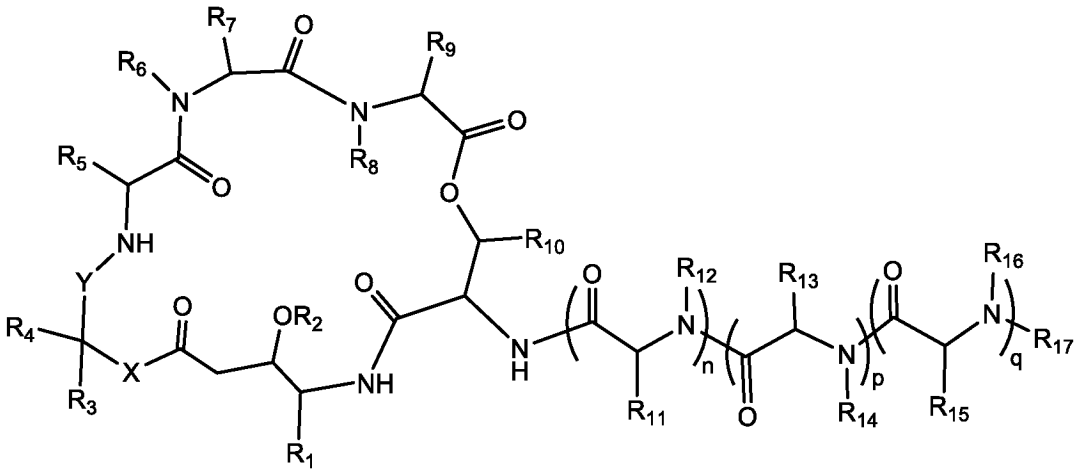
• 17. PharmaMar, data on file; VPT2678 / 2014.

• 18. Maroun, J.A., et al., Phase I study of Aplidine in a dailyx5 one-hour infusion every 3 weeks in patients with solid tumors refractory to standard therapy. A National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group study: NCIC CTG IND 115. Ann Oncol, 2006. 17 (9): p. 1371-8.

• 19. Nalda-Molina R, et al. Population pharmacokinetics meta-analysis of plitidepsin (Aplidin) in cancer subjects. Cancer Chemother Pharmacol. 2009 Jun; 64 (1): 97-108. doi: 10.1007 / s00280-008-0841-4.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение общей формулы **I**



(I),

где X выбран из O и NH;

Y выбран из CO и -$COCH(CH_3)CO$-;

каждый n и p независимо выбран из 0 и 1, и q выбран из 0, 1 и 2;

каждый R_1, R_3, R_5, R_9, R_{11} и R_{15} независимо выбран из водорода, замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила, замещенного или незамещенного C_2-C_6алкенила и замещенного или незамещенного C_2-C_6алкинила;

R_2 выбран из водорода, COR_a, $COOR_a$, замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила, замещенного или незамещенного C_2-C_6алкенила и замещенного или незамещенного C_2-C_6алкинила;

каждый R_4, R_8, R_{10}, R_{12} и R_{16} независимо выбран из водорода и замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила;

каждый R_7 и R_{13} независимо выбран из водорода, замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила, замещенного или незамещенного C_2-C_6алкенила и замещенного или незамещенного C_2-C_6алкинила; каждый R_6 и R_{14} независимо выбран из водорода и замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила; или R_6 и R_7 и/или R_{13} и R_{14} вместе с соответствующим атомом N и атомом C, к которым они присоединены, могут образовывать замещенную или незамещенную гетероциклическую группу;

R_{17} выбран из водорода, COR_a, $COOR_a$, $CONHR_b$, $COSR_c$, $(C{=}NR_b)OR_a$, $(C{=}NR_b)NHR_b$, $(C{=}NR_b)SR_c$, $(C{=}S)OR_a$, $(C{=}S)NHR_b$, $(C{=}S)SR_c$, SO_2R_c, SO_3R_c, замещенного или незамещенного C_1-C_{12}алкила, замещенного или незамещенного C_2-C_{12}алкенила, замещенного или незамещенного C_2-C_{12}алкинила, замещенного или

незамещенного арила и замещенной или незамещенной гетероциклической группы, при условии что, когда n, p и q равны 0, тогда R_{17} не является водородом; и

каждый R_a, R_b и R_c независимо выбран из водорода, замещенного или незамещенного C_1-C_{12}алкила, замещенного или незамещенного C_2-C_{12}алкенила, замещенного или незамещенного C_2-C_{12}алкинила, замещенного или незамещенного арила и замещенной или незамещенной гетероциклической группы;

или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер для применения в лечении коронавирусной (CoV) инфекции.

2. Соединение по п. 1, где R_3 и R_4 независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила; предпочтительно, где R_3 представляет собой изопропил, и R_4 представляет собой водород.

3. Соединение по п. 1 или п. 2 общей формулы **II**, где R_3 и R_4 представляют собой метил.

4. Соединение по любому из пп. 1-3, где R_{11} выбран из водорода и замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила; предпочтительно, где R_{11} представляет собой метил или изобутил.

5. Соединение по любому из пп. 1-4 общей формулы **III**, где R_{11} представляет собой метил, и n равен 1.

6. Соединение по любому из пп. 1-5, где R_1, R_5, R_9 и R_{15} независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила; предпочтительно, где R_1 выбран из *втор*-бутила и изопропила, R_5 представляет собой изобутил, R_9 представляет собой *пара*-метоксибензил, и R_{15} выбран из метила и бензила.

7. Соединение по любому из пп. 1-6, где R_8, R_{10}, R_{12} и R_{16} независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила; предпочтительно, где R_8, R_{10} и R_{12} представляют собой метил, и R_{16} представляет собой водород.

8. Соединение по любому из пп. 1-7, где R_6 и R_{14} независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила; предпочтительно, где R_6 выбран из водорода и метила, и R_{14} представляет собой водород.

9. Соединение по любому из пп. 1-8, где R_7 и R_{13} независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила; предпочтительно, где R_7

представляет собой метил, и R_{13} выбран из водорода, метила, изопропила, изобутила и 3-амино-3-оксопропила.

10. Соединение по любому из пп. 1-7, где R_6 и R_7 и/или R_{13} и R_{14} вместе с соответствующим атомом N и атомом C, к которым они присоединены, образуют замещенную или незамещенную пирролидиновую группу.

11. Соединение по любому из пп. 1-10, где R_2 выбран из водорода, замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила и COR_a, и где R_a представляет собой замещенный или незамещенный C_1-C_6алкил; предпочтительно, где R_2 представляет собой водород.

12. Соединение по любому из пп. 1-11, где R_{17} выбран из водорода, COR_a, $COOR_a$, $CONHR_b$, $(C=S)NHR_b$ и SO_2R_c, и где каждый R_a, R_b и R_c независимо выбран из замещенного или незамещенного C_1-C_6алкила, замещенного или незамещенного C_2-C_6алкенила, замещенного или незамещенного C_2-C_6алкинила, замещенного или незамещенного арила и замещенной или незамещенной гетероциклической группы; предпочтительно, где R_{17} выбран из водорода, COОбензила, COбензо[b]тиофен-2-ила, группы SO_2(*napa*-метилфенил), $COCOCH_3$ и $COOC(CH_3)_3$.

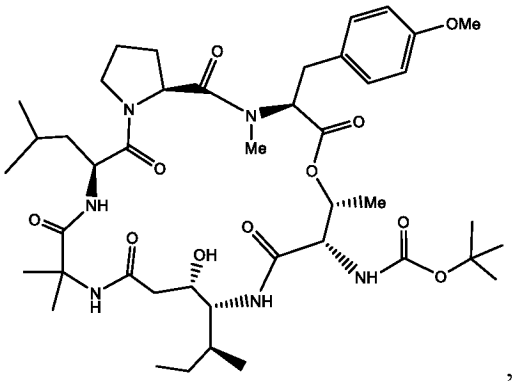
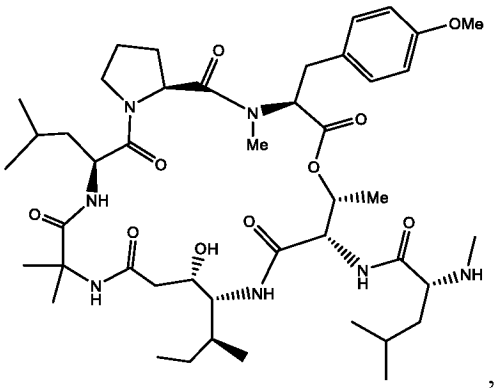
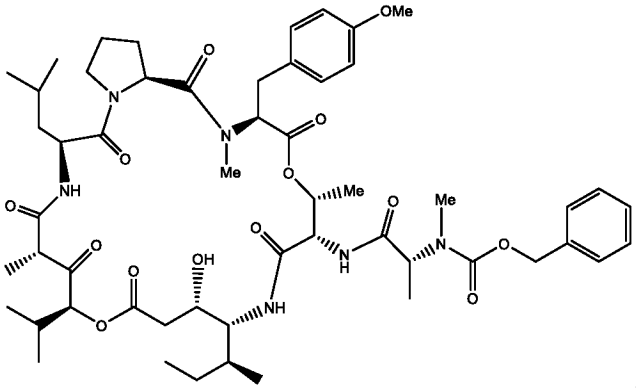
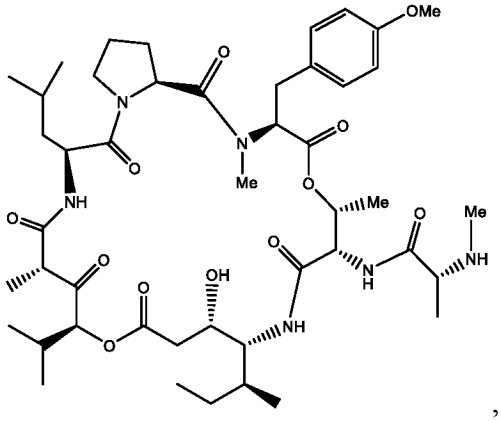
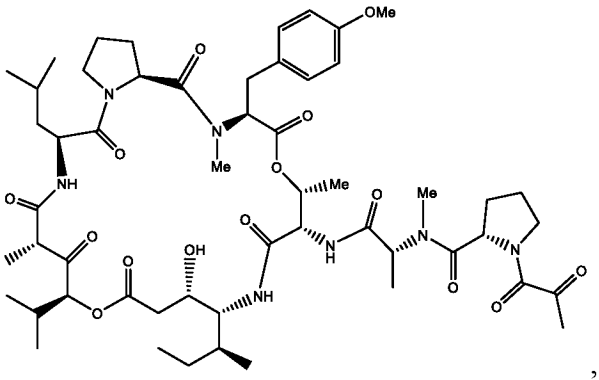
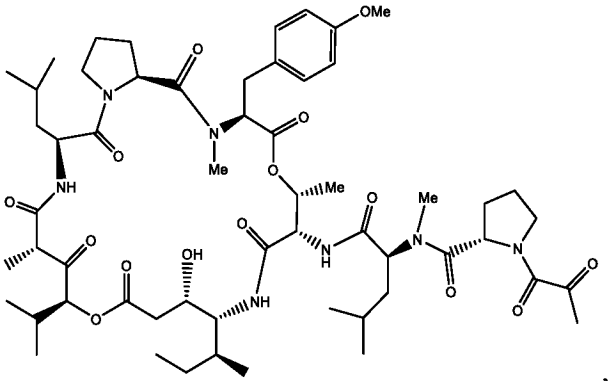
13. Соединение по любому из пп. 1-12, где X представляет собой NH.

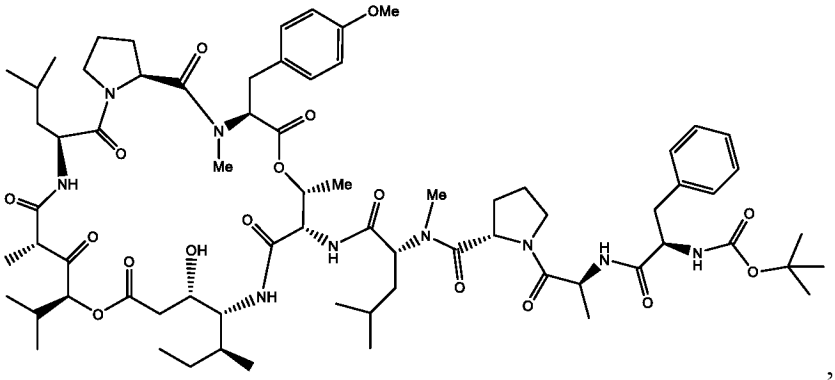
14. Соединение по любому из пп. 1-12, где X представляет собой O.

15. Соединение по любому из пп. 1-14, где Y представляет собой CO.

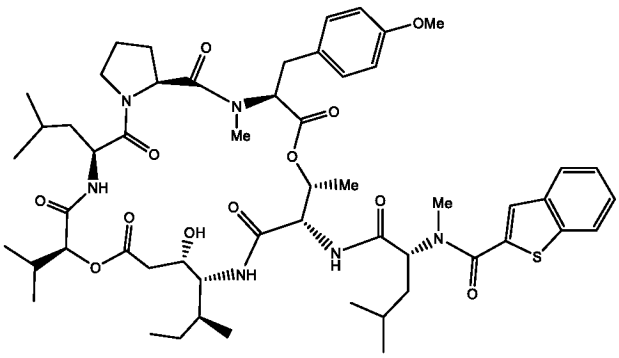
16. Соединение по любому из пп. 1-14, где Y представляет собой $-COCH(CH_3)CO-$.

17. Соединение по п. 1, имеющее следующую структуру:

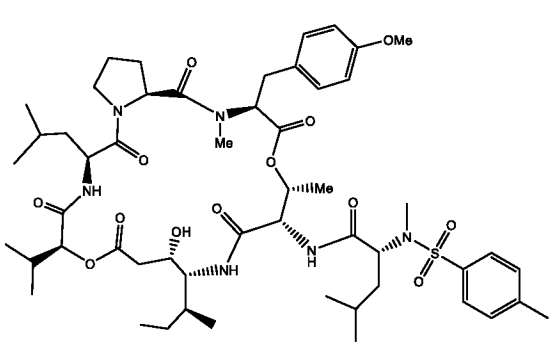

,

,

,

,

,

,



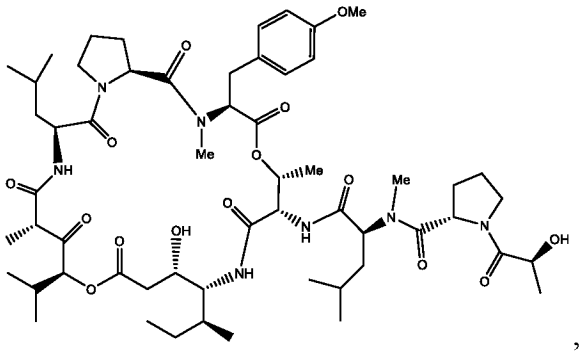
,



,



или



,

или его фармацевтически приемлемые соли или стереоизомеры.

18. Соединение по п. 1, где соединение представляет собой PLD (плитидепсин) или его фармацевтически приемлемые соли или стереоизомеры.

19. Соединение по п. 1, где соединение представляет собой дидемнин B или его фармацевтически приемлемые соли или стереоизомеры.

20. Соединение по любому из пп. 1-19 для применения в лечении CoV (коронавирусной) инфекции, где CoV представляет собой SARS-CoV-2.

21. Соединение по любому из пп. 1-20 для применения в лечении COVID-19 и/или для применения в лечении пневмонии, вызванной COVID-19.

22. Соединение по любому из пп. 1-21, где коронавирусная инфекция представляет собой инфекцию легкой степени; и/или где коронавирусная инфекция представляет собой инфекцию средней степени тяжести; и/или где коронавирусная инфекция представляет собой тяжелую инфекцию.

23. Соединение по любому из пп. 1-22, где коронавирусная инфекция представляет собой острую коронавирусную инфекцию, предпочтительно где коронавирусная инфекция представляет собой острую инфекцию COVID-19; и/или где коронавирусная инфекция представляет собой продолжающуюся симптоматическую коронавирусную инфекцию, предпочтительно где коронавирусная инфекция представляет собой продолжающуюся симптоматическую инфекцию COVID-19; и/или где коронавирусная инфекция представляет собой постковидный синдром, персистирующий ковид или долгий ковид; предпочтительно, где коронавирусная инфекция представляет собой пост-COVID-19-синдром, персистирующий COVID или долгий COVID.

24. Соединение по п. 23, где постковидный синдром, персистирующий ковид или долгий ковид включают один или более чем один симптом, возникающий со стороны сердечно-сосудистой, респираторной, пищеварительной, нервной, костно-мышечной, метаболической, почечной, дерматологической, отоларингологической, кроветворной и вегетативной систем; психические проблемы, генерализованную боль, утомляемость и/или постоянную лихорадку.

25. Соединение по любому из пп. 1-24 для применения в лечении пациента с признаками и симптомами коронавирусной инфекции (предпочтительно COVID-19) в течение вплоть до 4 недель; и/или для применения в лечении пациента с признаками и симптомами коронавирусной инфекции (предпочтительно COVID-19) в течение от 4 недель до 12 недель; и/или для применения в лечении пациента с признаками и симптомами коронавирусной инфекции, предпочтительно COVID-19, в течение более 12 недель.

26. Соединение по любому из пп. 1-25 для применения в профилактике, купировании или лечении персистирующего COVID, долгого COVID или пост-COVID-

синдрома; предпочтительно, где профилактика, купирование или лечение сводят к минимуму вероятность того, что пациент будет страдать от симптомов персистирующего COVID, долгого COVID или пост-COVID-синдрома; и/или уменьшают тяжесть таких симптомов; более предпочтительно, где лечение сводит к минимуму симптомы коронавирусной инфекции.

27. Соединение по любому из пп. 1-26, где лечение снижает инфекционность пациентов с коронавирусной инфекцией; в том числе, когда пациент бессимптомен или еще малосимптомен, но имеет высокую вирусную нагрузку.

28. Соединение для применения по любому из пп. 1-27, где соединение вводят в комбинации с кортикостероидом, предпочтительно дексаметазоном.

29. Соединение для применения по п. 28, где соединение и кортикостероид вводят одновременно, раздельно или последовательно.

30. Соединение для применения по любому из пп. 1-29, где соединение вводят согласно схеме одна доза в сутки в течение 10 суток, 9 суток, 8 суток, 7 суток, 6 суток, 5 суток, 4 суток, 3 суток, 2 суток или 1 суток; предпочтительно 2-5 суток, 3-5 суток или 3, 4 или 5 суток; наиболее предпочтительно 3 суток или 5 суток; наиболее предпочтительно 3 суток.

31. Соединение для применения по любому из пп. 1-30, где соединение вводят в дозе 5 мг в сутки или менее; 4,5 мг в сутки или менее; 4 мг в сутки или менее; 3,5 мг в сутки или менее; 3 мг в сутки или менее; 2,5 мг в сутки или менее или 2 мг в сутки или менее; 0,5 мг/сутки, 1 мг/сутки, 1,5 мг/сутки, 2 мг/сутки, 2,5 мг/сутки, 3 мг/сутки, 3,5 мг/сутки, 4 мг/сутки, 4,5 мг/сутки или 5 мг/сутки; предпочтительно 1 мг/сутки, 1,5 мг/сутки, 2 мг/сутки или 2,5 мг/сутки; более предпочтительно 1,5-2,5 мг/сутки; наиболее предпочтительно 1,5 мг/сутки, 2 мг/сутки или 2,5 мг/сутки.

32. Соединение для применения по любому из пп. 1-31, где соединение вводят в общей дозе 1-50 мг, 1-40 мг, 1-30 мг, 1-20 мг, 1-15 мг, 3-15 мг, 3-12 мг, 4-12 мг, 4-10 мг или 4,5-10 мг; 4 мг, 4,5 мг, 5 мг, 5,5 мг, 6 мг, 6,5 мг, 7 мг, 7,5 мг, 8 мг, 8,5 мг, 9 мг, 9,5 мг или 10 мг; предпочтительно 4,5 мг, 5 мг, 6 мг, 7,5 мг, 8 мг, 9 мг или 10 мг; более предпочтительно 4,5-7,5 мг/сутки.

33. Соединение для применения по любому из пп. 1-32, где соединение вводят посредством инфузии.

34. Соединение для применения по п. 33, где инфузия представляет собой 1-часовую инфузию, 1,5-часовую инфузию, 2-часовую инфузию или 3-часовую инфузию; предпочтительно 1,5-часовую инфузию.

35. Соединение для применения по любому из пп. 1-34, где 1,5 мг плитидепсина вводят в виде 1,5-часовой инфузии один раз в сутки в течение 3 суток подряд; или где 2 мг плитидепсина вводят в виде 1,5-часовой инфузии один раз в сутки в течение 3 суток подряд; или где 2,5 мг плитидепсина вводят в виде 1,5-часовой инфузии один раз в сутки в течение 3 суток подряд; или где 1 мг плитидепсина вводят в виде 1,5-часовой инфузии один раз в сутки в течение 5 суток подряд; или где 2 мг плитидепсина вводят в виде 1,5-часовой инфузии один раз в сутки в течение 5 суток подряд.

36. Соединение для применения по любому из пп. 1-35, где соединение вводят с использованием нагрузочной дозы и поддерживающей дозы.

37. Соединение для применения по п. 36, где схема приема представляет собой:

нагрузочную дозу 2,5 мг на 1-е сутки с последующим введением поддерживающей дозы 2 мг/сутки в течение последующих суток;

нагрузочную дозу 2,5 мг на 1-е сутки с последующим введением поддерживающей дозы 1,5 мг/сутки в течение последующих суток;

нагрузочную дозу 2,5 мг на 1-е сутки с последующим введением поддерживающей дозы 1 мг/сутки в течение последующих суток;

нагрузочную дозу 2,5 мг на 1-е сутки с последующим введением поддерживающей дозы 0,5 мг/сутки в течение последующих суток;

нагрузочную дозу 2 мг на 1-е сутки с последующим введением поддерживающей дозы 1,5 мг/сутки в течение последующих суток;

нагрузочную дозу 2 мг на 1-е сутки с последующим введением поддерживающей дозы 1 мг/сутки в течение последующих суток;

нагрузочную дозу 2 мг на 1-е сутки с последующим введением поддерживающей дозы 0,5 мг/сутки в течение последующих суток;

нагрузочную дозу 1,5 мг на 1-е сутки с последующим введением поддерживающей дозы 1 мг/сутки в течение последующих суток;

нагрузочную дозу 1,5 мг на 1-е сутки с последующим введением поддерживающей дозы 0,5 мг/сутки в течение последующих суток; или

нагрузочную дозу 1 мг на 1-е сутки с последующим введением поддерживающей дозы 0,5 мг/сутки в течение последующих суток.

38. Соединение для применения по любому из пп. 1-37, где соединение вводят в комбинации с кортикостероидом, и где кортикостероид вводят в те же сутки, что и введение соединения по любому из пп. 1-19.

39. Соединение для применения по п. 38, где кортикостероид также может быть введен в одни или более чем одни последующие сутки; предпочтительно, где кортикостероид вводят вместе с соединением на 1-3 сутки, и кортикостероид дополнительно вводят в одни или более чем одни сутки из 4-10.

40. Соединение для применения по п. 39, где кортикостероид вводят внутривенно в те сутки, когда вводят соединение, но в последующие сутки вводят перорально или внутривенно.

41. Соединение для применения по любому из пп. 38-40, где кортикостероид представляет собой дексаметазон; предпочтительно, где дексаметазон вводят в дозе 6,6 мг/сутки внутривенно в те сутки, когда вводят соединение по настоящему изобретению.

42. Соединение для применения по п. 41, где дексаметазон вводят в дозе 6 мг/сутки перорально или внутривенно в последующие сутки, предпочтительно в одни или более чем одни сутки из 4, 5, 6, 7, 8, 9 и 10 суток.

43. Соединение для применения по любому из пп. 1-42, где PLD вводят в дозе 1,5 мг/сутки внутривенно (в/в) в комбинации с 6,6 мг/сутки дексаметазона в/в на 1-3 сутки с последующим введением 6 мг/сутки дексаметазона перорально (п/о)/в/в с 4-х по 10-е сутки (согласно заключению врача в соответствии с клиническим состоянием пациента и дальнейшим развитием клинической картины); или

где PLD вводят в дозе 2,0 мг/сутки внутривенно (в/в) в комбинации с 6,6 мг/сутки дексаметазона в/в на 1-3 сутки с последующим введением 6 мг/сутки дексаметазона перорально (п/о)/в/в с 4-х по 10-е сутки (согласно заключению врача в соответствии с клиническим состоянием пациента и дальнейшим развитием клинической картины); или

где PLD вводят в дозе 2,5 мг/сутки внутривенно (в/в) в комбинации с 6,6 мг/сутки дексаметазона в/в на 1-3 сутки с последующим введением 6 мг/сутки дексаметазона перорально (п/о)/в/в с 4-х по 10-е сутки (согласно заключению врача в соответствии с клиническим состоянием пациента и дальнейшим развитием клинической картины).

44. Соединение для применения по любому из пп. 38-43, где кортикостероид вводят за 20-30 минут до начала лечения соединением по любому из пп. 1-19.

45. Соединение для применения по любому из пп. 1-44, где пациент дополнительно получает следующие лекарственные препараты, предпочтительно за 20-30 минут до начала лечения соединением по любому из пп. 1-19:

ондансетрон 8 мг в/в (или эквивалент);

дифенгидрамина гидрохлорид 25 мг в/в (или эквивалент); и

ранитидин 50 мг в/в (или эквивалент).

46. Соединение для применения по любому из пп. 1-45, где на 4 и 5 сутки пациенты получают ондансетрон (или эквивалент) по 4 мг дважды в сутки п/о.

47. Соединение для применения по любому из пп. 1-34, где соединение вводят в виде однократной дозы (в 1 сутки).

48. Соединение для применения по п. 47, где однократная доза представляет собой 1-10 мг, 4-10 мг, 4,5-10 мг, 4 мг, 4,5 мг, 5 мг, 5,5 мг, 6 мг, 6,5 мг, 7 мг, 7,5 мг, 8 мг, 8,5 мг, 9 мг, 9,5 мг или 10 мг, предпочтительно 4,5 мг, 5 мг, 6 мг, 7,5 мг, 8 мг, 9 мг или 10 мг, более предпочтительно 5-9 мг, 6,5-8,5 мг, 7-8 мг или наиболее предпочтительно 7,5 мг.

49. Соединение для применения по любому из пп. 47-48, где соединение вводят в виде 1,5-часовой инфузии.

50. Соединение для применения по любому из пп. 47-49, где кортикостероид вводят согласно схеме приема по любому из пп. 38-44.

51. Соединение для применения по любому из пп. 47-50, где за 20-30 минут до введения соединения по изобретению вводят следующие профилактические лекарственные препараты:

ондансетрон 8 мг в/в (или эквивалент), в частности в виде медленной 15-минутной инфузии;

дифенгидрамина гидрохлорид 25 мг в/в (или эквивалент);

ранитидин 50 мг в/в (или эквивалент).

52. Соединение для применения по любому из пп. 47-51, где 4 мг ондансетрона перорально назначают каждые 12 часов в течение 3 суток после введения соединения по настоящему изобретению.

53. Соединение для применения по любому из пп. 1-52, где дексаметазон представляет собой дексаметазона фосфат, и его вводят в дозе 8 мг при введении в те же сутки, когда вводят соединение по изобретению (что соответствует дозе 6,6 мг основания), и вводят в дозе 7,2 мг, если вводят позже (что соответствует дозе 6 мг основания).

54. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пп. 1-53 или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер и фармацевтически приемлемый носитель, для применения в лечении коронавирусной (CoV) инфекции; предпочтительно, где CoV представляет собой SARS-CoV-2.

55. Применение соединения по любому из пп. 1-53 или его фармацевтически приемлемых соли или стереоизомера в изготовлении лекарственного средства для лечения коронавирусной (CoV) инфекции; предпочтительно, где CoV представляет собой SARS-CoV-2.

56. Способ лечения коронавирусной (CoV) инфекции, включающий введение нуждающемуся в этом индивидууму терапевтически эффективного количества соединения по любому из пп. 1-53 или его фармацевтически приемлемых соли или стереоизомера, предпочтительно, где CoV представляет собой SARS-CoV-2.

57. Способ профилактики, купирования или лечения персистирующего ковида, долгого ковида или постковидного синдрома, включающий введение нуждающемуся в этом индивидууму терапевтически эффективного количества соединения по любому из пп. 1-53 или его фармацевтически приемлемых соли или стереоизомера; предпочтительно, где CoV представляет собой SARS-CoV-2; возможно, где лечение сводит к минимуму вероятность того, что пациент будет страдать от симптомов персистирующего COVID, долгого COVID или пост-COVID-синдрома; и/или уменьшает тяжесть таких симптомов.

58. Способ снижения инфекционности у пациентов с CoV, включающий введение нуждающемуся в этом индивидууму терапевтически эффективного количества соединения по любому из пп. 1-53 или его фармацевтически приемлемых соли или стереоизомера; предпочтительно, где CoV представляет собой SARS-CoV-2; возможно, когда пациент бессимптомен или еще малосимптомен, но имеет высокую вирусную нагрузку.

59. Способ минимизации симптомов коронавирусной (CoV) инфекции, включающий введение нуждающемуся в этом индивидууму терапевтически эффективного количества соединения по любому из пп. 1-53 или его фармацевтически приемлемых соли или стереоизомера; предпочтительно, где CoV представляет собой SARS-CoV-2.

60. Кортикостероид для применения в лечении коронавирусной (CoV) инфекции, где кортикостероид вводят в комбинации с соединением по любому из пп. 1-53.

61. Соединение по любому из пп. 1-19 и кортикостероид для применения в лечении коронавирусной (CoV) инфекции; где применение соответствует любому из пп. 1-53.

62. Способ лечения коронавирусной (CoV) инфекции, включающий применение комбинированной терапии соединением по любому из пп. 1-19 или его фармацевтически приемлемыми солью и кортикостероидом у нуждающегося в этом пациента, вследствие чего происходит лечение коронавирусной (CoV) инфекции; где указанный способ является таким, как определено в любом из пп. 1-53.

63. Применение соединения по любому из пп. 1-53 или его фармацевтически приемлемых соли или стереоизомера в изготовлении лекарственного средства для лечения коронавирусной (CoV) инфекции; где указанное лечение включает введение кортикостероида.

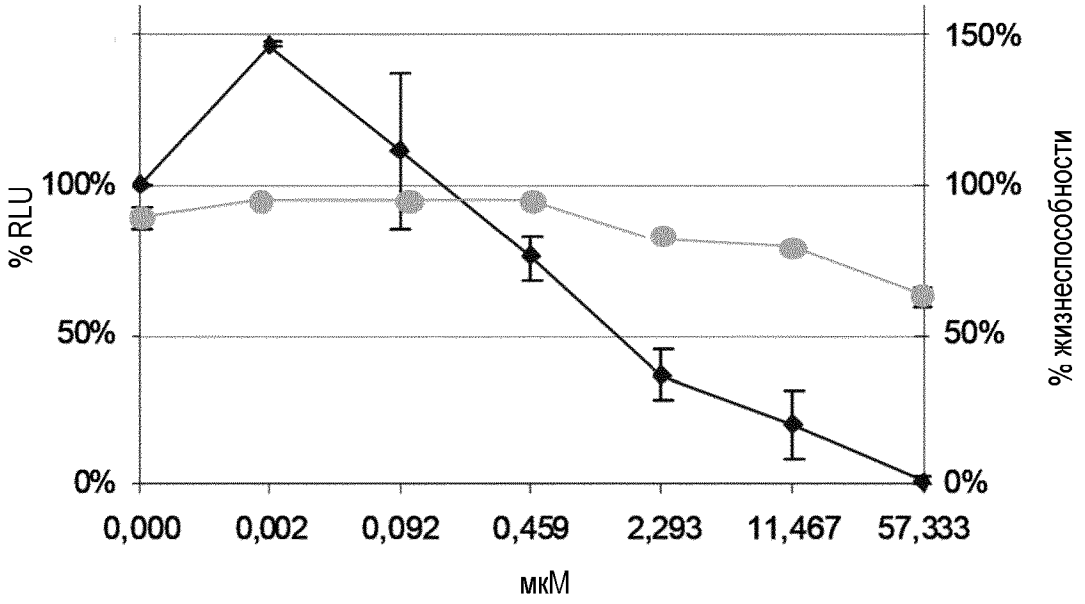
64. Применение кортикостероида в изготовлении лекарственного средства для лечения коронавирусной (CoV) инфекции; где указанное лечение включает введение соединения по любому из пп. 1-53 или его фармацевтически приемлемых соли или стереоизомера.

65. Применение соединения по любому из пп. 1-53 или его фармацевтически приемлемых соли или стереоизомера и кортикостероида в изготовлении лекарственного средства для лечения коронавирусной (CoV) инфекции.

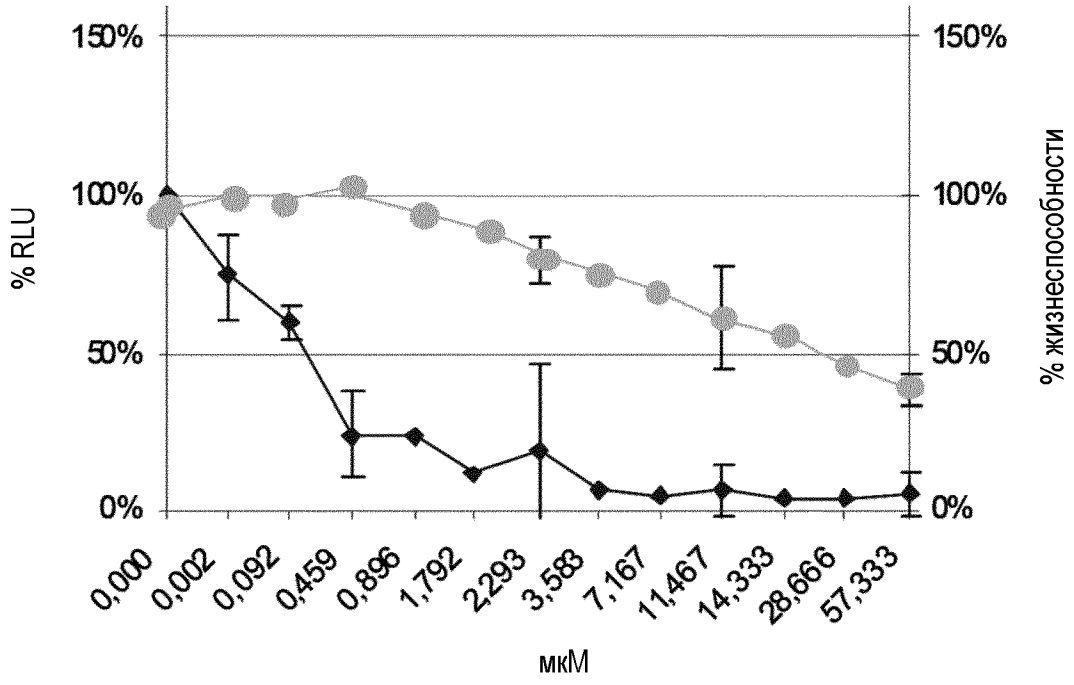
66. Фармацевтическая упаковка, содержащая соединение по любому из пп. 1-53 и кортикостероид, возможно дополнительно содержащая инструкции согласно любому из пп. 1-53.

67. Набор, содержащий соединение по любому из пп. 1-53 вместе с инструкциями по лечению коронавирусной (CoV) инфекции.

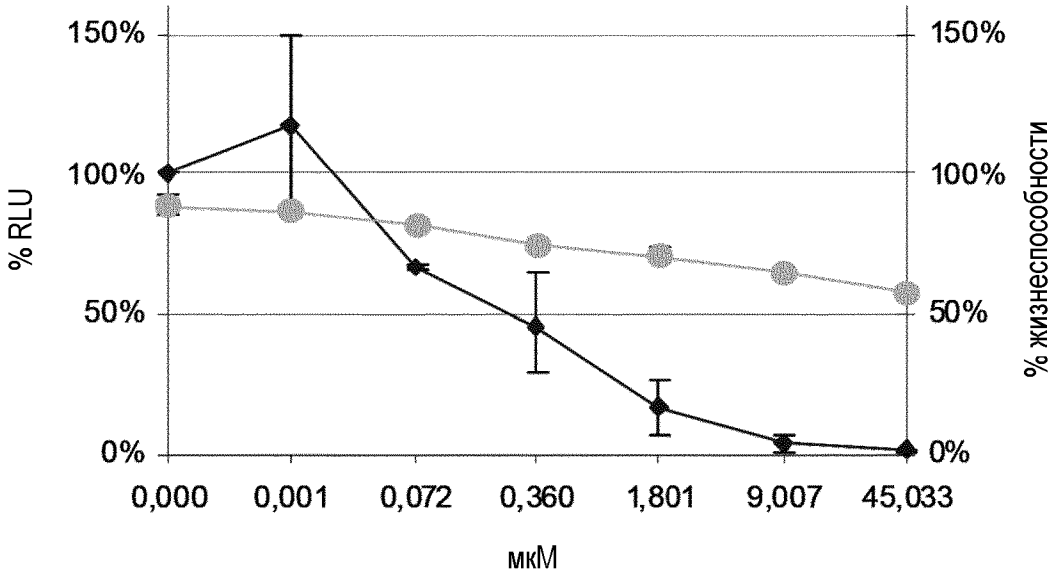
68. Набор, содержащий соединение по любому из пп. 1-53 и кортикостероид вместе с инструкциями по лечению коронавирусной (CoV) инфекции.


150%
100%
50%
0%
% RLU
% жизнеспособности
0,000
0,002
0,092
0,459
2,293
11,467
57,333
мкМ

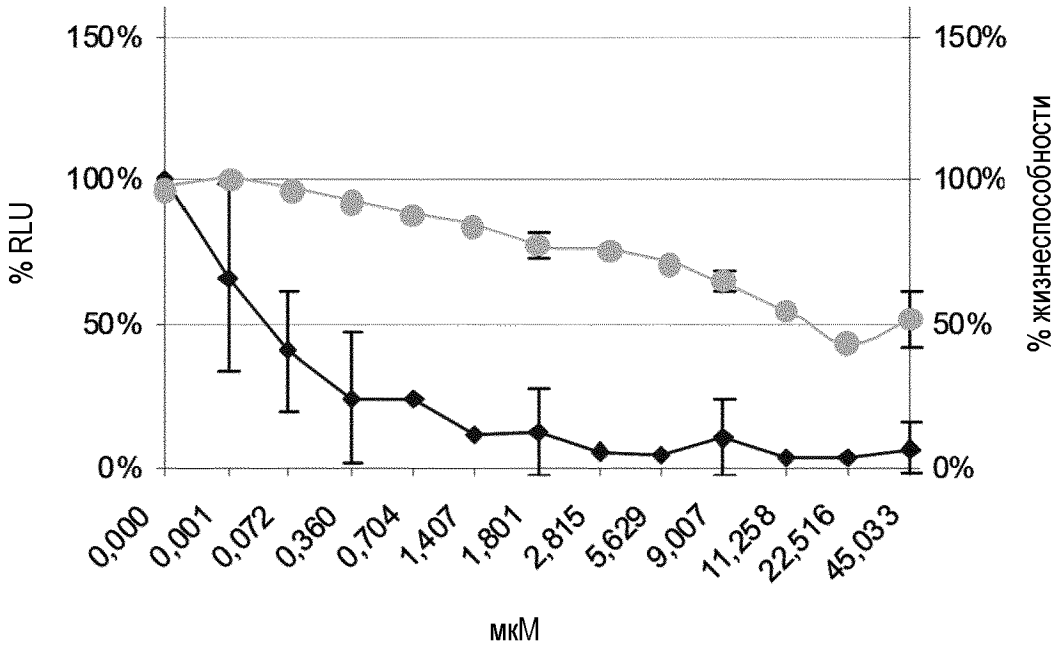
Фиг. 1A


150%
100%
50%
0%
% RLU
% жизнеспособности
0,000
0,002
0,092
0,459
0,896
1,792
2293
3,583
7,167
11,467
14,333
28,666
57,333
мкМ

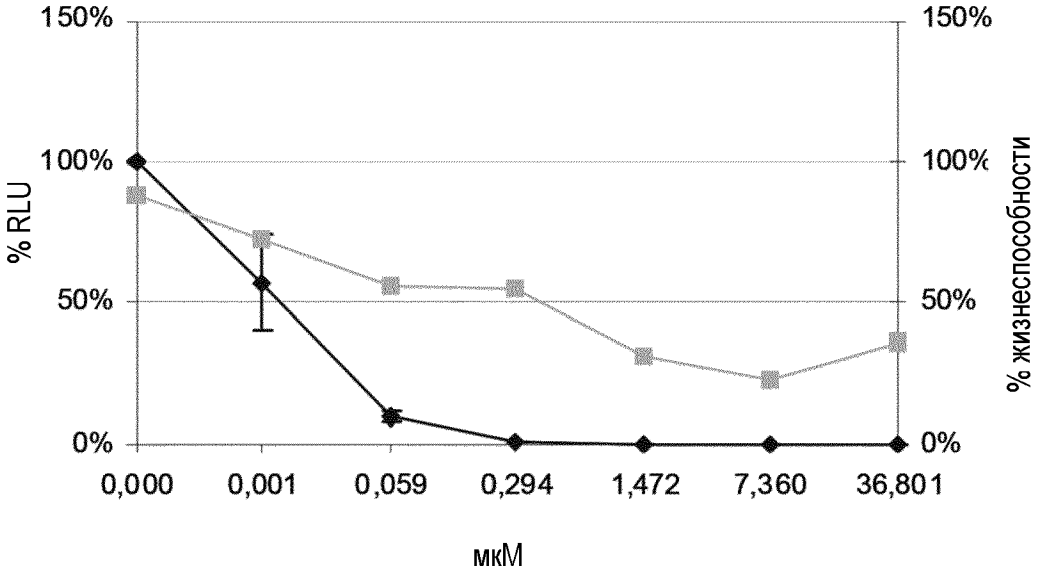
Фиг. 1B


150%
100%
50%
0%
% RLU
% жизнеспособности
0,000
0,001
0,072
0,360
1,801
9,007
45,033
мкМ

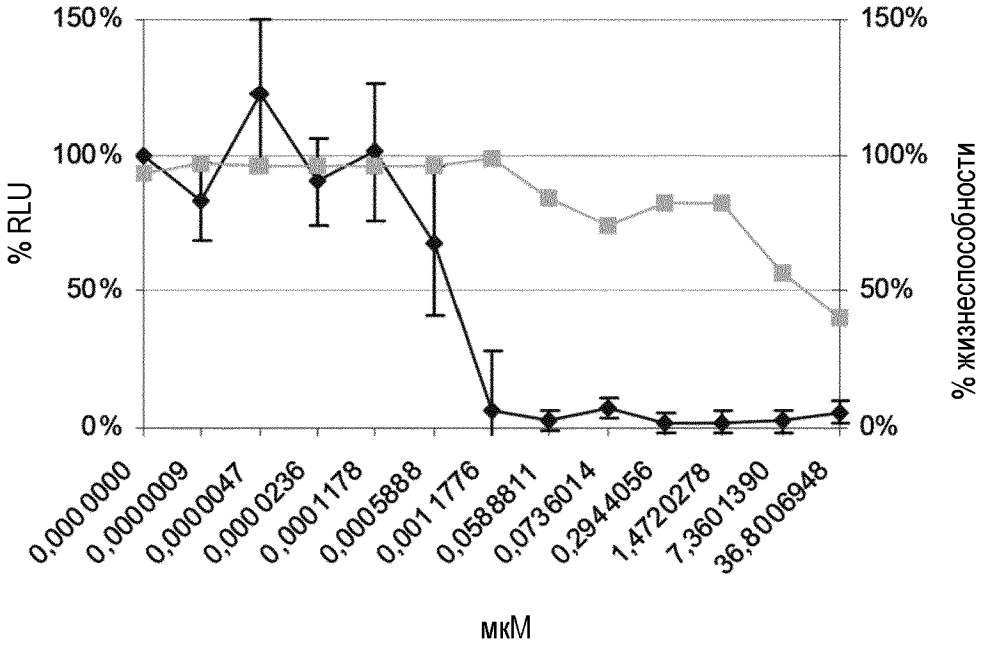
Фиг. 2A


150%
100%
50%
0%
% RLU
% жизнеспособности
0,000
0,001
0,072
0,360
0,704
1,407
1,801
2,815
5,629
9,007
11,258
22,516
45,033
мкМ

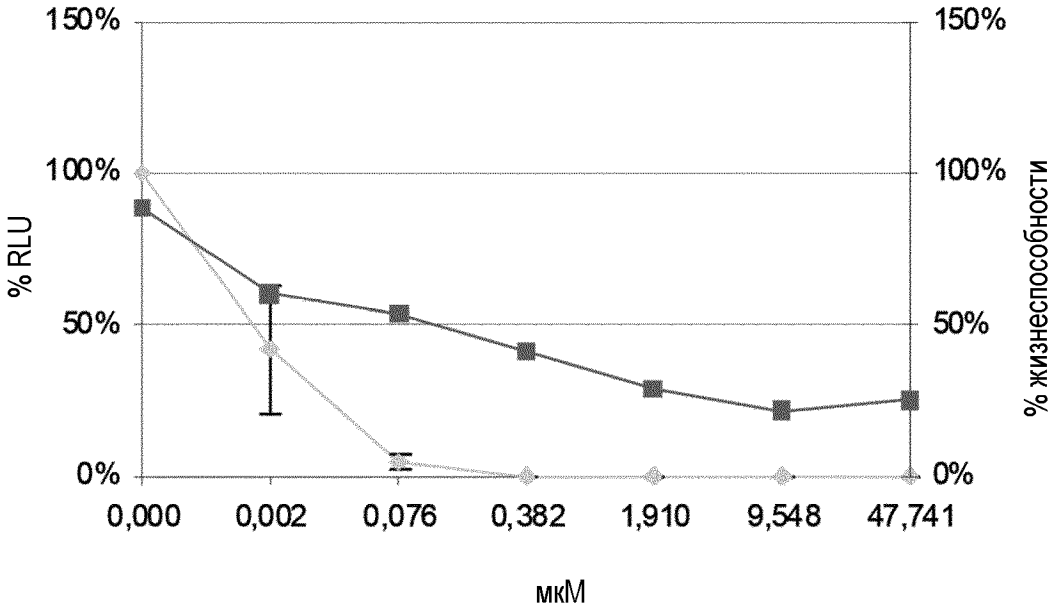
Фиг. 2B


150%
100%
50%
0%
% RLU
% жизнеспособности
0,000
0,001
0,059
0,294
1,472
7,360
36,801
мкМ

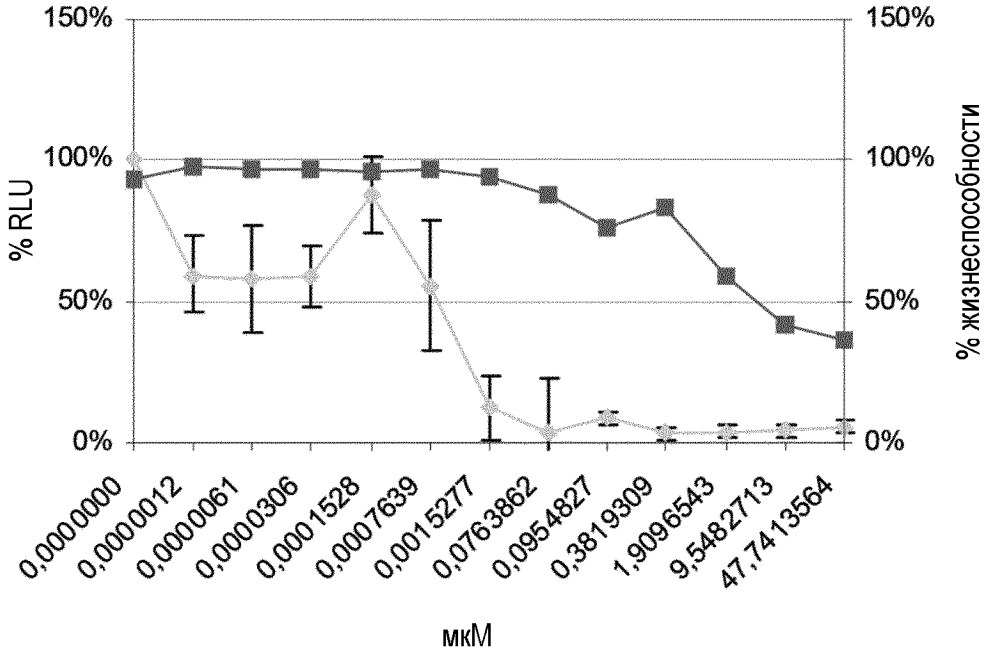
Фиг. 3A


150%
100%
50%
0%
% RLU
% жизнеспособности
0,0000000
0,0000009
0,0000047
0,0000236
0,0001178
0,0005888
0,0011776
0,0588811
0,0736014
0,2944056
1,4720278
7,3601390
36,8006948
мкМ

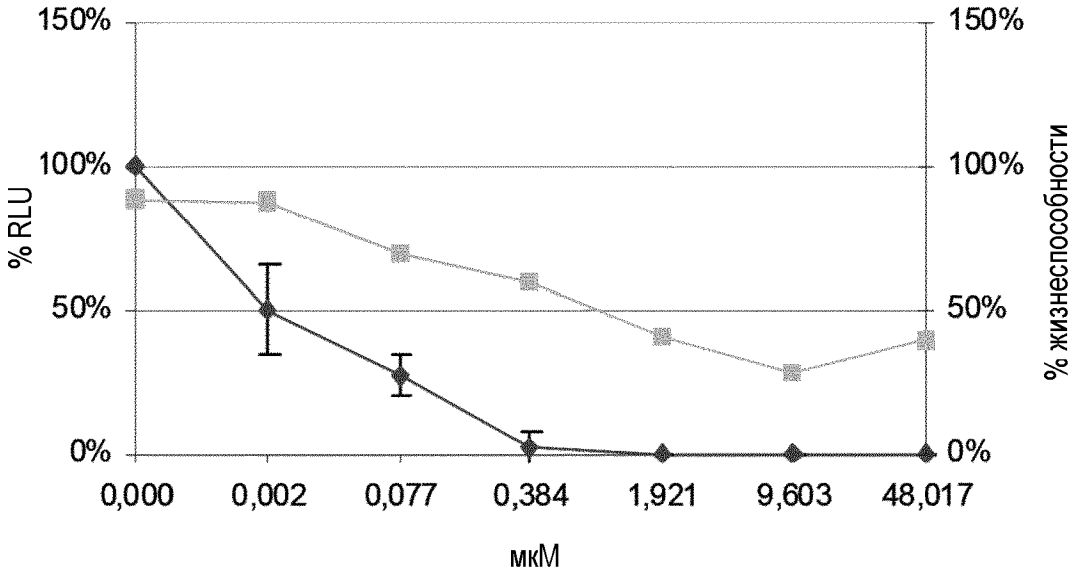
Фиг. 3B


150%
100%
50%
0%
% RLU
% жизнеспособности
0,000
0,002
0,076
0,382
1,910
9,548
47,741
мкМ

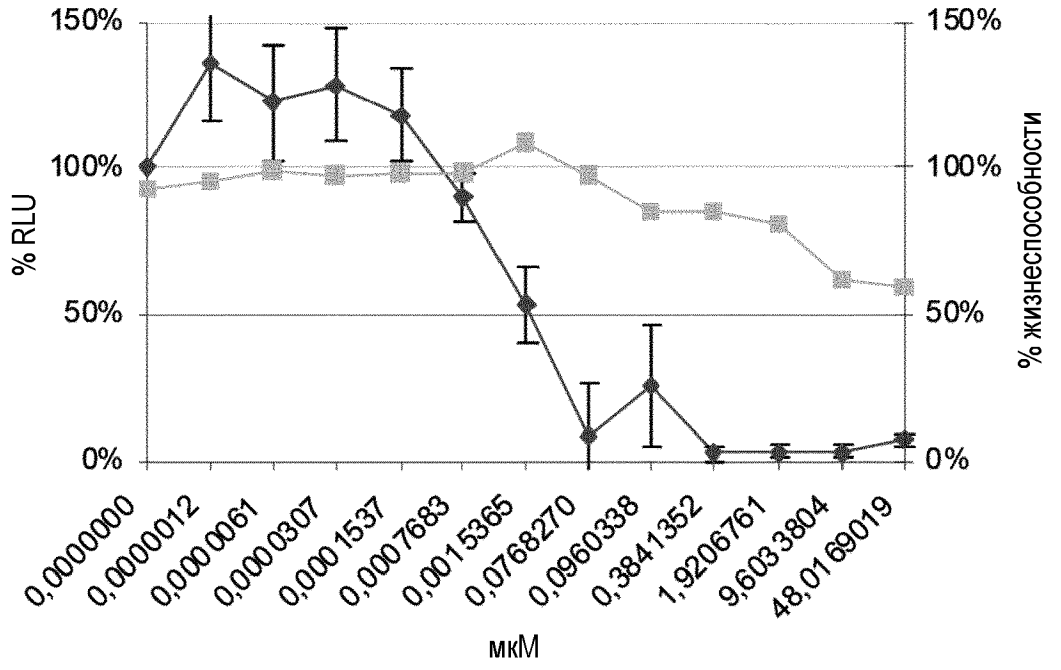
Фиг. 4A


150%
100%
50%
0%
% RLU
% жизнеспособности
0,0000000
0,0000012
0,0000061
0,0000306
0,0001528
0,0007639
0,0015277
0,0763862
0,0954827
0,3819309
1,9096543
9,5482713
47,7413564
мкМ

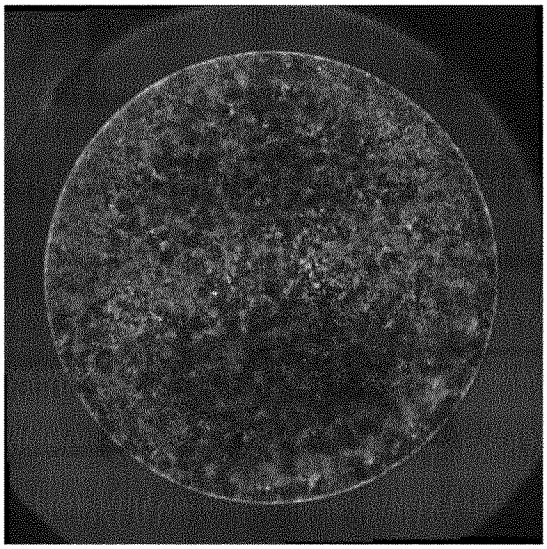
Фиг. 4B


150%
100%
50%
0%
% RLU
150%
100%
50%
0%
% жизнеспособности
0,000
0,002
0,077
0,384
1,921
9,603
48,017
мкМ

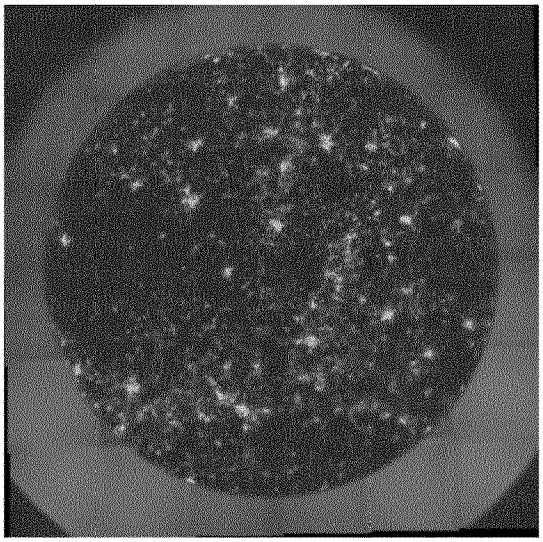
Фиг. 5A


150%
100%
50%
0%
% RLU
150%
100%
50%
0%
% жизнеспособности
0,0000000
0,0000012
0,0000061
0,0000307
0,0001537
0,0007683
0,0015365
0,0768270
0,0960338
0,3841352
1,9206761
9,6033804
48,0169019
мкМ

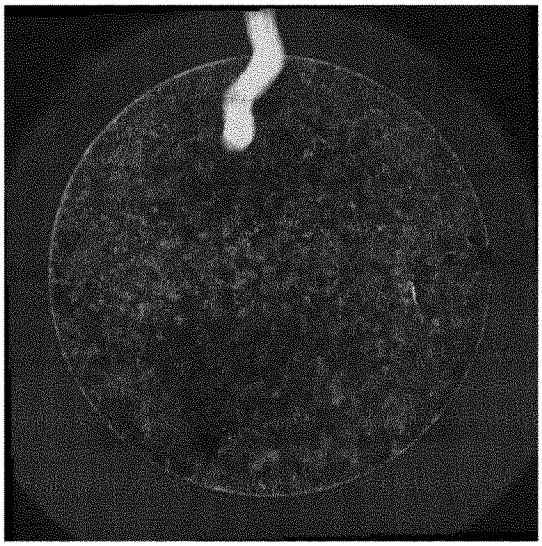
Фиг. 5B



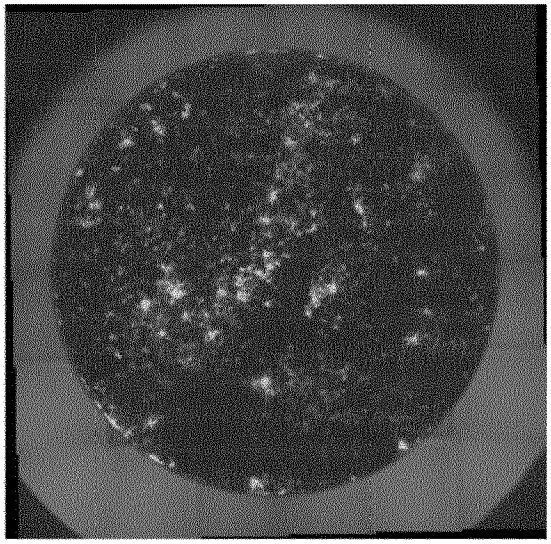
Фиг. 6a



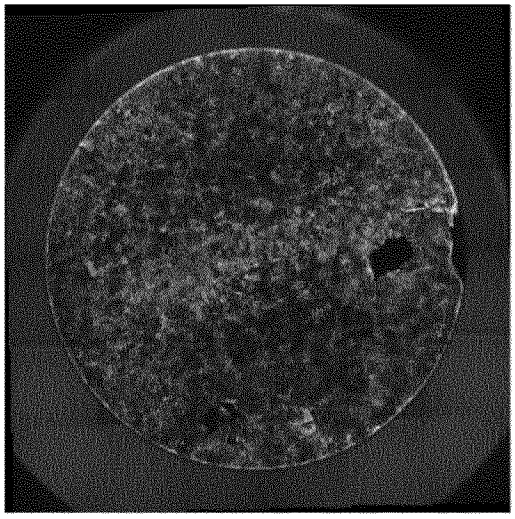
Фиг. 6b



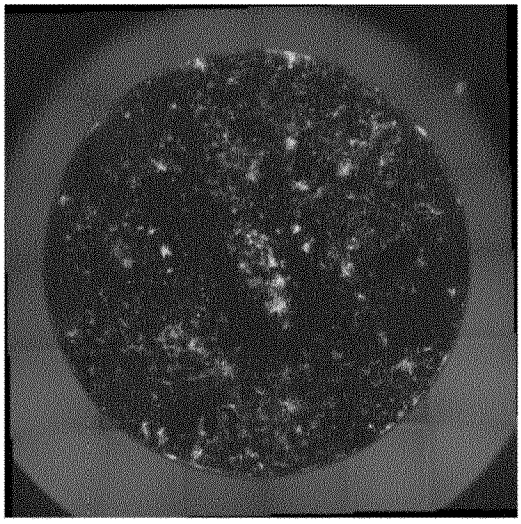
Фиг. 7a



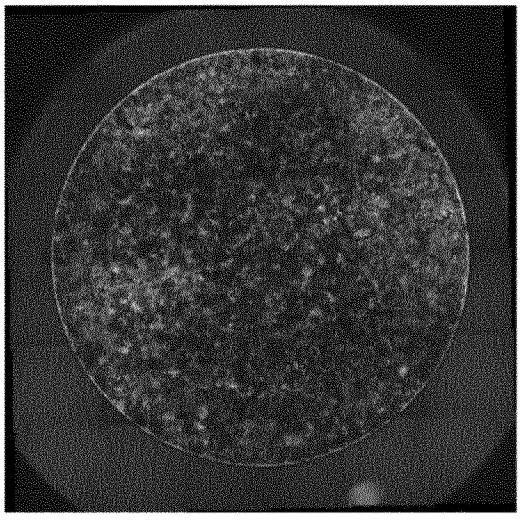
Фиг. 7b



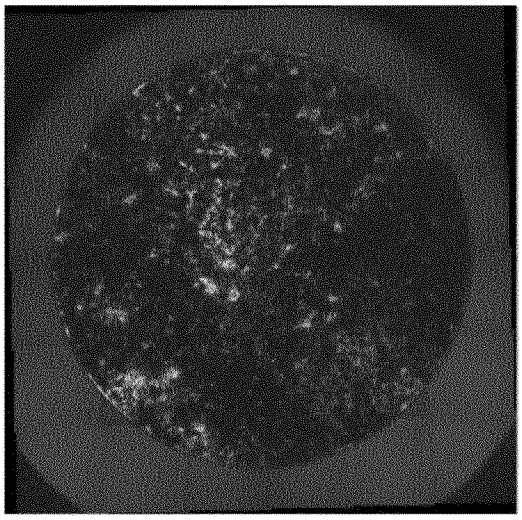
Фиг. 8a



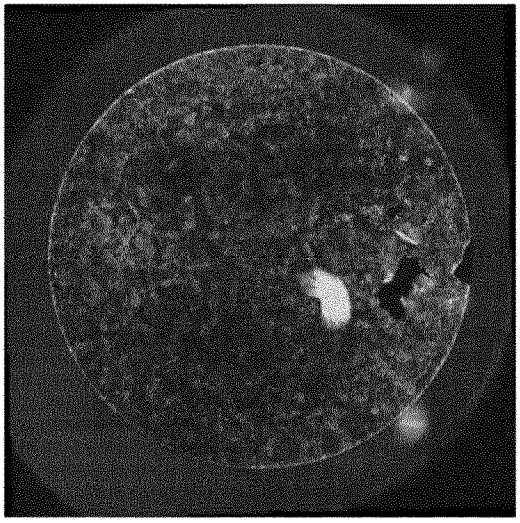
Фиг. 8b



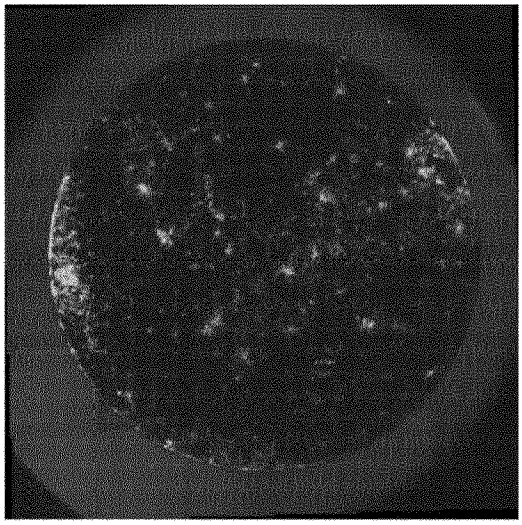
Фиг. 9a



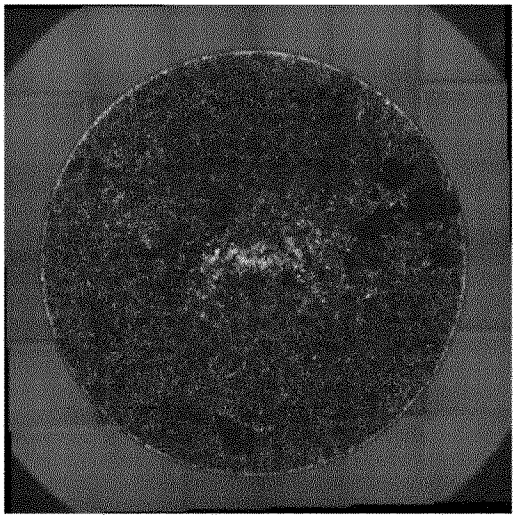
Фиг. 9b



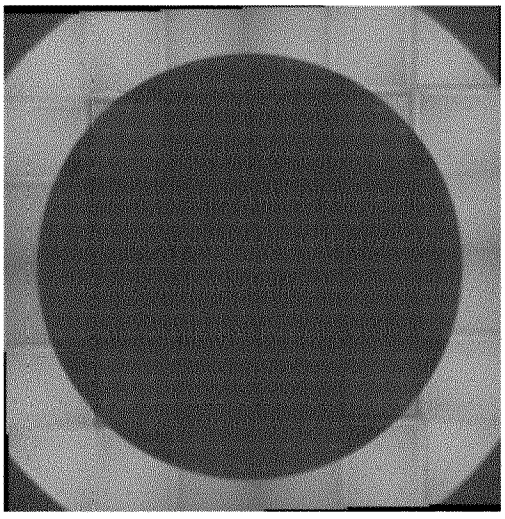
Фиг. 10a



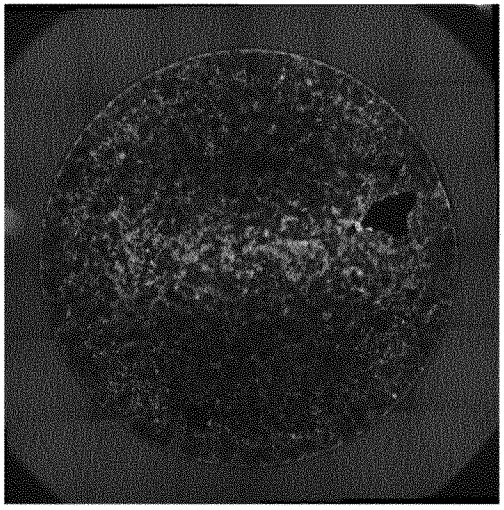
Фиг. 10b



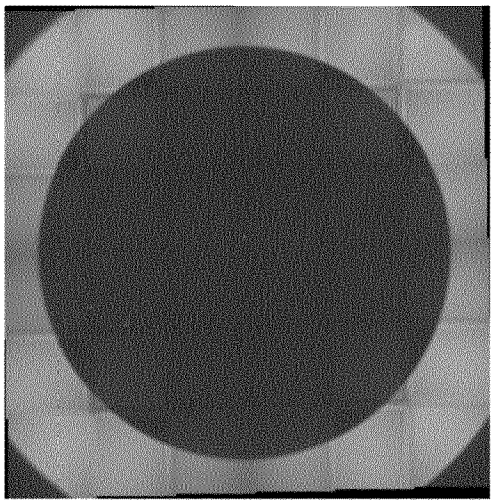
Фиг. 11a



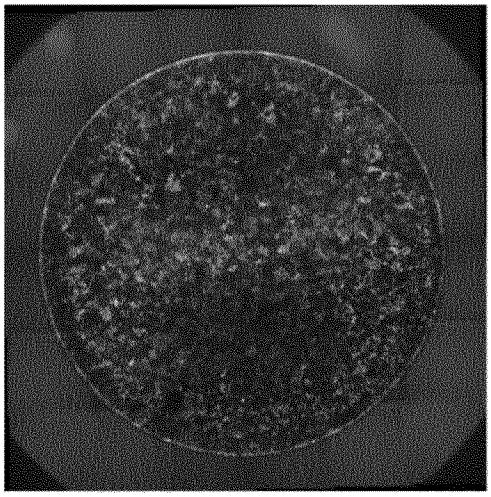
Фиг. 11b



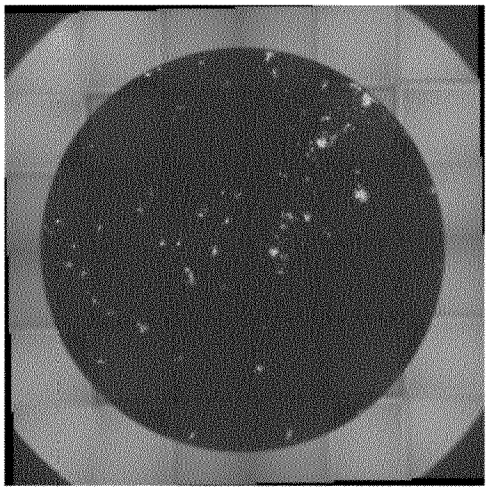
Фиг. 12a



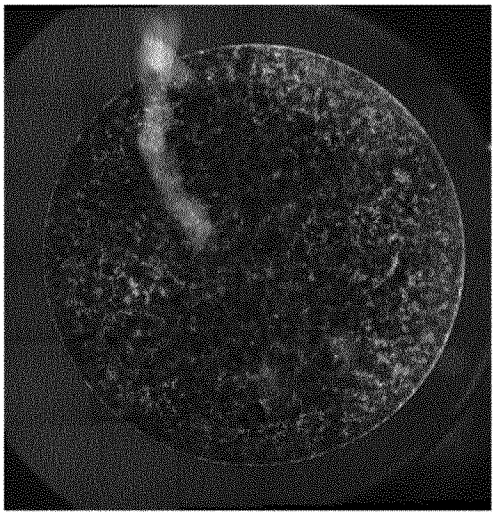
Фиг. 12b



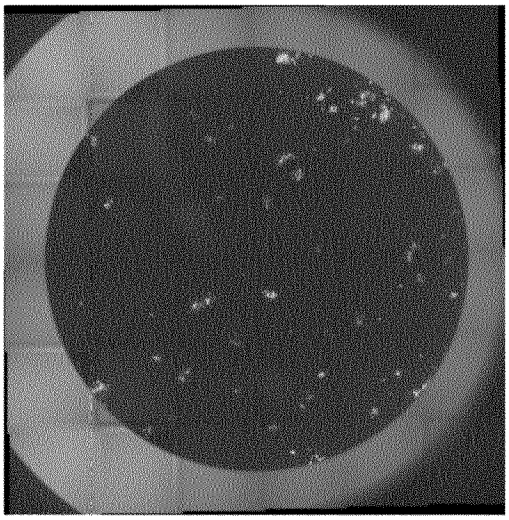
Фиг. 13a



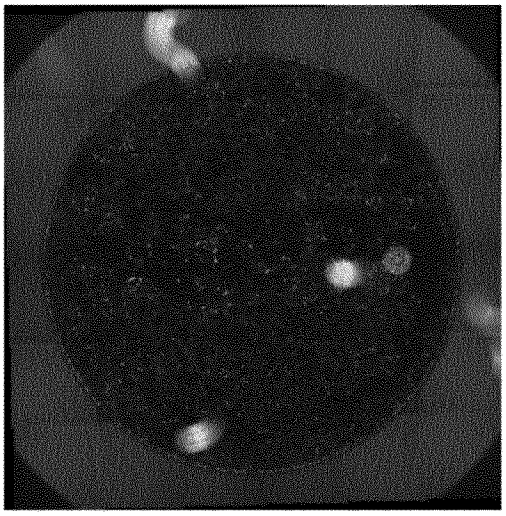
Фиг. 13b



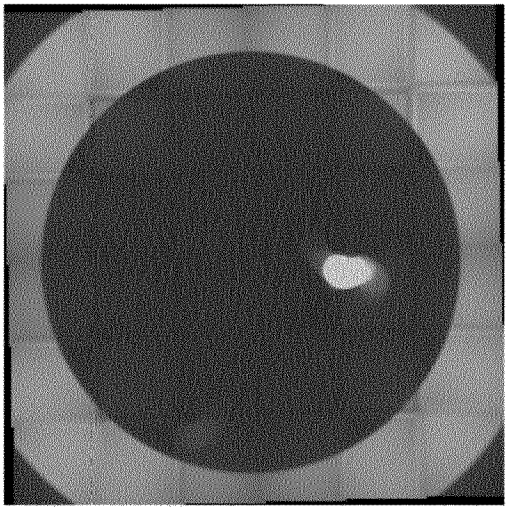
Фиг. 14a



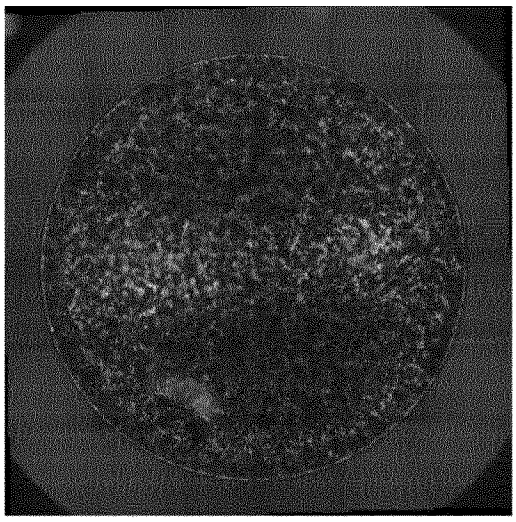
Фиг. 14b



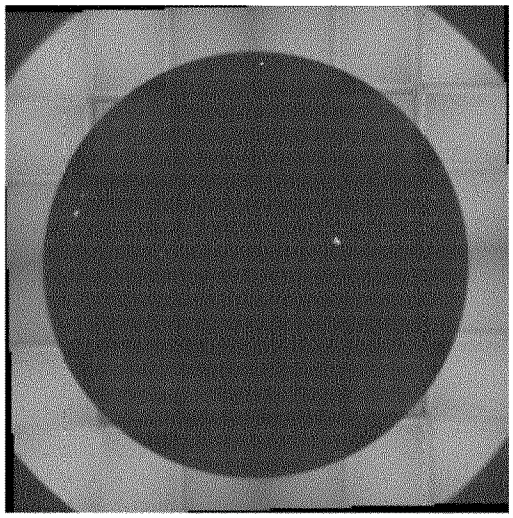
Фиг. 15a



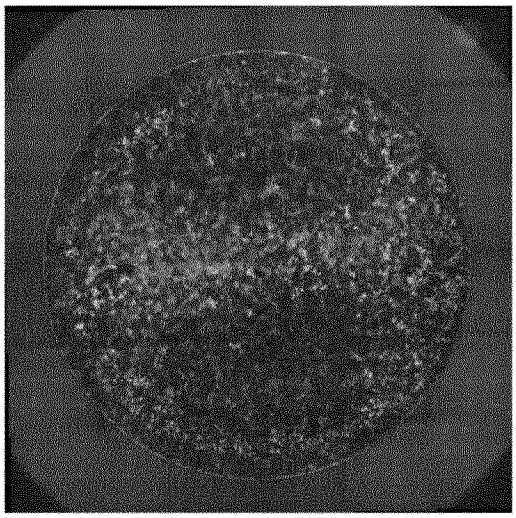
Фиг. 15b



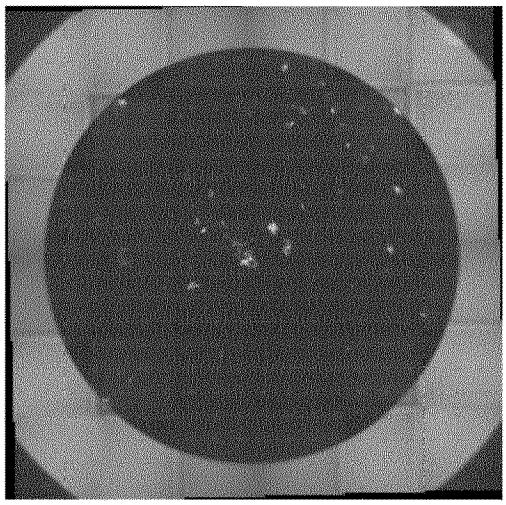
Фиг. 16a



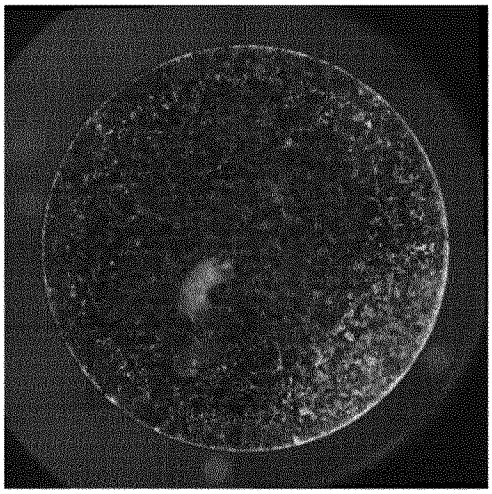
Фиг. 16b



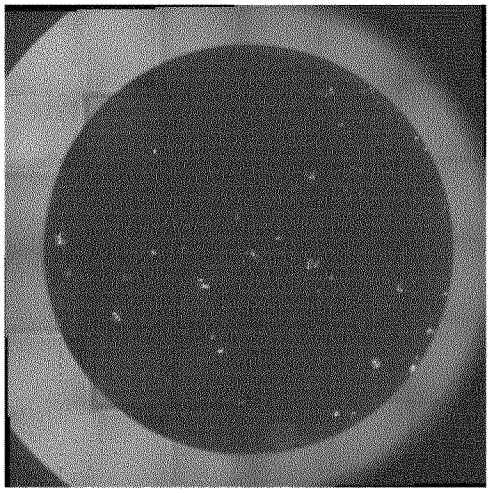
Фиг. 17a



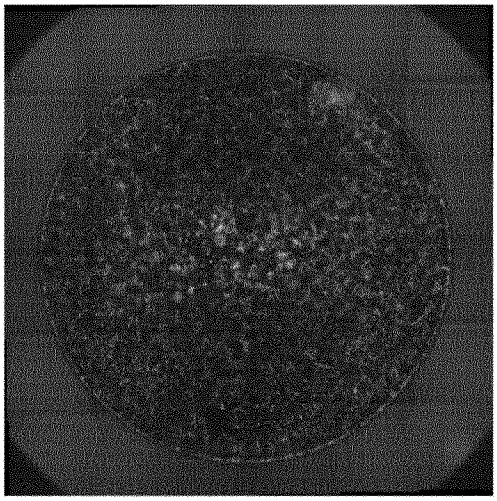
Фиг. 17b



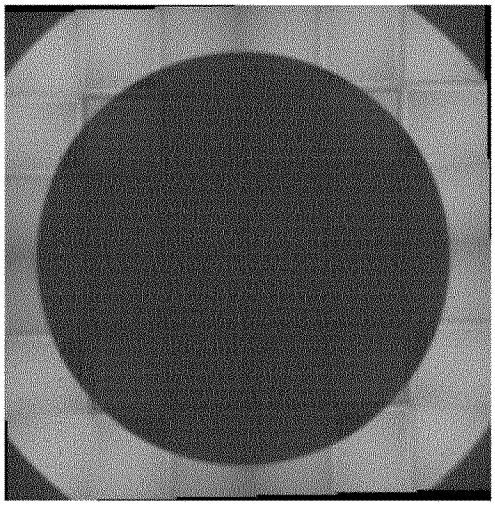
Фиг. 18a



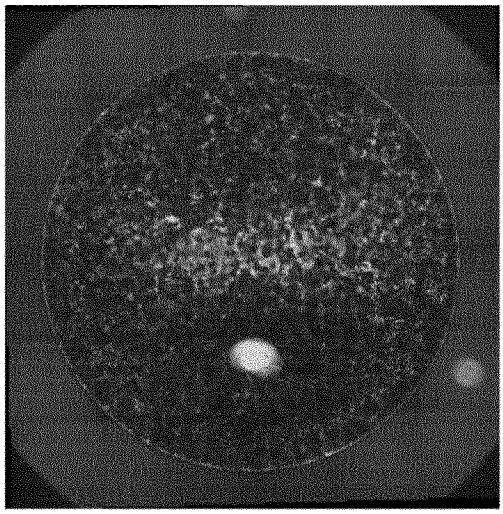
Фиг. 18b



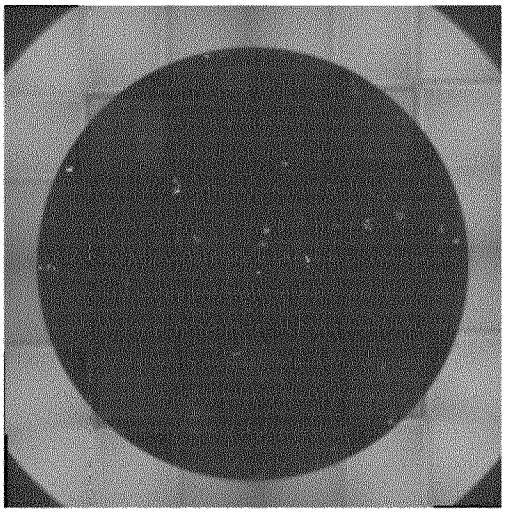
Фиг. 19a



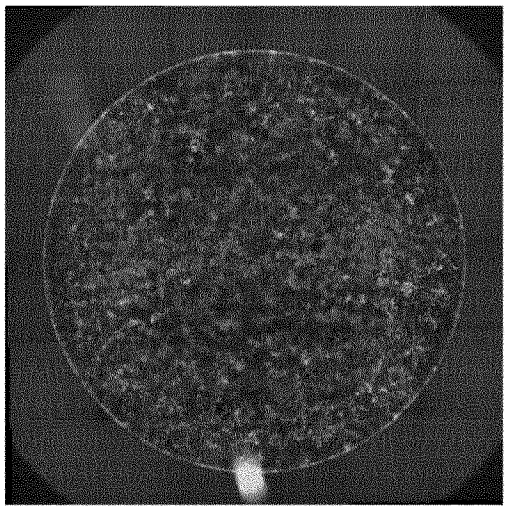
Фиг. 19b



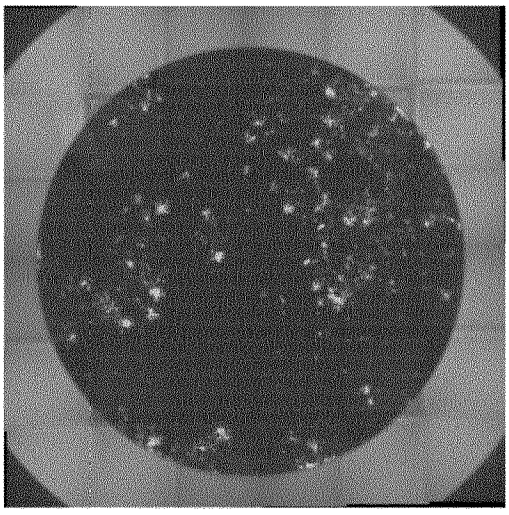
Фиг. 20a



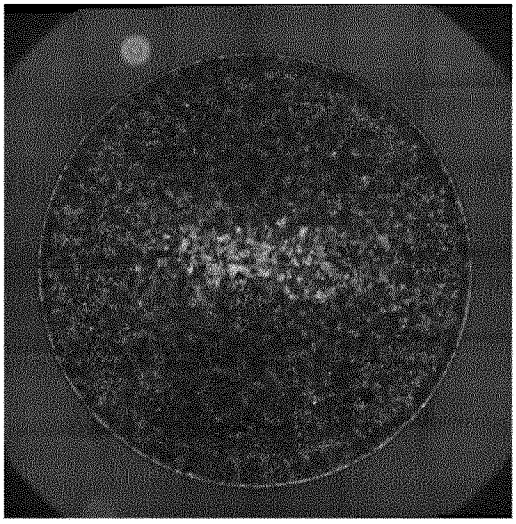
Фиг. 20b



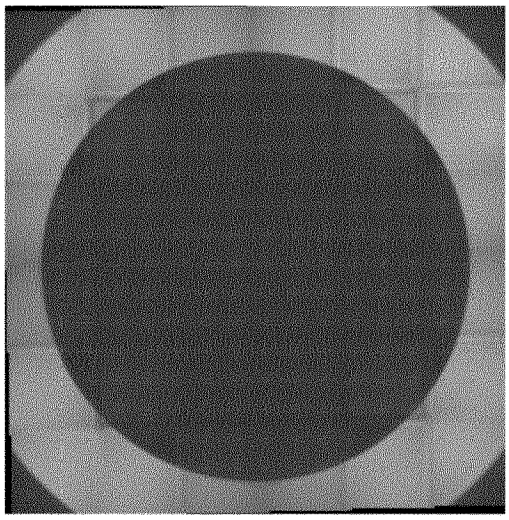
Фиг. 21a



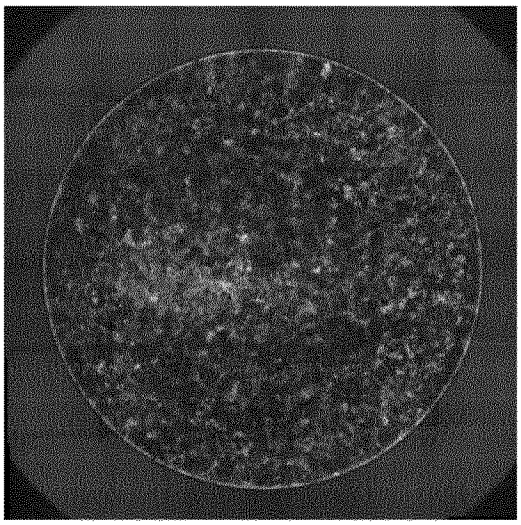
Фиг. 21b



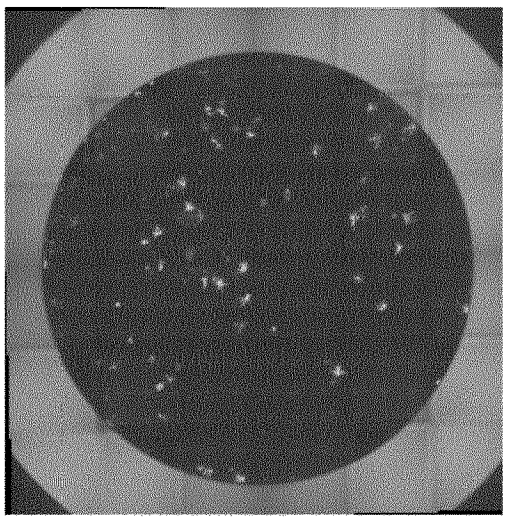
Фиг. 22a



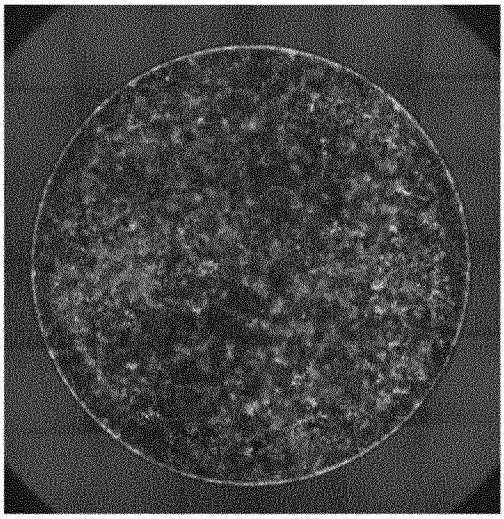
Фиг. 22b



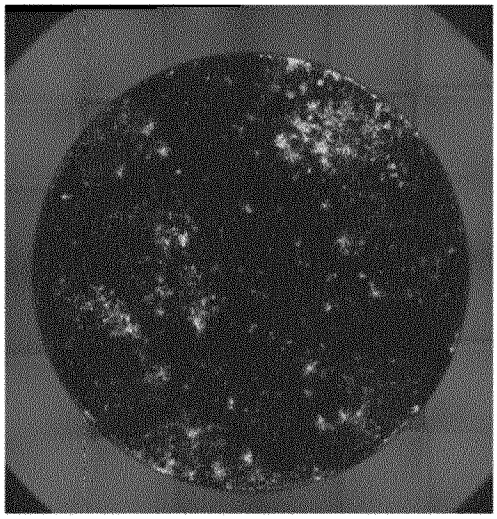
Фиг. 23a



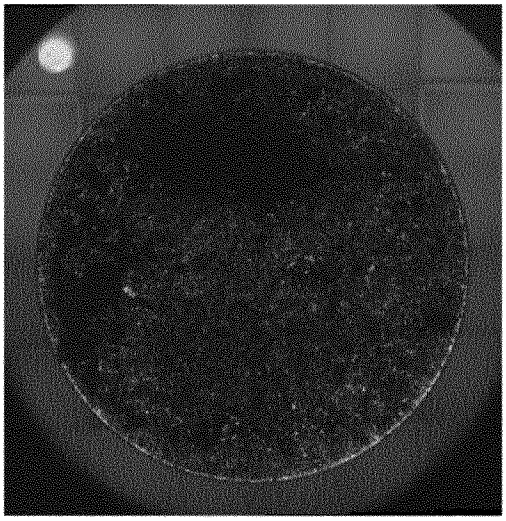
Фиг. 23b



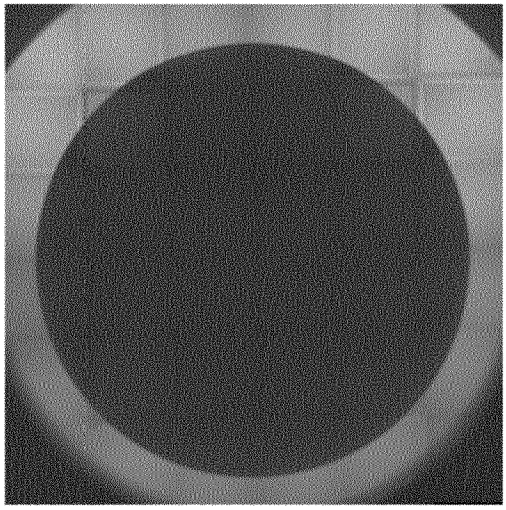
Фиг. 24a



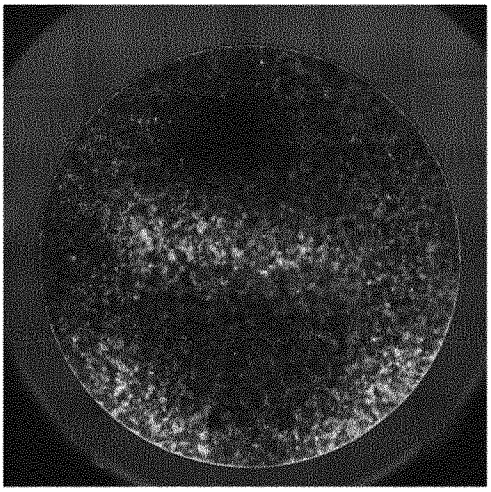
Фиг. 24b



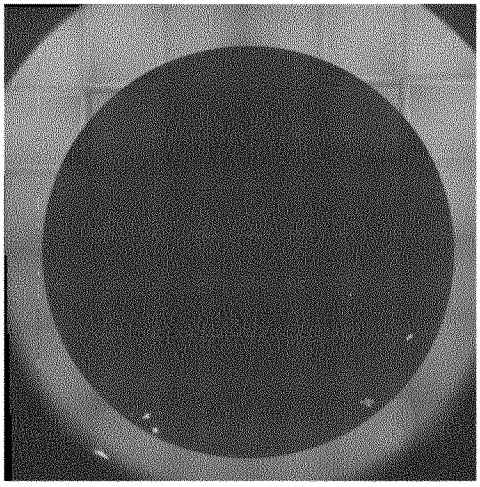
Фиг. 25a



Фиг. 25b



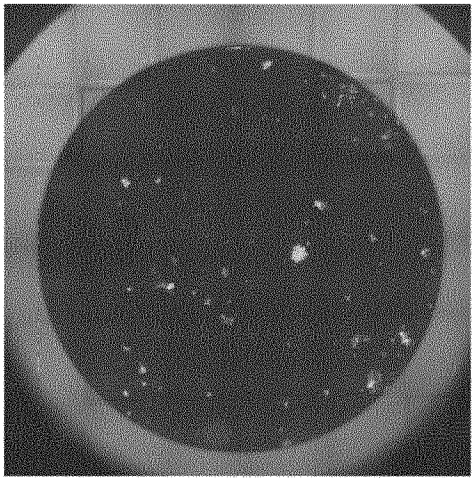
Фиг. 26a



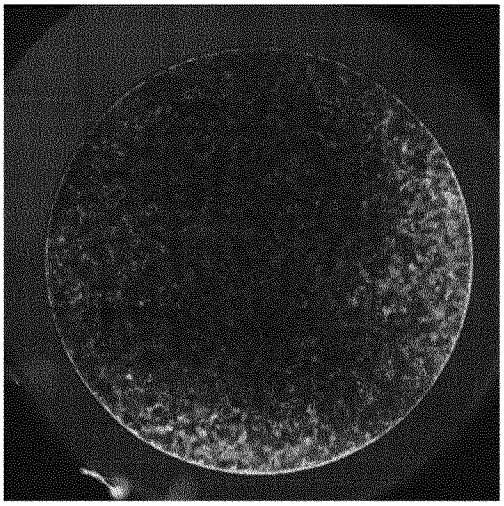
Фиг. 26b

не показано

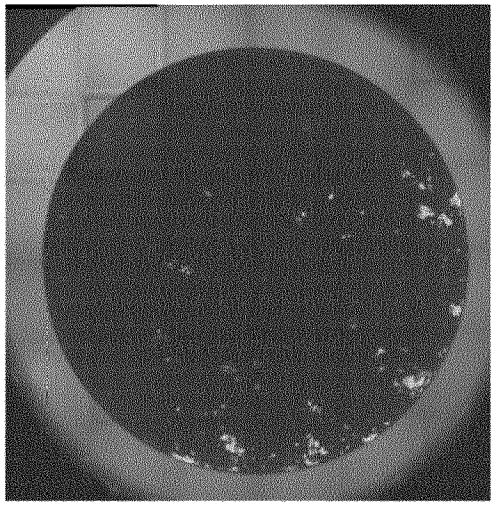
Фиг. 27a



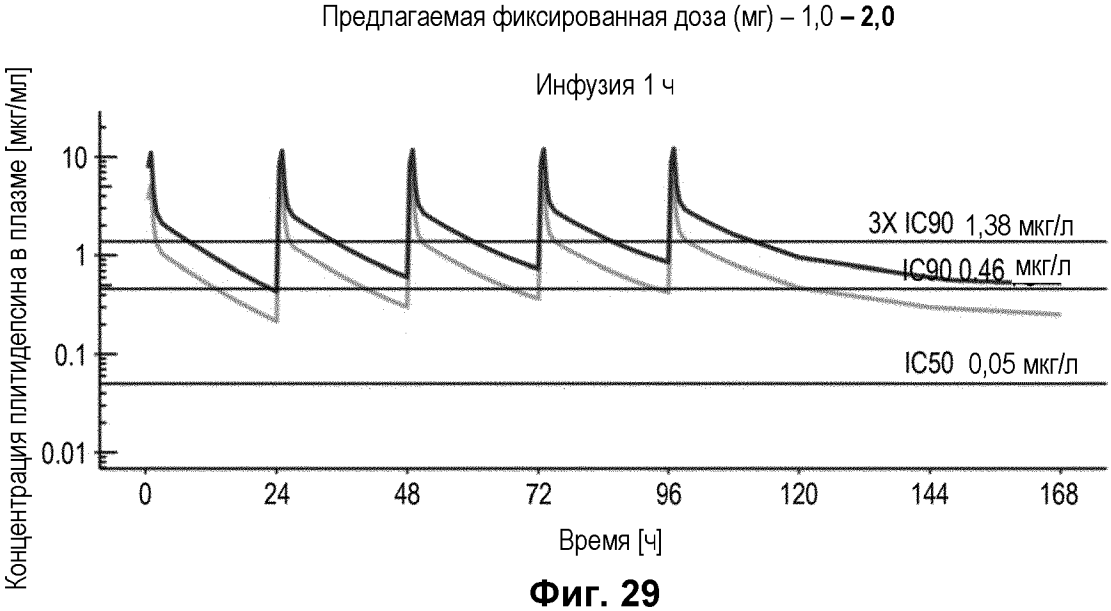
Фиг. 27b



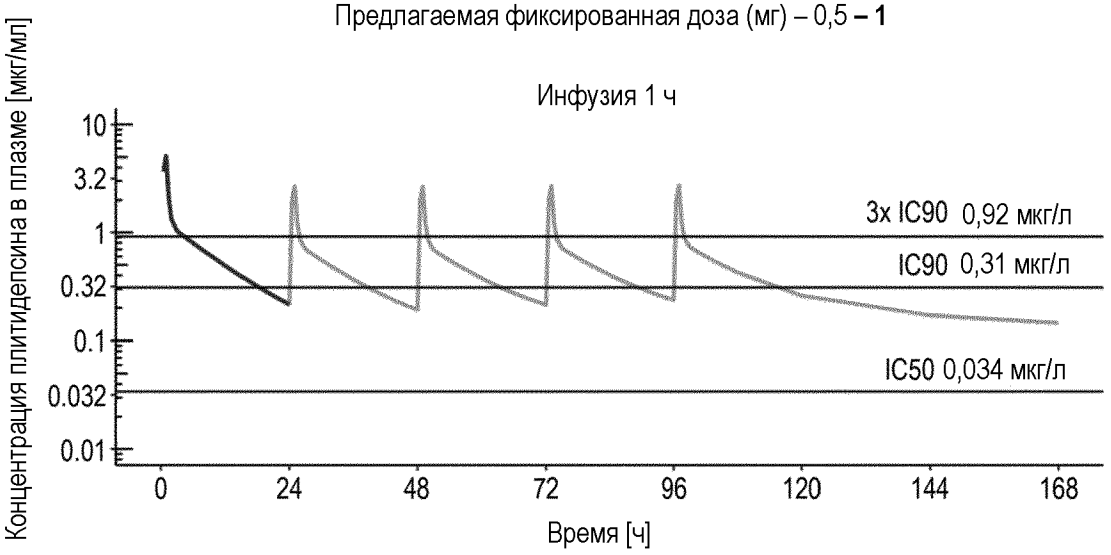
Фиг. 28a



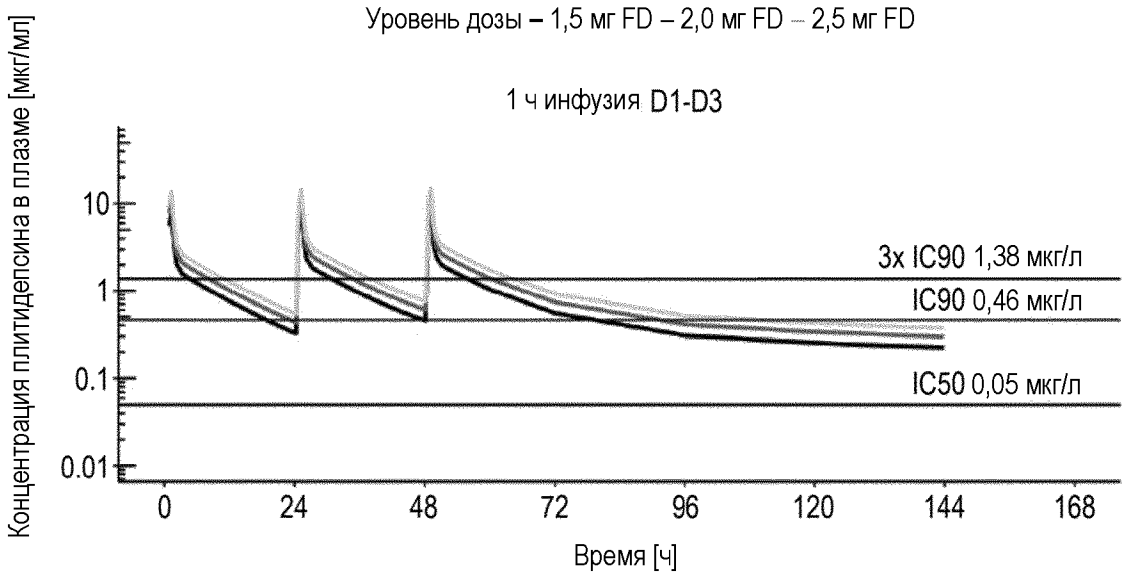
Фиг. 28b


Предлагаемая фиксированная доза (мг) – 1,0 – 2,0
Инфузия 1 ч
Концентрация плитидепсина в плазме [мкг/мл]
10
1
0.1
0.01
3X IC90 1,38 мкг/л
IC90 0,46 мкг/л
IC50 0,05 мкг/л
0
24
48
72
96
120
144
168
Время [ч]

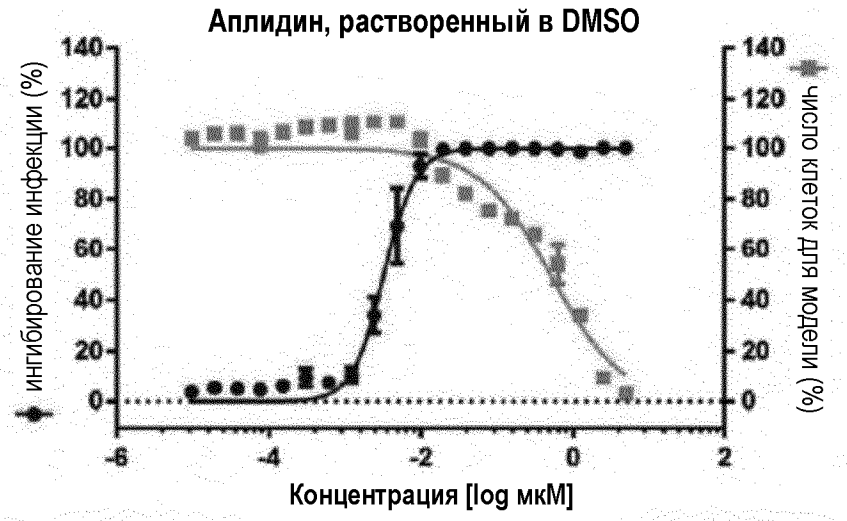
Фиг. 29


Предлагаемая фиксированная доза (мг) – 0,5 – 1
Инфузия 1 ч
Концентрация плитидепсина в плазме [мкг/мл]
10
3.2
1
0.32
0.1
0.032
0.01
3x IC90 0,92 мкг/л
IC90 0,31 мкг/л
IC50 0,034 мкг/л
0
24
48
72
96
120
144
168
Время [ч]

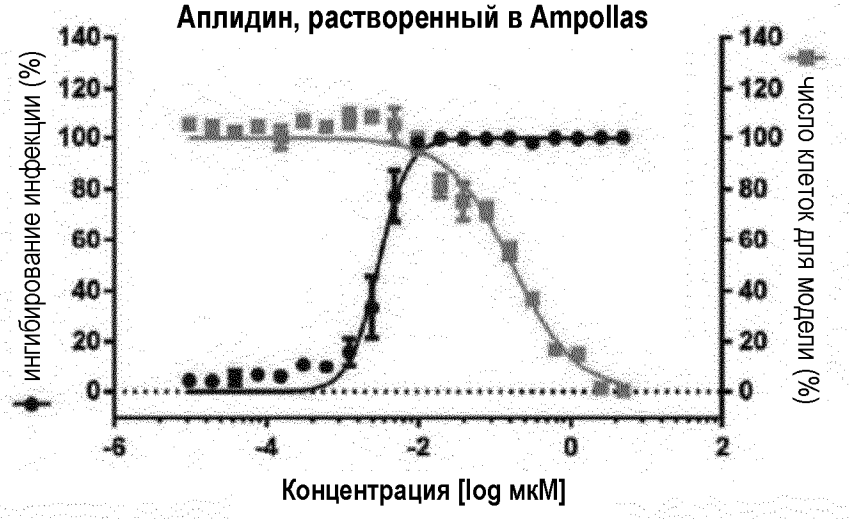
Фиг. 30


Уровень дозы – 1,5 мг FD – 2,0 мг FD – 2,5 мг FD
1 ч инфузия D1-D3
Концентрация плитидепсина в плазме [мкг/мл]
10
1
0.1
0.01
3x IC90 1,38 мкг/л
IC90 0,46 мкг/л
IC50 0,05 мкг/л
0
24
48
72
96
120
144
168
Время [ч]

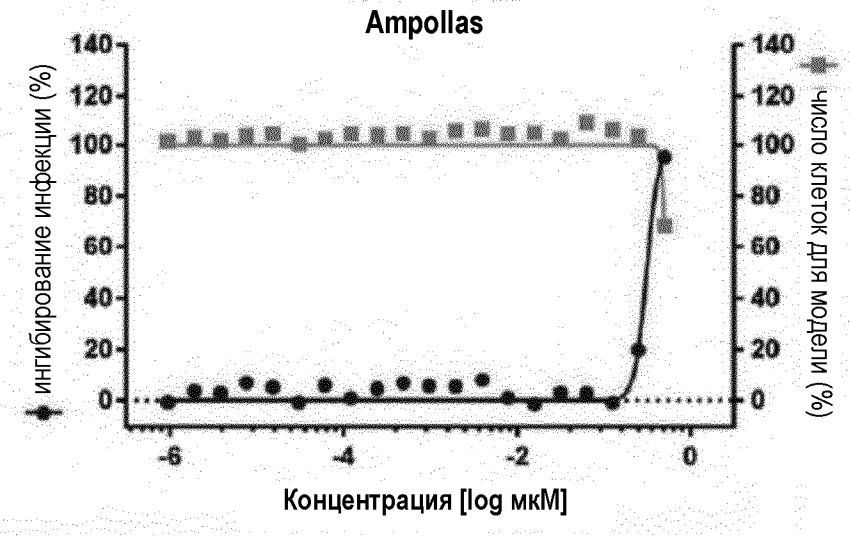
Фиг. 31



IC_{50} = 0,0033 мкМ; CC_{50} = 0,431 мкМ; SI = 129,12

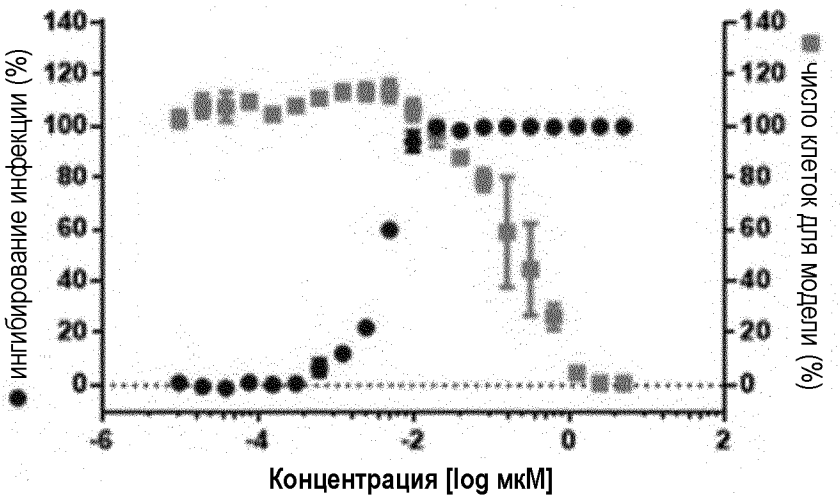


IC_{50} = 0,0031 мкМ; CC_{50} = 0,155 мкМ; SI = 50,79



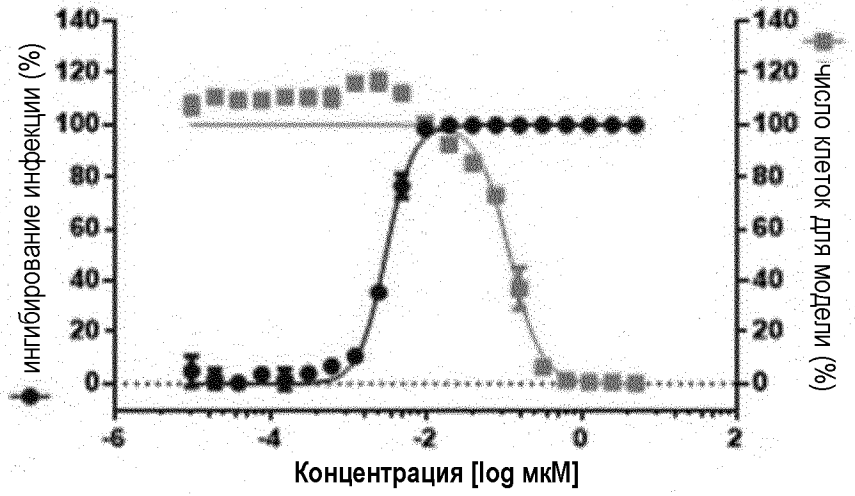
Фиг. 32A

Аплидин, растворенный в DMSO



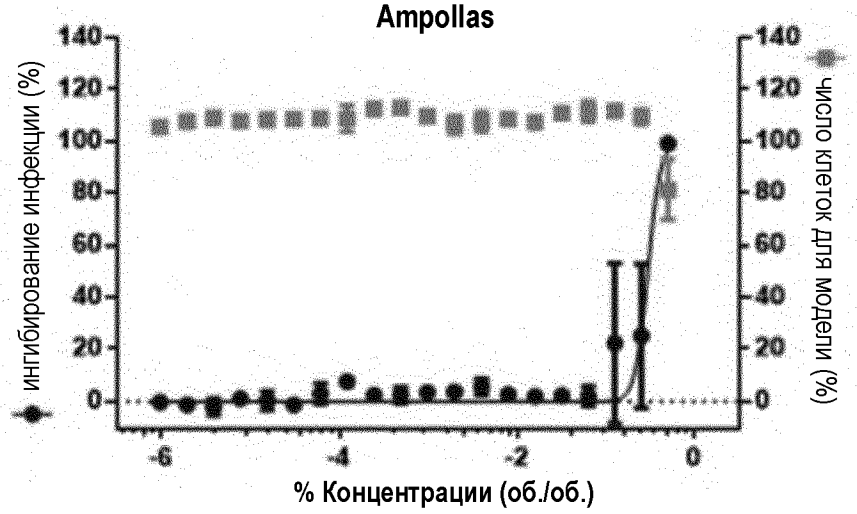
IC_{50} = 0,0039 мкМ; CC_{50} = 0,207 мкМ; SI = 52,72

Аплидин, растворенный в Ampollas

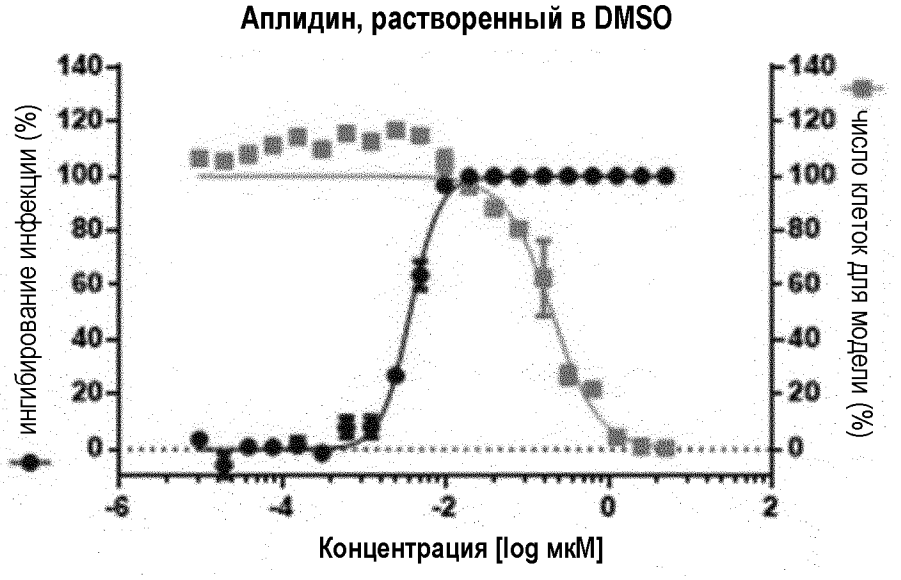


IC_{50} = 0,003 мкМ; CC_{50} = 0,103 мкМ; SI = 34,26

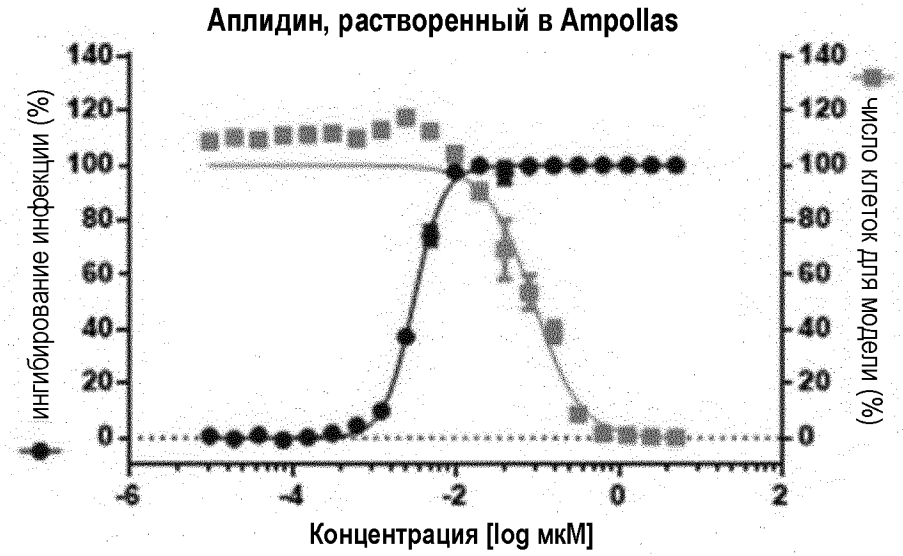
Ampollas



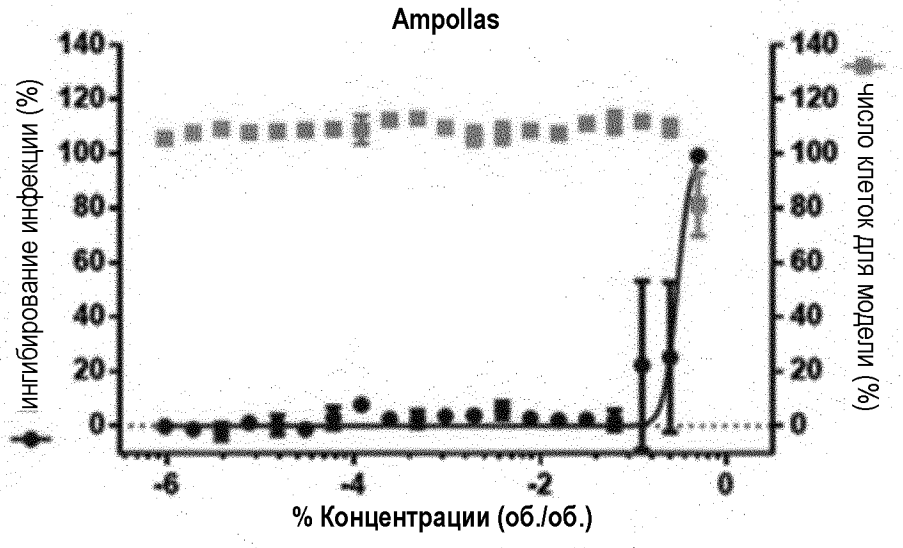
Фиг. 32B



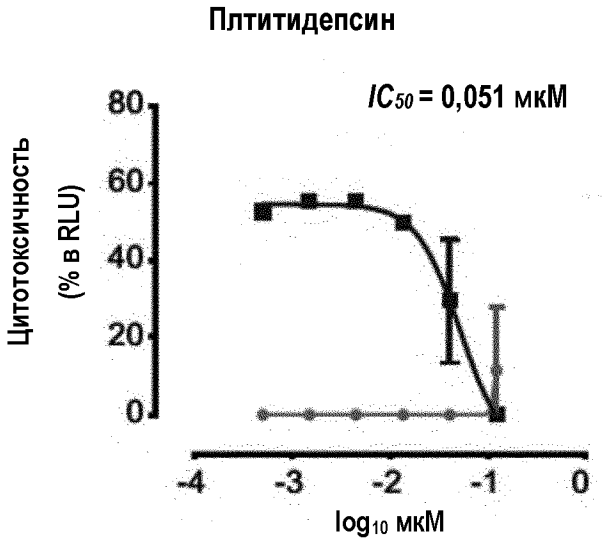
IC_{50} = 0,0036 мкМ; CC_{50} = 0,178 мкМ; SI = 49,95



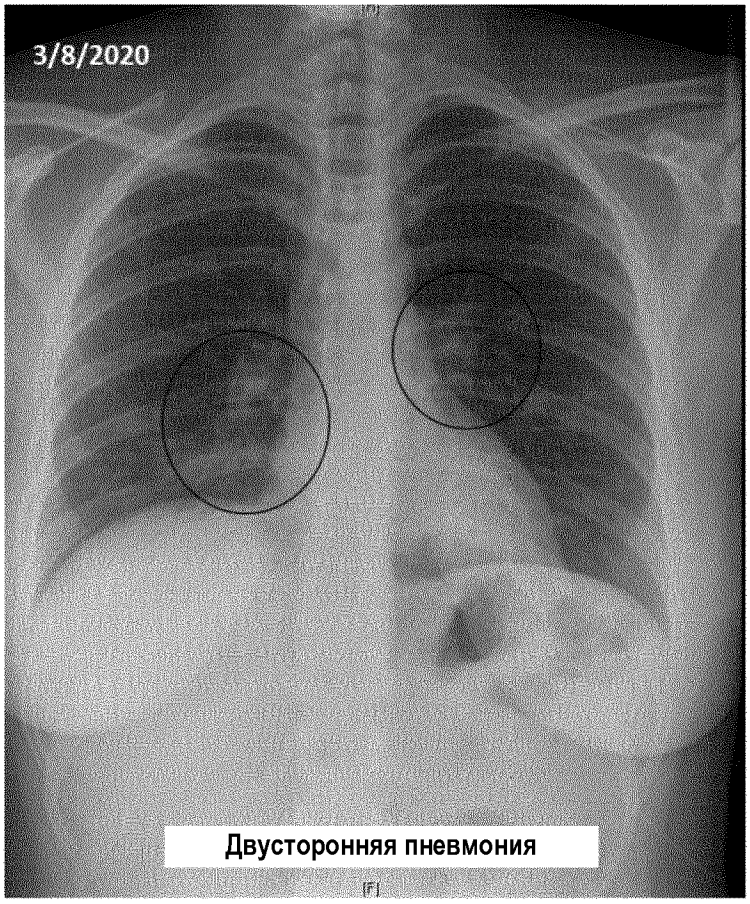
IC_{50} = 0,0030 мкМ; CC_{50} = 0,079 мкМ; SI = 26,14



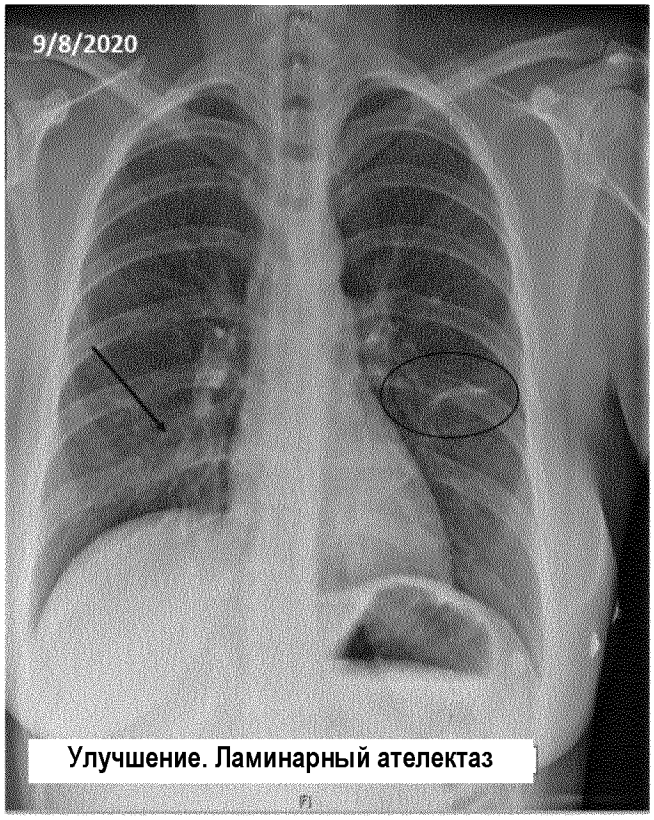
Фиг. 32C



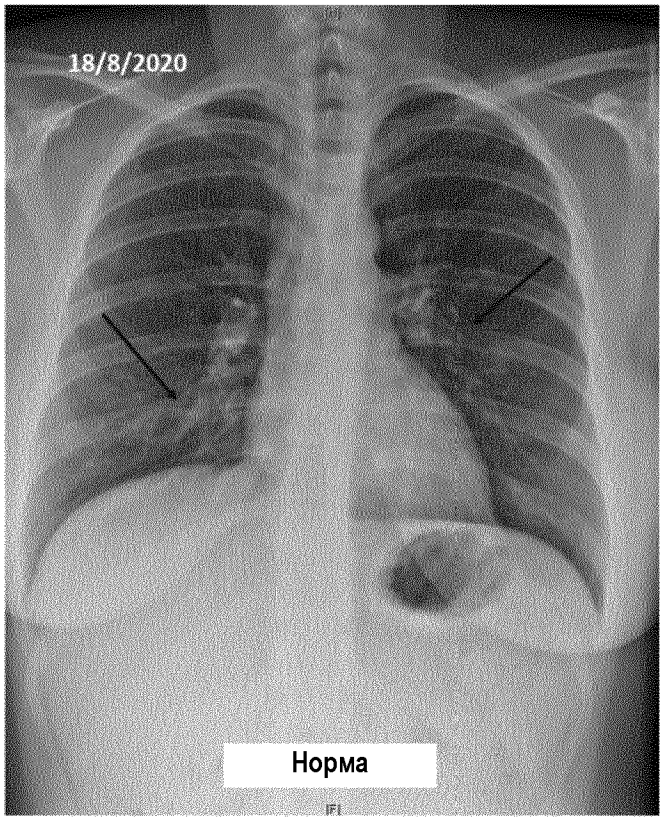
Фиг. 33



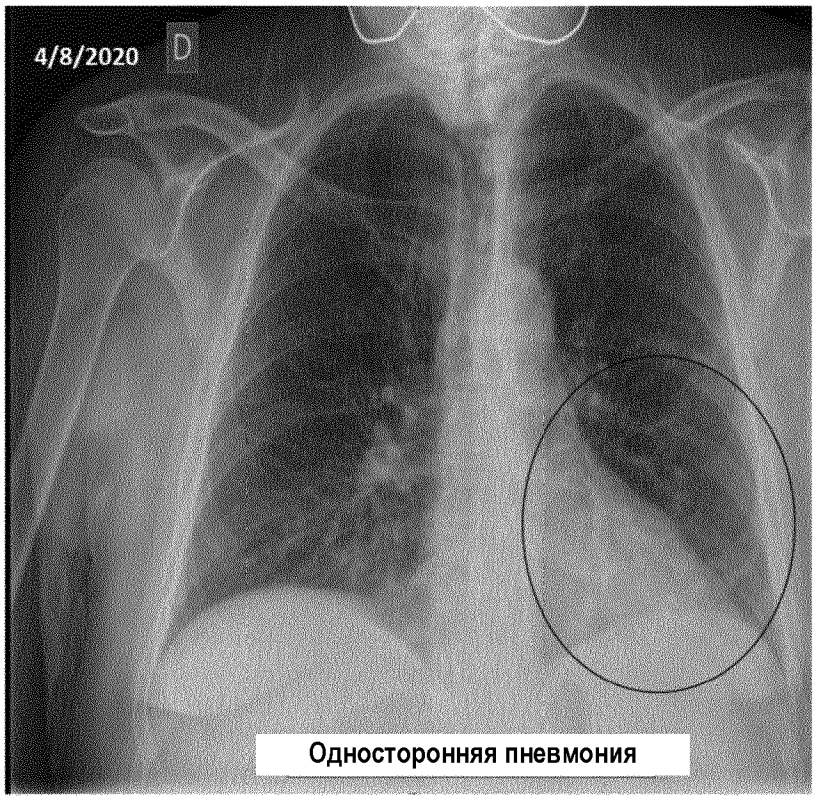
Фиг. 34a



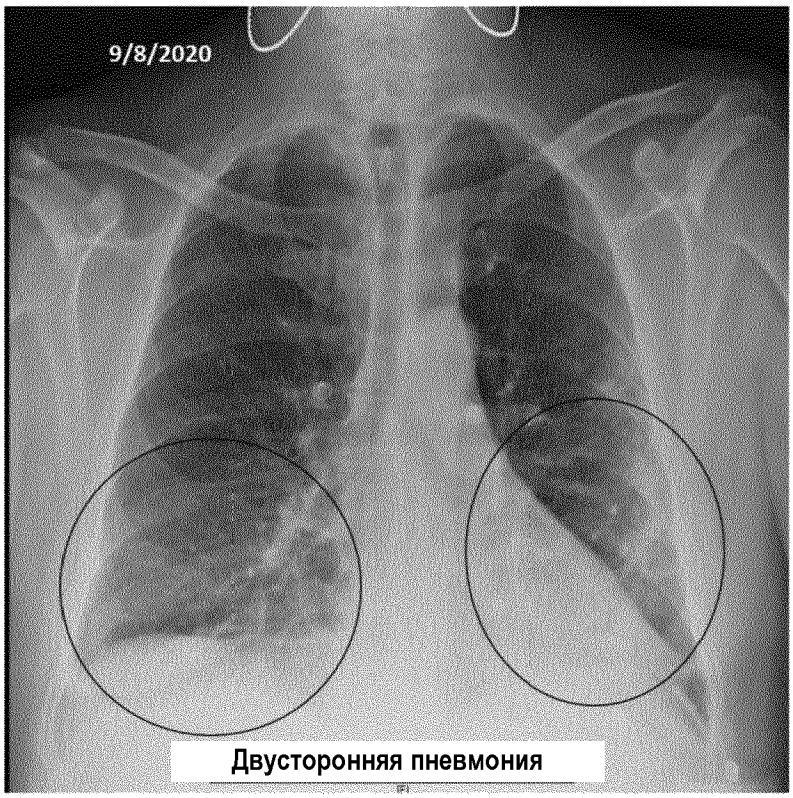
Фиг. 34b



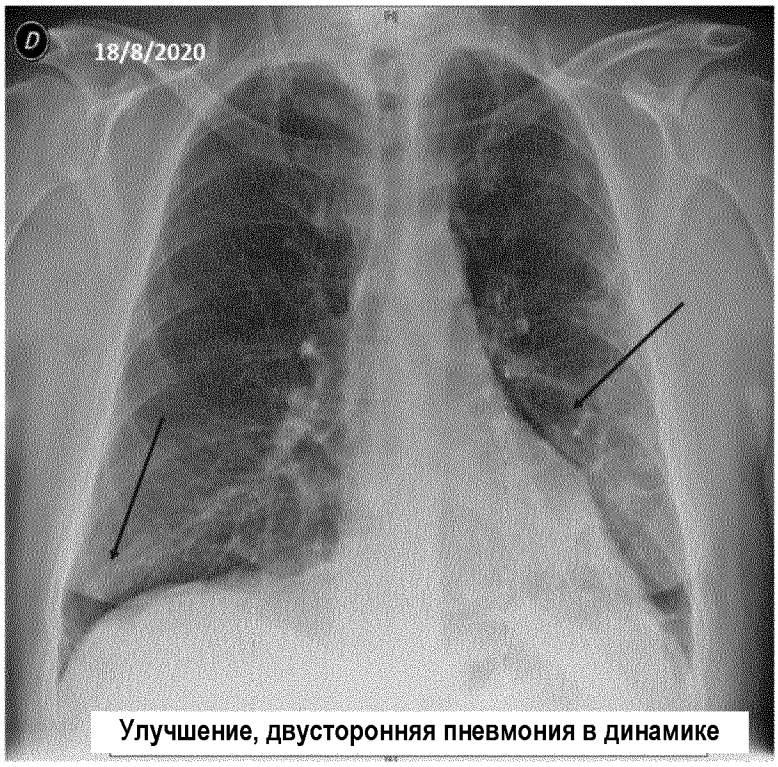
Фиг. 34c



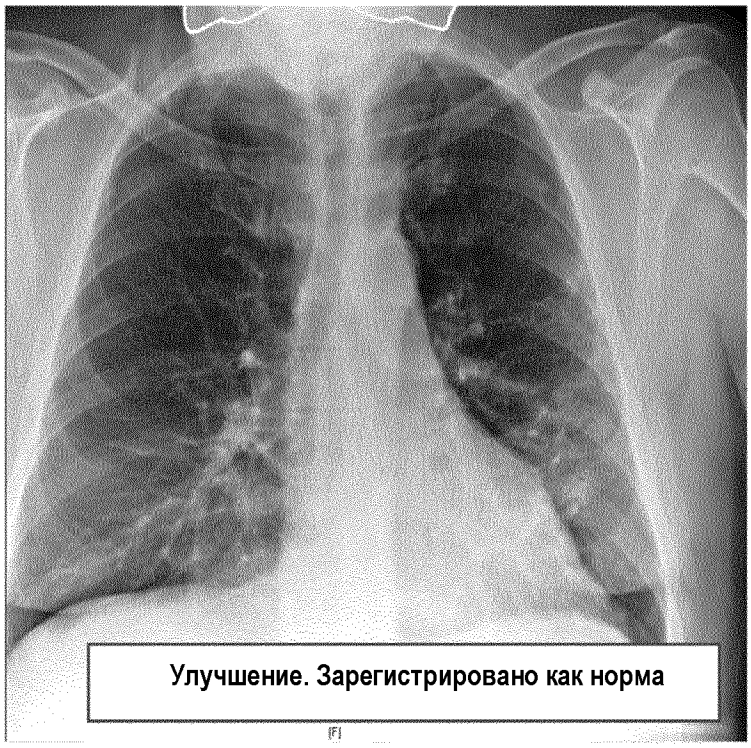
Фиг. 35a



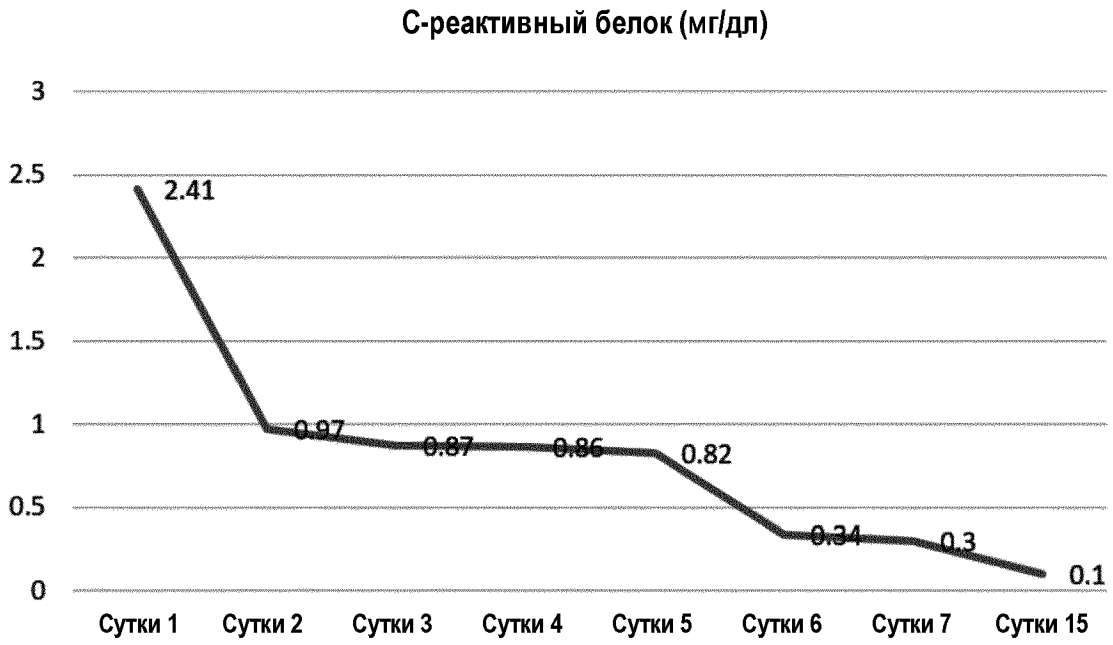
Фиг. 35b



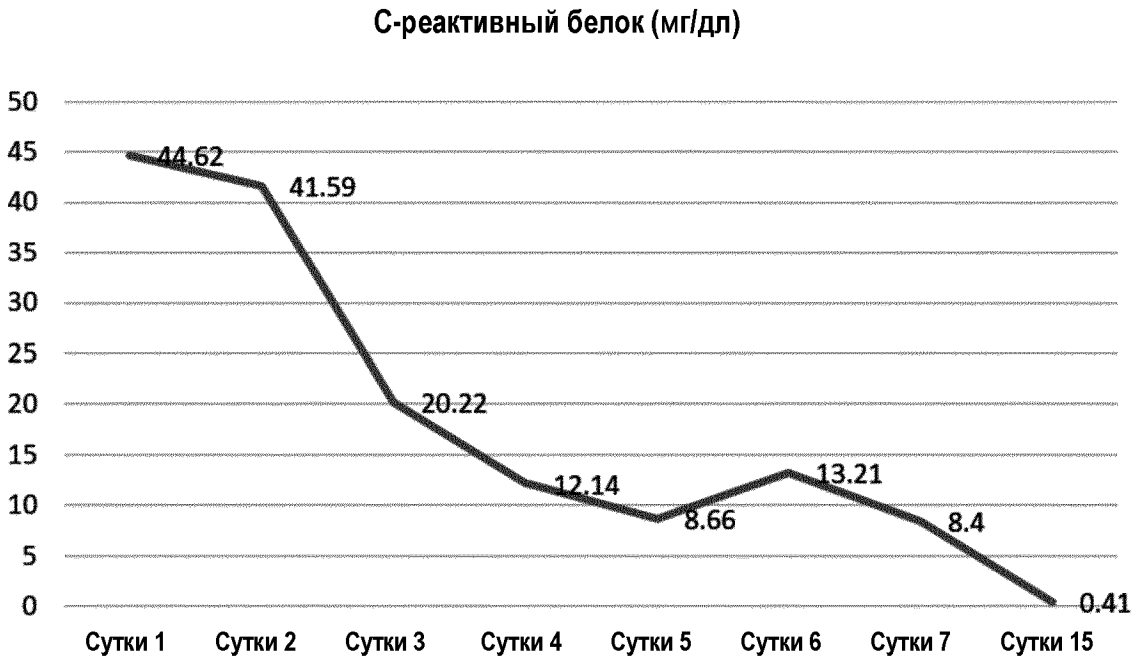
Фиг. 35c



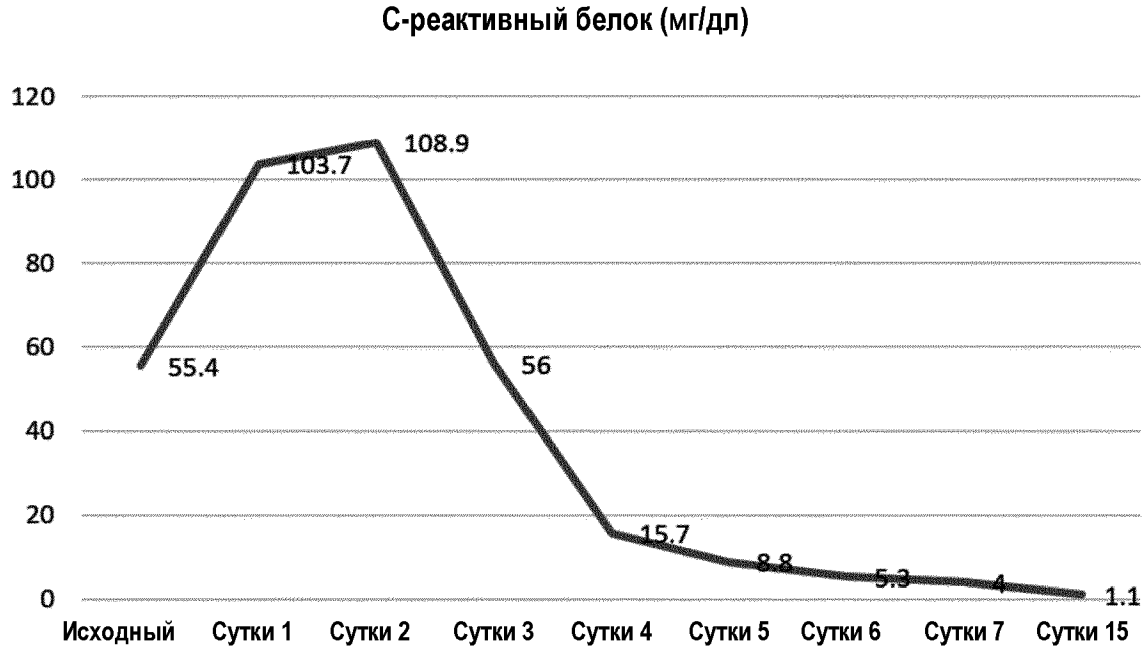
Фиг. 35d


С-реактивный белок (мг/дл)
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
2.41
0.97
0.87
0.86
0.82
0.34
0.3
0.1
Сутки 1
Сутки 2
Сутки 3
Сутки 4
Сутки 5
Сутки 6
Сутки 7
Сутки 15

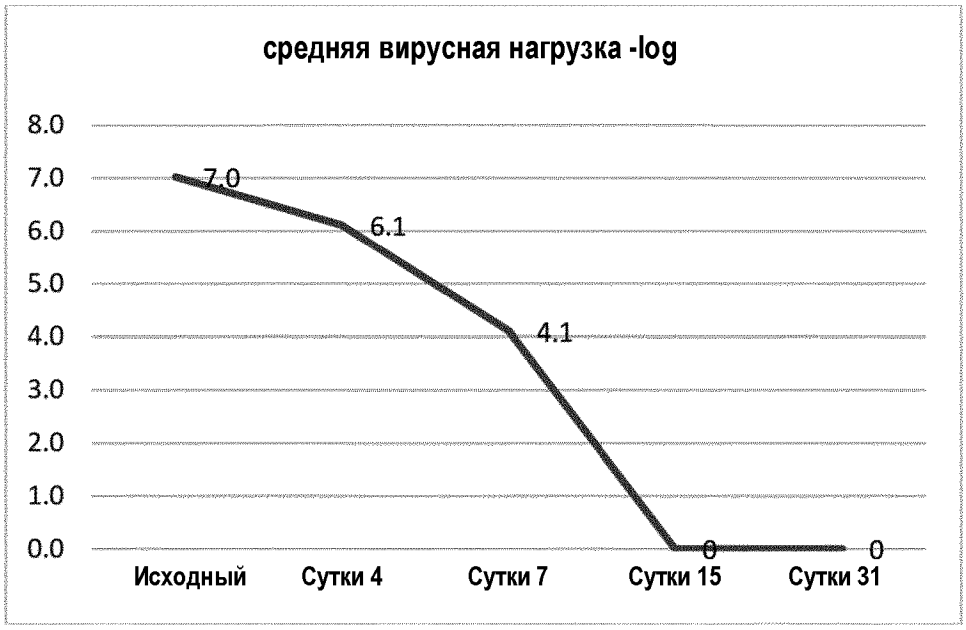
Фиг. 36а



Фиг. 36b



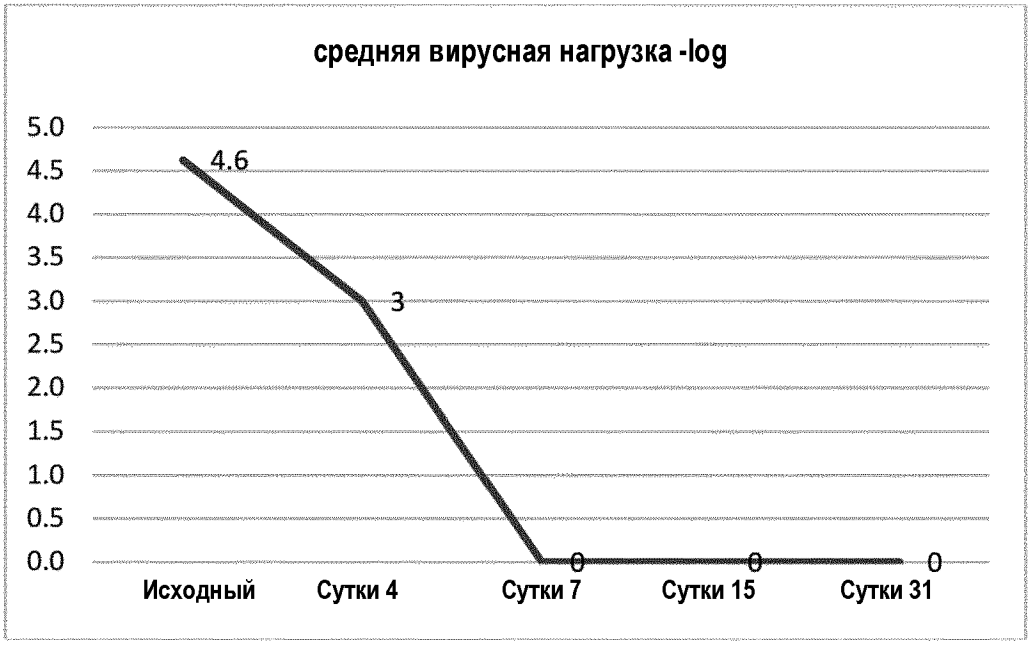
Фиг. 36c



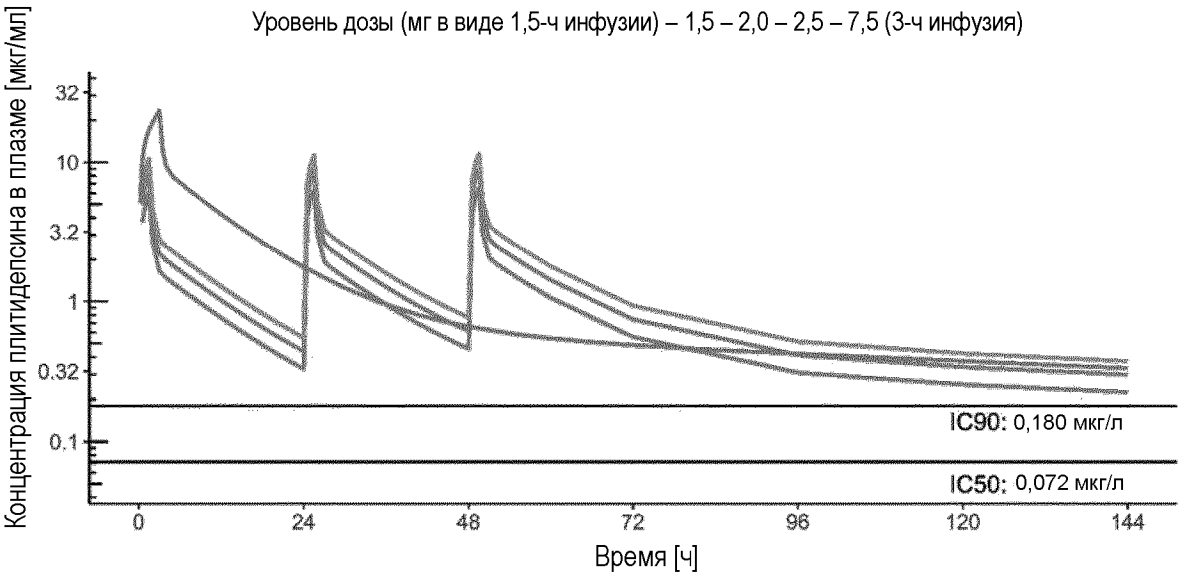
Фиг. 37a

Фиг. 37b

Фиг. 37c



Фиг. 37d


Уровень дозы (мг в виде 1,5-ч инфузии) – 1,5 – 2,0 – 2,5 – 7,5 (3-ч инфузия)
Концентрация плитидепсина в плазме [мкг/мл]
32
10
3.2
1
0.32
0.1
IC90: 0,180 мкг/л
IC50: 0,072 мкг/л
0
24
48
72
96
120
144
Время [ч]

Фиг. 38