

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202292250 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.12.07

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

(22) Дата подачи заявки
2021.03.02

(54) PLD ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В КОМБИНАЦИИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ КОРОНАВИРУСА

(31) 20382152.5; 20382192.1; 20382266.3;
20382339.8; 20382815.7; 20382821.5

(32) 2020.03.02; 2020.03.13; 2020.04.02;
2020.04.27; 2020.09.16; 2020.09.17

(33) EP

(86) PCT/EP2021/055131

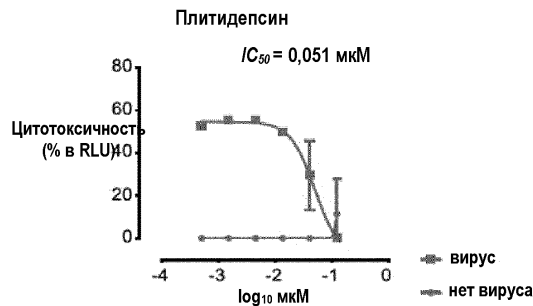
(87) WO 2021/175823 2021.09.10

(71) Заявитель:
ФАРМА МАР, С.А. (ES)

(72) Изобретатель:
Искиэрдо-Усерос Нурия, Вергара-
Алерт Хулия, Авилес Марин Пабло,
Фернандес Соуса-Фаро Хосе Мария,
Фудио Муньос Сальвадор, Лосада
Гонсалес Алехандро (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) Применение PLD (плитидепсина) с одним или более чем одним дополнительным противовирусным агентом против CoV в лечении коронавирусной (CoV) инфекции.



A1

202292250

202292250

A1

PLD ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В КОМБИНАЦИИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ КОРОНАВИРУСА ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к лечению коронавирусной инфекции с использованием комбинаций плитидепсина (PLD).

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 nsр1 до nsр16), 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 аксессуарных 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 SARS-CoV-2 могут вызывать тяжелые заболевания и смерть.

Заболевание, вызванное SARS-CoV-2, называют коронавирусной инфекцией 2019 или COVID-19.

Плителидепсин (PLD) представляет собой циклический депсипептид, первоначально выделенный из морских оболочников *Aplidium albicans*. PLD также известен как аплидин. PLD в настоящее время проходит проверку по доказательству концепции для оценки профиля безопасности PLD у пациентов с 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.

Большое количество агентов и различных схем тестируется на госпитализированных пациентах, чтобы определить подходящие стратегии лечения инфекции COVID-19. Однако на сегодняшний день не выявлено четких терапевтических стратегий. В то время как некоторые агенты продемонстрировали эффективность, другие свою эффективность не продемонстрировали или были непригодны по иным причинам. 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.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В одном аспекте настоящее изобретение относится к PLD или его фармацевтически приемлемым соли или стереоизомеру для применения в лечении коронавирусной (CoV) инфекции, где PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер используют в комбинации с одним или более чем одним дополнительным противовирусным агентом против CoV.

Неожиданно было обнаружено, что комбинации по настоящему изобретению сохраняют активность и делают это с приемлемой токсичностью.

В дополнительном аспекте предложен один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV для применения в лечении коронавирусной (CoV) инфекции, где один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV используют в комбинации с PLD или его фармацевтически приемлемыми солью или стереоизомером.

В дополнительном аспекте предложен способ лечения коронавирусной (CoV) инфекции, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом, комбинации PLD или его фармацевтически приемлемых соли или стереоизомера и одного или более чем одного дополнительного противовирусного агента против CoV.

В дополнительном аспекте предложено применение PLD или его фармацевтически приемлемых соли или стереоизомера в изготовлении лекарственного средства для лечения коронавирусной (CoV) инфекции, где при указанном лечении также вводят один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV.

В дополнительном аспекте предложено применение одного или более чем одного дополнительного противовирусного агента против CoV в изготовлении лекарственного средства для лечения коронавирусной (CoV) инфекции, где при указанном лечении также вводят PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер.

В дополнительном аспекте предложена комбинация PLD или его фармацевтически приемлемых соли или стереоизомера и одного или более чем одного дополнительного противовирусного агента против CoV.

В дополнительном аспекте предложена(ы) комбинация(и), содержащая(ие) PLD по настоящему изобретению, для применения в качестве лекарственного средства.

В дополнительном аспекте предложена(ы) комбинация(и), содержащая(ие) PLD по настоящему изобретению, для применения в лечении коронавирусной (CoV) инфекции.

В дополнительном аспекте предложена фармацевтическая композиция, содержащая фармацевтически приемлемый разбавитель и комбинацию, содержащую PLD по настоящему изобретению.

В дополнительном аспекте предложен набор, включающий комбинацию(и), содержащую(ие) PLD по настоящему изобретению; причем указанный набор возможно дополнительно включает инструкции по лечению пациента; причем указанные

инструкции возможно содержат инструкции по применению комбинаци(ий) по настоящему изобретению для применения в лечении коронавирусной (CoV) инфекции.

Коронавирусная (CoV) инфекция приводит к заболеванию COVID-19. Соответственно:

В дополнительном аспекте предложен PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер для применения в лечении COVID-19, где PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер используют в комбинации с одним или более чем одним дополнительным противовирусным агентом против CoV.

В дополнительном аспекте предложен один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV для применения в лечении COVID-19, где один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV используют в комбинации с PLD или его фармацевтически приемлемыми солью или стереоизомером.

В дополнительном аспекте предложен способ лечения COVID-19, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом, комбинации PLD или его фармацевтически приемлемых соли или стереоизомера и одного или более чем одного дополнительного противовирусного агента против CoV.

В дополнительном аспекте предложено применение PLD или его фармацевтически приемлемых соли или стереоизомера в изготовлении лекарственного средства для лечения COVID-19, где при указанном лечении также вводят один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV.

В дополнительном аспекте предложено применение одного или более чем одного дополнительного противовирусного агента против CoV в изготовлении лекарственного средства для лечения COVID-19, где при указанном лечении также вводят PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер.

В дополнительном аспекте предложена комбинация PLD или его фармацевтически приемлемых соли или стереоизомера и одного или более чем одного дополнительного противовирусного агента против CoV.

В дополнительном аспекте предложена(ы) комбинация(и), включающая(ие) PLD по настоящему изобретению, для применения в качестве лекарственного средства.

В дополнительном аспекте предложена(ы) комбинация(и), включающая(ие) PLD по настоящему изобретению, для применения в лечении COVID-19.

В дополнительном аспекте предложена фармацевтическая композиция, содержащая фармацевтически приемлемый разбавитель и комбинацию, включающую PLD по настоящему изобретению.

В дополнительном аспекте предложен набор, включающий комбинацию(и), содержащую(ие) PLD по настоящему изобретению; причем указанный набор возможно дополнительно включает инструкции по лечению пациента; причем указанные инструкции возможно содержат инструкции по применению комбинации(й) по настоящему изобретению для применения в лечении COVID-19.

Следующие воплощения применимы ко всем аспектам настоящего изобретения.

Один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV может быть выбран из агента, который ингибирует проникновение вируса, ингибирует слияние вируса с клеткой, ингибирует эндоцитоз или ингибирует репликацию вируса.

Один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV может быть выбран из ингибиторов кальпаина, катепсина, кальпаина/катепсина, ингибиторов РНК-полимеразы, ингибиторов клатрин-опосредованного эндоцитоза, ингибиторов протеазы ВИЧ-1, ингибиторов сериновых протеаз, ингибиторов TMPRSS2, IFN(интерферон)-стимулированных противовирусных белков, агонистов рецептора PPAR α (альфа-рецептор, активируемый пероксисомными пролифераторами), ингибиторов переносчика холестерина, ингибиторов транспорта внутриклеточного холестерина, ингибиторов пути биосинтеза ганглиозидов, агентов, снижающих уровень холестерина, глюкокортикоидов, агентов, которые ингибируют слияние вируса с мембранами клеток-хозяев, и ингибиторов JAK (Янус-киназа).

Один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV может быть выбран из ингибиторов кальпаина, катепсина или кальпаина/катепсина, ингибиторов РНК-полимеразы, ингибиторов клатрин-опосредованного эндоцитоза, ингибиторов протеазы ВИЧ-1, ингибиторов сериновых протеаз, ингибиторов TMPRSS2, IFN-стимулированных противовирусных белков и агонистов рецептора PPAR α .

Один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV может представлять собой ингибитор катепсина, ингибитор катепсина В, ингибитор катепсина L, ингибитор кальпаина, комбинированный ингибитор кальпаина и катепсина В, ингибитор пан-катепсина В/L; где агент предпочтительно может быть выбран из MDL28170, E64d или CA-074; предпочтительно MDL28170.

Один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV может представлять собой ингибитор РНК-полимеразы; где агент предпочтительно может быть выбран из ремдесивира и фавипиравира; предпочтительно ремдесивира.

Один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV может представлять собой ингибитор клатрин-опосредованного эндоцитоза; где агент предпочтительно может быть выбран из гидроксихлорохина, хлорохина, амантадина или хлорпромазина; предпочтительно гидроксихлорохина или хлорохина; более предпочтительно гидроксихлорохина.

Один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV может представлять собой ингибитор протеазы ВИЧ-1, где агент предпочтительно может быть выбран из гидрата мезилата нелфинавира, лопинавира, типранавира, ампренавира или дарунавира, предпочтительно гидрата мезилата нелфинавира.

Один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV может представлять собой ингибитор сериновых протеаз, где агент предпочтительно может быть выбран из камостата, бромгексина, апротинина или нафамостата, предпочтительно камостата.

Один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV может представлять собой ингибитор TMPRSS2; где агент предпочтительно может быть выбран из камостата, бромгексина, апротинина или нафамостата, предпочтительно камостата.

Один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV может представлять собой IFN-стимулированный противовирусный белок; где агент предпочтительно может быть выбран из интерферона альфа-2 или интерферона гамма.

Один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV может представлять собой агонист рецептора PPAR α ; где агент предпочтительно может представлять собой фенофибрат.

Один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV может представлять собой ингибитор переносчика холестерина для ингибирования транспорта внутриклеточного холестерина; где агент предпочтительно может представлять собой итраконазол.

Один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV может представлять собой ингибитор пути биосинтеза ганглиозидов; где агент предпочтительно может представлять собой NB-DNJ.

Один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV может представлять собой агент, снижающий уровень холестерина; где агент предпочтительно может представлять собой метил-бета-циклодекстрин.

Один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV может представлять собой глюкокортикоид; где агент предпочтительно может представлять собой циклесонид.

Один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV может представлять собой агент, который ингибирует слияние вируса с мембранами клеток-хозяев; где агент предпочтительно может представлять собой арбидол.

Один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV может представлять собой ингибитор JAK; где агент предпочтительно может представлять собой тофацитиниб.

PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер и один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV могут быть введены одновременно, последовательно или раздельно.

Молярное соотношение PLD или его фармацевтически приемлемых соли или стереоизомера и одного или более чем одного дополнительного противовирусного агента против CoV может составлять от 1:1000 до 1000:1, от 1:700 до 700:1, от 1:500 до 500:1, от 1:300 до 300:1, от 1:100 до 100:1 или от 1:50 до 50:1.

Соединение может представлять собой PLD.

Лечение коронавирусной (CoV) инфекции может быть использовано для уменьшения осложнений, связанных с коронавирусной инфекцией, включая госпитализацию, попадание в реанимационное отделение и смерть.

Лечение коронавирусной (CoV) инфекции может быть использовано в профилактике, купировании или лечении персистирующего COVID (также известного как долгий COVID или пост-COVID-синдром).

Лечение коронавирусной (CoV) инфекции может быть использовано в лечении пневмонии, вызванной COVID-19.

Лечение коронавирусной (CoV) инфекции может быть использовано для снижения инфекционности пациентов с CoV. Пациенты могут быть бессимптомными или еще малосимптомными пациентами.

Лечение коронавирусной (CoV) инфекции может быть использовано для уменьшения частоты возникновения суперконтагаторов (бессимптомные или малосимптомные пациенты с высокой вирусной нагрузкой (например TC менее 25)).

В дополнение к PLD или его фармацевтически приемлемым соли или стереоизомеру и одному или более чем одному дополнительному противовирусному агенту против CoV комбинации по настоящему изобретению могут дополнительно содержать кортикостероид. В этих воплощениях схема будет включать PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер, один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV и кортикостероид. Кортикостероид можно вводить одновременно, отдельно или последовательно с комбинациями по настоящему изобретению. Кортикостероид может представлять собой дексаметазон.

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 представлять 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.

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

PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер могут быть введены 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.

PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер могут быть введены 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.

PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер 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; 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.

PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер могут быть введены 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.

PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер могут быть введены 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) PLD или его фармацевтически приемлемых соли или стереоизомера. PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер могут быть введены 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. Дальнейшее добавление кортикостероидов (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.

Дополнительный кортикостероид можно вводить ежесуточно в те же сутки, что и введение PLD или его фармацевтически приемлемых соли или стереоизомера. 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 PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер по настоящему изобретению, и в более низкой дозе в последующие сутки. Кортикостероид может представлять собой дексаметазон.

PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер могут быть введены в дозе по настоящему изобретению на 1-3 сутки схемы приема. Дополнительный кортикостероид может быть введен внутривенно на 1-3 сутки схемы приема. После этого кортикостероид может быть введен 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 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.

PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер могут быть введены 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 включать 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 включать введение 7,5 мг плитидепсина в виде однократной 1,5-часовой инфузии на 1-е сутки.

PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер могут быть введены с использованием нагрузочной дозы и поддерживающей дозы.

PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер в качестве компонента схемы 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.

PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер могут быть введены в комбинации с дополнительным кортикостероидом. Кортикостероид может быть введен в те же сутки, что и введение PLD.

Кортикостероид также может быть введен в одни или более чем одни последующие сутки; например, когда кортикостероид вводят вместе с PLD 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 PLD, 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 PLD.

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.

PLD может быть введен 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) вместе с одним или более чем одним дополнительным противовирусным агентом против CoV.

PLD может быть введен 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) вместе с одним или более чем одним дополнительным противовирусным агентом против CoV.

PLD может быть введен 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) вместе с одним или более чем одним дополнительным противовирусным агентом против CoV.

Кортикостероид может быть введен за 20-30 минут до начала лечения PLD.

В схемах приема согласно настоящему изобретению пациент может дополнительно получать, предпочтительно за 20-30 минут до начала лечения PLD или его фармацевтически приемлемыми солью или стереоизомером, 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.

Когда PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер вводят в виде однократной дозы (то есть за одни сутки, а не как часть многодневной схемы приема) 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 PLD для облегчения тошноты и рвоты, вызванных лекарственными препаратами. Если PLD вводят утром, пациент может получить первую дозу ондансетрона во второй половине дня.

ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Изобретение дополнительно описано в следующих неограничивающих фигурах:

На Фиг. 1 показано цитопатическое действие на клетки Vero E6, подвергнутые воздействию фиксированной концентрации SARS-CoV-2, в присутствии возрастающих концентраций PLD.

На Фиг. 2 показано цитопатическое действие на клетки Vero E6, подвергнутые воздействию фиксированной концентрации SARS-CoV-2, в присутствии возрастающих концентраций PLD в сочетании с указанными соединениями, ингибирующими репликацию вируса (ремдесивир и нелфинавир) или проникновение вируса (гидроксихлорохин и MDL28170). При комбинировании каждое лекарственное средство добавляли в одинаковой концентрации. Лекарственные средства использовали в концентрации от 0,5 нМ до 10 мкМ. Показана нелинейная аппроксимация кривой переменного отклика из одного показательного эксперимента в двух повторностях (квадраты), за исключением данных о концентрациях лекарственного средства, связанных с токсичностью. Также показано цитотоксическое действие на клетки Vero E6, подвергнутые воздействию снижающихся концентраций лекарственных средств, в отсутствие вируса (кружки).

На Фиг. 3-6 показано цитопатическое действие на клетки Vero E6, подвергнутые воздействию фиксированной концентрации SARS-CoV-2, в присутствии возрастающих концентраций ремдесивира, гидроксихлорохина, MDL28170 и мезилата нелфинавира.

На Фиг. 7 и 8 показаны профили общей концентрации в плазме в зависимости от времени, предсказанные для режимов дозирования и введения согласно настоящему изобретению.

На Фиг. 9 показаны профили общей концентрации в плазме в зависимости от времени, предсказанные для дополнительных режимов дозирования и введения согласно настоящему изобретению.

На Фиг. 10 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, 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 используют 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» могут относиться к одному или более чем одному из следующего: (1) уменьшение числа инфицированных клеток; (2) снижение количества вирионов, присутствующих в сыворотке; (3) ингибирование (то есть до некоторой степени замедление, предпочтительно прекращение) скорости репликации CoV; и (4) облегчение или уменьшение до некоторой степени одного или более чем одного симптома, связанного с коронавирусной 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.

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

Лечение может уменьшить 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 до 4 недель); лечении (или минимизации) текущих симптомов COVID-19 (признаки и симптомы COVID-19 от 4 недель вплоть 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, продолжают 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 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 снижать вирусную нагрузку и, следовательно, снизить инфекционность пациента.

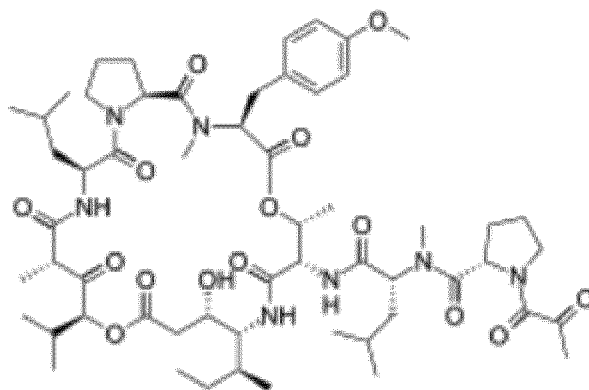
Лечение может привести к снижению вирусной нагрузки. Это может быть выражено в виде значения порогового цикла репликации (C_t), превышающего 30 (C_t более 30), на 6-е сутки после введения. Лечение может снизить вирусную нагрузку по сравнению с исходным уровнем. Это может быть выражено в виде снижения 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.

Плителидепсин (PLD) представляет собой циклический депсипептид, первоначально выделенный из морских оболочников *Aplidium albicans*. PLD также известен как аплидин. В предпочтительном воплощении настоящее изобретение относится к применению PLD.

Химическим названием PLD 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:



Человеческий фактор элонгации трансляции eEF1A является субъединицей комплекса элонгации трансляции 1 у эукариот (eEF1). Этот комплекс доставляет аминокислотированную 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 плитидепсином и eEF1A может снизить эффективность синтеза вирусного капсида *de novo* и, следовательно, вызвать 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 I κ B, ядерную транслокацию NF- κ B (ядерный фактор- κ B) и активацию пути NF- κ B. NF- κ B 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- κ B, 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 eIF2 α .

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.

Как упоминалось выше, в эукариотических клетках эксперименты FLIM-FRET показали, что плитидепсин локализуется достаточно близко к eEF1A, чтобы предположить образование комплексов лекарство-белок в цитоплазме. В отдельной серии экспериментов, проведенных с ¹⁴C-плитидепсином и очищенным eEF1A из мышцы кролика, показано, что плитидепсин связывает eEF1A с высоким средством 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 использовались 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 IC₅₀ 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 мышинной 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-В (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 проведены исследования как *in vitro*, так и *ex vivo* для оценки воздействия плитидепсина на иммунные клетки.

Исследования *in vitro* проводили с использованием клеток ТНР-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 ТНР-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.

Соответственно, PLD может быть использован для лечения 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, мышинный 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 назывался 2019-nCoV, и здесь такие термины могут быть использованы взаимозаменяемо.

В аспектах изобретения комбинации, как определено здесь, могут быть использованы в лечении COVID-19. COVID-19 является заболеванием, возникающим в результате инфицирования SARS-CoV-2. В аспектах изобретения комбинации, как определено здесь, благодаря своей противовирусной активности могут быть использованы для минимизации или предупреждения развития пневмонии, связанной с COVID-19.

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 *para*-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*-диалкиленэтанолamina, триэтанолamina и основных аминокислот.

Соединения по изобретению, включая PLD, 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.

Настоящее изобретение относится к комбинациям PLD с дополнительным агентом или агентами.

Комбинированная терапия может иметь преимущества перед монотерапией. Использование комбинированной терапии может предотвратить или свести к минимуму появление устойчивых к лекарственным средствам вирусов. Комбинированная терапия может усиливать противовирусную активность. Эти эффекты увеличивают шансы на улучшение клинического исхода. В воплощениях агенты могут быть выбраны для воздействия на отдельных этапах жизненного цикла вируса. В одном воплощении агент, который ингибирует проникновение вируса или слияние вируса с клеткой, может быть

объединен с агентом, который действует после проникновения вируса. Альтернативно, агенты могут воздействовать на одном и том же этапе, например агент(ы) в сочетании с PLD могут быть нацелены только на проникновение вируса или только на этап после проникновения.

В одном воплощении агент комбинации обладает противовоспалительными свойствами.

Под «агентом(ами) комбинации» подразумевают один или более чем один дополнительный агент, как определено здесь, используемый в комбинации с PLD.

Комбинации по настоящему изобретению относятся к противовирусному применению PLD, а не к показаниям к применению при онкологии, для которых PLD также одобрен.

Следующие агенты определены как агенты комбинации.

В одном аспекте агент комбинации ингибирует проникновение вируса или слияние вируса с клеткой. SARS-CoV-2 имеет два пути проникновения (1) с помощью слияния с цитоплазматической мембраной («ранний путь») или (2) с помощью эндоцитоза и клеточных катепсинов, которые затем расщепляют вирусный шиповидный белок, запуская путь слияния и высвобождая геном CoV («поздний путь») в цитоплазму клетки. В одном воплощении можно использовать более одного агента комбинации для блокирования как раннего, так и позднего путей.

Соответственно, в одном воплощении агент комбинации ингибирует слияние плазматических мембран между цитоплазматической мембраной клетки-хозяина и вирусом. Это предотвратит доставку вирусного генома внутрь клетки и возможное образование новых вирионов. Слияние оболочки коронавируса происходит после связывания рецептора вирусного S-белка, так что и оболочка вируса, и мембрана клетки-хозяина располагаются проксимально друг другу. Однако S-белок должен быть сначала расщеплен протеазами (примирован), чтобы стать способным к слиянию. В одном воплощении агент комбинации представляет собой ингибитор экзогенной или трансмембранной протеазы, более предпочтительно ингибитор сериновой протеазы или серпин. Предпочтительно, ингибитор протеазы предотвращает или уменьшает расщепление вирусного S-белка.

В одном воплощении агент комбинации выбран из любого из следующих: арбидол, апротинин, HAI-1, HAI-2, SFTI-1, ϵ -аминокапроновая кислота, 4-(2-аминоэтил)бензолсульфонилфторид, *пара*-аминобензамидин, камостат (например

мезилат камостата), нафамостат (например мезилат нафамостата), H-d-hTyr-Ala-4-Amba, BAPA, CVS-3983, IN-1, WX-UK1, месупрон, MI-432, MI-462, бромгексин, MI-1148, PF-429242, данопревир, симепревир, ломибувир, даклатасвир, телапревир, боцепревир, нарлапревир, трелаглиптин, алоглиптин, линаглиптин, ситаглиптин, саксаглиптин, вилдаглиптин, алвелестат и габексат.

В другом воплощении агент комбинации представляет собой ингибитор трансмембранной сериновой протеазы II типа (TTSP). TTSP может представлять собой растворимую протеазу, такую как TMPRSS11a. В другом воплощении агент комбинации представляет собой ингибитор TMPRSS2. В предпочтительном воплощении агент представляет собой камостат (мезилат), бромгексин (гидрохлорид), апротинин или нафамостат.

В другом предпочтительном воплощении агент комбинации представляет собой камостат. В другом воплощении агент комбинации представляет собой арбидол.

Слияние мембран также зависит от содержания липидов в вирусной оболочке и/или клеточной мембране хозяина. В другом воплощении агент комбинации может выводить холестерин из цитоплазматической мембраны и/или нарушать образование липидных рафтов. Соответственно, в одном воплощении агент комбинации представляет собой агент, снижающий уровень холестерина. Нарушение формирования рафта, в частности, может предотвратить стыковку вируса и проникновение его в клетку. В одном воплощении агент выбран из любого из следующих: флувастатин, аторвастатин, ловастатин, правастатин, симвастатин, гемфиброзил, метил-*бета*-циклодекстрин, *бета*-циклодекстрин, RAMEB, DIMEB, HP β CD и TRIMEB. В предпочтительном воплощении агент представляет собой метил-*бета*-циклодекстрин, который выводит холестерин из цитоплазматической мембраны и нарушает формирование липидных рафтов, которые могут содержать стыковочный мембранный белок SARS-CoV-2, ACE2.

В другом воплощении агент комбинации может ингибировать переносчик холестерина для ингибирования транспорта внутриклеточного холестерина. В предпочтительном воплощении агент представляет собой итраконазол.

В другом воплощении агент комбинации может предотвращать или ингибировать биосинтез ганглиозидов для предотвращения связывания вируса. В одном воплощении агент комбинации представляет собой ингибитор пути биосинтеза ганглиозидов. Ингибиторы пути биосинтеза ганглиозидов ингибируют ферменты (такие как серин-пальмитоилтрансфераза, сфингомиелинсинтаза и церамидсинтаза), которые опосредуют

биосинтез сфинголипидов, что приводит к снижению инфекционности вирусов. В одном воплощении агент выбран из любого из следующих: ISP-1, мириоцин, NA255, D609, SPK-601, MS-209, N-бутилдезоксинаоимицин (NB-DNJ) и D,L-трео-1-фенил-2-деcanoиламино-3-морфолино-1-пропанол (PDMP). В предпочтительном воплощении агент представляет собой NB-DNJ, который является ингибитором пути биосинтеза ганглиозидов GM1.

В другом воплощении агент комбинации ингибирует эндоцитоз и более предпочтительно клатрин-опосредованный эндоцитоз. В одном воплощении агент комбинации представляет собой ингибитор клатрин-опосредованного эндоцитоза. Ингибиторы клатрин-опосредованного эндоцитоза вмешиваются в процесс клатрин-опосредованного эндоцитоза несколькими способами. Например, агент может переносить клатрин и адапторный белок 2 (AP2) с клеточной поверхности во внутриклеточные эндосомы; блокировать проникновение вирионов в структуры окаймленных ямок; влиять на функцию окаймленных клатрином пузырьков (например, повышая pH эндосом и тем самым препятствуя процессу слияния вирусов); влиять на образование окаймленных клатрином пузырьков; препятствовать протонному градиенту; блокировать ГТФазную активность динамина (например динамина I); препятствовать связыванию лигандов клатринового бокса с N-концевым доменом клатрина (тем самым останавливая динамику окаймленных клатрином ямок и, следовательно, препятствуя клатрин-опосредованному эндоцитозу).

В одном воплощении агент комбинации выбран из любого из следующих: хлорпромазин, монодансилкадаварин, амантадин, римантадин, фениларсиноксид, гидроксихлорохин, хлорохин, монензин, фенотиазины, диназор, динолы, динго (dyngoes) и питстопы (pitstops) (например питстоп 1 и 2). В предпочтительном воплощении агент представляет собой гидроксихлорохин, хлорохин, амантадин или хлорпромазин. В другом предпочтительном воплощении агент комбинации представляет собой гидроксихлорохин, или хлорохин, или производное хлорохина, которое повышает pH эндосом и препятствует процессу слияния вирусов. В другом предпочтительном воплощении агент комбинации представляет собой гидроксихлорохин.

В одном воплощении агент комбинации снижает проникновение вируса путем воздействия на AP2-ассоциированную протеинкиназу 1 (AAK1), ключевой регулятор клатрин-опосредованного эндоцитоза в эпителиальных клетках. Было показано, что

ингибирование ААК1 снижает вирусную инфекцию. Известные ингибиторы ААК1 включают ингибиторы JAK. Соответственно, в одном воплощении агент комбинации представляет собой ингибитор JAK. В другом воплощении агент комбинации выбран из любого из следующих: тофацитиниб, СУТ387, барицитиниб, руксолитиниб, TG101348, лестауртиниб, AZD1480, R348, VX-509, GLPG0634, GSK2586184, AC-430, пакритиниб и BMS-911543. В предпочтительном воплощении агент представляет собой тофацитиниб, который обладает особенно сильным сродством к ААК1.

В другом воплощении агент комбинации представляет собой ингибитор протеаз и, более предпочтительно, ингибитор цистеиновых протеаз. Ингибитор протеаз препятствует протеолитическому процессингу вирусов, особенно S-белка, во время проникновения в клетки-хозяева. В предпочтительном воплощении протеаза представляет собой эндосомальную протеазу и, в частности, предпочтительно эндосомальную протеазу, которая активируется низким pH эндосомальной среды. Более предпочтительно агент комбинации представляет собой ингибитор катепсина. Альтернативно, ингибитор представляет собой ингибитор кальпаина.

В одном воплощении агент комбинации представляет собой ингибитор катепсина, ингибитор катепсина В, ингибитор катепсина L, ингибитор кальпаина, комбинированный ингибитор кальпаина и катепсина В, ингибитор пан-катепсина В/L. В другом воплощении агент выбран из любого из следующих: оданакатиб, ингибитор катепсина 1, E64, E64d (алоксистатин), MG-132, PD151746, лейпептин, Z-FA-FMK, локсистатиновая кислота, CA-074, MDL28170, симепревир, боцепревир, нарлапревир, MG-132, кальпептин, MDL28170 (ингибитор кальпаина III), ингибитор кальпаина VI, ингибитор кальпаина I, MG-115, ингибитор кальпаина II, ингибитор кальпаина XII, PSI, GC-376 и рупинтривир. В предпочтительном воплощении агент представляет собой MDL28170 (который представляет собой комбинированный ингибитор кальпаина и катепсина В), E64d (который представляет собой ингибитор пан-катепсина В/L, действующий далее по ходу процесса, как только вирусы интернализируются в эндосомы) или CA-074 (который представляет собой ингибитор катепсина В). В предпочтительном воплощении агент комбинации представляет собой MDL28170.

После проникновения вируса вирусная РНК высвобождается в цитоплазму, где ее геном транслируется и расщепляется с образованием новых вирионов. Соответственно, в другом аспекте агент комбинации ингибирует этапы вирусной инфекции, такие как репликация вируса, которые происходят после проникновения вируса в клетку.

В одном воплощении агент комбинации представляет собой ингибитор РНК-полимеразы. Ингибиторы РНК-полимеразы предотвращают репликацию вирусного генома. Некоторые ингибиторы РНК-полимеразы могут действовать в качестве пролекарств и фосфорилироваться *in vivo*. Эти ингибиторы РНК-полимеразы (или их фосфорилированные аналоги) действуют как конкурентные, неконкурентные, бесконкурентные или суицидные ингибиторы РНК-полимеразы. В одном воплощении агент выбран из любого из следующих: софосбувир, софосбувир плюс рибавирин, софосбувир плюс рибавирин плюс PegIFN α , софосбувир плюс ледипасвир (Харвони), софосбувир плюс симепревивр, софосбувир плюс даклатавир, омбитасвир плюс дасабувир плюс паритапревивр плюс ритонавир (Викейра Пак), дасабувир, рибавирин, фавипиравир, ремдесивир, беклабувир, делеобувир, филибувир, радальбувир и сетробувир. В предпочтительном воплощении агент комбинации представляет собой ремдесивир или фавипиравир. В другом предпочтительном воплощении агент представляет собой ремдесивир.

В одном воплощении агент комбинации представляет собой ингибитор протеазы ВИЧ-1. Ингибиторы протеазы ВИЧ-1 препятствуют расщеплению полипротеина-предшественника Gag и Gag-Pol, кодируемого геномом вируса ВИЧ-1. Это вмешательство ограничивает созревание вируса, предотвращая продукцию зрелых активных белков, таких как протеаза, обратная транскриптаза (p51), РНКазы Н (p15) и интегразы. В одном воплощении агент комбинации выбран из любого из следующих: типранавир, дарунавир, дарунавир плюс кобицистат, ампренавир, фосампренавир, лопинавир, лопинавир-ритонавир, атазанавир, атазанавир плюс кобицистат, саквинавир, индинавир, ритонавир, нелфинавир (например гидрат мезилата нелфинавира), SPI-256 и GS 8374. В предпочтительном воплощении агент представляет собой гидрат мезилата нелфинавира, лопинавир, типранавир, ампренавир или дарунавир. В другом предпочтительном воплощении агент комбинации представляет собой гидрат мезилата нелфинавира.

В одном воплощении агент комбинации представляет собой стимулированный IFN противовирусный белок. IFN представляют собой мультигенное семейство индуцибельных цитокинов и обладают противовирусной активностью. IFN подразделяются на два типа: IFN типа I (также известные как вирусные IFN), которые включают IFN- α (лейкоцитарный), IFN- β (фибробластный) и IFN- ω ; и IFN типа II (также известный как иммунный IFN или IFN- γ). IFN нацелены на IFN-индуцированные белки

в отдельных клетках, такие как киназа PKR, которая ингибирует инициацию трансляции посредством фосфорилирования фактора инициации синтеза белка eIF-2 α ; семейство OAS-синтетаз и нуклеаза (РНКаза L), которые опосредуют деградацию РНК; белки Mx семейства ГТФаз, которые, по-видимому, нацелены на вирусные нуклеокапсиды и ингибируют синтез РНК; и ADAR (аденозиндезаминаза, действующая на РНК), которая редактирует двухцепочечную РНК путем дезаминирования аденозина с образованием инозина. IFN-индуцированная экспрессия антигенов МНС класса I и класса II и синтазы оксида азота также вносит вклад в противовирусные ответы, наблюдаемые у интактных животных. В одном воплощении агент представляет собой IFN- α , такой как IFN- α 2a (роферон-А), IFN- α 2b (интрон А), консенсусный IFN- α cop (инферген), IFN- α n3, полученный из лейкоцитов человека (алферон N), человеческий лимфобластоидный интерферон IFN- α n1 (веллферон), Peg-IFN- α 2a (пегасис) и Peg-IFN- α 2b (пегинтрон); IFN- β , такой как Авонекс и Бетасерон; и IFN- γ , такой как активимун. В предпочтительном воплощении агент комбинации представляет собой интерферон 2-альфа или интерферон гамма.

В одном воплощении агент комбинации представляет собой агонист TLR-7, предпочтительно везатолимод.

В одном воплощении агент комбинации представляет собой агонист рецептора PPAR α . Агонисты рецепторов PPAR α проявляют противовирусные, а также противовоспалительные свойства. В одном воплощении агент комбинации выбран из любого из следующих: гемфиброзил, клофибрат, WY14643, олеилэтаноламид, пальмитоилэтаноламид, фенофибрат, безафибрат и пемафибрат. В предпочтительном воплощении агент представляет собой фенофибрат.

В одном воплощении агент комбинации ингибирует активность комплекса репликации коронавируса. В одном воплощении агент комбинации ингибирует вирусную протеазу M^{pro}, также известную как 3C-подобная протеаза (3CL^{pro}). В одном воплощении протеаза ингибируется ингибитором кальпаина.

В одном воплощении агент комбинации представляет собой глюкокортикоид. Было показано, что глюкокортикоиды ингибируют репликацию вируса SARS-CoV-2. В одном воплощении агент комбинации выбран из любого из следующих: параметазон, преднилиден, триамцинолон, медризон, амцинонид, фторметолон, беклометазон (например дипропионат беклометазона), бетаметазон (например фосфат бетаметазона), преднизон (например ацетат преднизона), римексолон, клобетазол (например пропионат

клобетазола), флуоцинонид, циклесонид, флупредниден (например ацетат флупреднидена), флуокортолон, дифлуокортолон, дексаметазон (например изоникотинат дексаметазона), флутиказон (например фуроат флутиказона), мепреднизон, дефлазакорт, кортивазол, клопреднол, мометазон (например фуроат мометазона), кортизон (например ацетат кортизона), преднизолон (например фосфат преднизолона, гемисукцинат преднизолона), метилпреднизолон (например гемисукцинат метилпреднизолона), клокортолон (например ацетат клокортолона), меленгестрол (например ацетат меленгестрола) и галометазон. В предпочтительном воплощении агент комбинации представляет собой циклесонид. Во избежание сомнений согласно настоящему изобретению допускается дополнительное введение кортикостероида (предпочтительно дексаметазона) в дополнение к агентам комбинации по настоящему изобретению. Если агент комбинации представляет собой глюкокортикоид (например циклесонид), также может быть введен дополнительный кортикостероид (предпочтительно дексаметазон), как определено здесь.

В одном воплощении агент комбинации представляет собой агент, который ингибирует репликацию вируса.

В одном воплощении агент комбинации представляет собой агент, который ингибирует проникновение вируса.

В предпочтительном воплощении PLD комбинируют с одним или более чем одним дополнительным агентом, выбранным из агента(ов), которые ингибируют проникновение вируса, ингибируют слияние вируса с клеткой, ингибируют эндоцитоз или ингибируют репликацию вируса. В частности, PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер используют в комбинации с одним или более чем одним дополнительным противовирусным агентом против CoV, выбранным из ингибиторов кальпаина, катепсина, кальпаина/катепсина, ингибиторов РНК-полимеразы, ингибиторов клатрин-опосредованного эндоцитоза, ингибиторов протеазы ВИЧ-1, ингибиторов сериновых протеаз, ингибиторов TMPRSS2, стимулированных IFN противовирусных белков, агонистов рецептора PPAR α , ингибиторов переносчика холестерина, ингибиторов транспорта внутриклеточного холестерина, ингибиторов пути биосинтеза ганглиозидов, агентов, снижающих уровень холестерина, глюкокортикоидов, агентов, которые ингибируют слияние вируса с мембранами клеток-хозяев, и ингибиторов JAK.

В другом предпочтительном воплощении PLD комбинируют с одним или более чем одним дополнительным агентом, выбранным из ингибиторов кальпаина, катепсина или кальпаина/катепсина, ингибиторов РНК-полимеразы, ингибиторов клатрин-опосредованного эндоцитоза, ингибиторов протеазы ВИЧ-1, ингибиторов сериновых протеаз, ингибиторов TMPRSS2, IFN-стимулированных противовирусных белков и агонистов рецептора PPAR α . Конкретные агенты могут включать MDL28170, ремдесивир, гидроксихлорохин, гидрат мезилата нелфинавира, хлорохин, интерферон 2 α , интерферон- γ и фенофибрат.

В предпочтительном воплощении комбинации по настоящему изобретению молярное соотношение PLD или его фармацевтически приемлемых соли или стереоизомера и дополнительного агента в указанной комбинации составляет от 1:1000 до 1000:1 или от 1:700 до 700:1, от 1:500 до 500:1, от 1:300 до 300:1, от 1:100 до 100:1 или от 1:50 до 50:1.

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, адьюванту, эксципиенту или наполнителю, 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 для PLD 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.

Типичная композиция для других активных агентов в комбинации (то есть не PLD) будет зависеть от рассматриваемого активного агента.

В воплощениях предложен набор, включающий комбинацию, содержащую PLD по настоящему изобретению и, возможно, инструкции по лечению пациента. Обычно набор может включать PLD или его фармацевтически приемлемую соль или стереоизомер и дополнительный(ые) агент(ы) комбинации вместе с инструкциями по лечению пациента. Каждый активный агент может быть представлен в подходящем контейнере. Набор может дополнительно включать систему доставки. Набор может включать PLD вместе с инструкциями по комбинированному применению с дополнительным агентом или агентами по настоящему изобретению. Набор может включать дополнительный агент или агенты по настоящему изобретению вместе с инструкциями по комбинированному применению с PLD.

В инструкциях может быть рекомендовано введение PLD по настоящему изобретению в комбинации с дополнительным агентом по настоящему изобретению для лечения инфекции CoV или COVID-19. В наборе может быть указано, что комбинации следует вводить одновременно, последовательно или отдельно.

Конкретная комбинация может быть выбрана на основании множества факторов, включая активность конкретных используемых соединений, конкретные используемые препараты, способ применения, возраст, массу тела, общее состояние здоровья, пол, режим питания, время введения, скорость выведения, комбинацию лекарственных средств, аллергические реакции, выявленную или потенциальную резистентность и тяжесть конкретного заболевания или состояния, подвергаемого лечению.

Комбинации по настоящему изобретению могут быть адаптированы для одновременного, последовательного или отдельного введения.

Конкретная дозировка и схема лечения для любого конкретного агента могут варьироваться, а также будут зависеть от множества факторов, включая активность конкретных используемых соединений, конкретные используемые препараты, способ применения, возраст, массу тела, общее состояние здоровья, пол, режим питания, время введения, скорость выведения, комбинацию лекарственных средств, аллергические

реакции, выявленную или потенциальную резистентность и тяжесть конкретного заболевания или состояния, подвергаемого лечению.

В воплощениях изобретения режим дозирования агента(ов) комбинации (то есть агента(ов), отличного(ых) от PLD) будет применяться согласно соответствующему режиму дозирования для этого агента.

В воплощениях изобретения PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер могут быть введены в соответствии с режимом дозирования суточной дозы.

В воплощениях изобретения PLD или его фармацевтически приемлемая соль или стереоизомер могут быть введены в соответствии с режимом дозирования один раз в сутки.

В дополнительных воплощениях PLD или его фармацевтически приемлемая соль или стереоизомер 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 PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер 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 PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер 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 PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер 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 PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер 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 PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер 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 PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер 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 PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер 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 PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер могут быть введены в соответствии с режимом дозирования один раз в сутки в течение 3 суток в дозе 2 мг в сутки.

В другом воплощении PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер 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 PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер 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 PLD или его фармацевтически приемлемых соли или стереоизомера 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 PLD 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 PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер могут быть введены в соответствии с настоящим изобретением, при этом соединения по настоящему изобретению вводят с дополнительным кортикостероидом. Предпочтительно кортикостероид представляет собой дексаметазон.

Кортикостероид можно вводить ежедневно вместе с PLD или его фармацевтически приемлемой солью или стереоизомером. Введение может быть поочередным, одновременным или последовательным. Кортикостероид можно дополнительно вводить в дни после введения PLD или его фармацевтически приемлемых соли или стереоизомера. 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 PLD или его фармацевтически приемлемыми солью или стереоизомером и снижена в последующие сутки.

Конкретные схемы дозирования компонента PLD в комбинации включают:

- PLD 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).

- PLD 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 и по 10-е сутки (согласно заключению врача в соответствии с клиническим состоянием пациента и дальнейшим развитием клинической картины).

- PLD 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 и 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 PLD или его фармацевтически приемлемых соли или стереоизомера:

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

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

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

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

Схема однократного дозирования компонента PLD в комбинации включает:

• PLD, 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 PLD:

- 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 PLD 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 PLD на основании клинических параметров и/или характеристик пациента. Подходящими параметрами могут являться измерения, раскрытые в настоящей заявке.

Как указано выше, схемы дозирования агента(ов) комбинации (то есть агента(ов), отличного(ых) от PLD) будет применяться согласно соответствующей схеме дозирования для этого агента.

Схемы и дозы, описанные выше, могут быть применимы к способам лечения и применению, как определено здесь.

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

PLD может быть получен в соответствии с WO 02/02596 или как описано в других литературных источниках.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

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 глутамин (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 $1,5 \times 10^6$ 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 $200 \times g$ 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 $18 \times 1800 \times 879$ 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.

Противовирусные препараты и соединения. PLD 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. При комбинировании PLD и других лекарственных препаратов каждое из них добавляли в молярном соотношении 1:1 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. Противовирусные соединения в возрастающих концентрациях добавляли к клеткам Vero E6 вместе с $10^{1,8}$ TCID₅₀/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 IC₅₀ и статистический анализ. Кривые отклика соединений или их смесей 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.

Противовирусную активность PLD исследовали в отношении SARS-CoV-2. PLD также исследовали в комбинации с другими противовирусными агентами.

Считается, что проникновение SARS-CoV-2 требует связывания вируса и активации шиповидного белка посредством взаимодействия с клеточным рецептором ACE2 и клеточной протеазой, механизму, которому способствует интернализация вируса посредством эндоцитоза. Было показано, что вмешательство в любой из этих начальных процессов снижает проникновение и инфекционность SARS-CoV-2. Кроме того, SARS-CoV-2 может проникать в клетки посредством эндоцитоза и накапливаться в эндосомах, где клеточные катепсины также могут активировать шиповидный белок и способствовать слиянию вируса при расщеплении.

Поэтому были проведены эксперименты для определения активности комбинаций PLD с соединениями-ингибиторами проникновения, которые могут оказывать действие до проникновения вируса, нарушая слияние вируса с клеткой.

Кроме того, когда SARS-CoV-2 подвергается слиянию с плазматической мембраной или эндосомальными мембранами, он запускает высвобождение вирусной РНК в цитоплазму, где полипротеины транслируются и расщепляются протеазами. Это приводит к образованию комплекса РНК-репликаза-транскриптаза, который управляет продукцией РНК с отрицательной цепью как посредством репликации, так и транскрипции. РНК с отрицательной цепью управляет транскрипцией геномов с положительной РНК и трансляцией вирусных нуклеопротеинов, которые собираются в вирусные капсиды в цитоплазме. Эти капсиды затем отпочковываются в просвет компартментов ЭР (эндоплазматический ретикулум)-аппарат Гольджи, где вирусы, наконец, высвобождаются во внеклеточное пространство путем экзоцитоза. Это приводит к множеству стадий вирусного цикла, на которые могут быть нацелены различные противовирусные соединения в комбинации с PLD. Поэтому были проведены эксперименты для определения активности комбинаций PLD с ингибиторами, действующими после проникновения.

Другие противовирусные ингибиторы имеют другие или неизвестные механизмы действия. Поэтому были проведены эксперименты по определению активности комбинаций PLD с противовирусной активностью ингибиторов с неизвестным механизмом действия.

Пример 1. Цитопатическое действие на клетки Vero E6, подвергнутые воздействию PLD и его комбинаций с долхином, ремдесивиром, MDL28170 и гидратом мезилата нелфинавира

Противовирусная активность PLD показана на Фиг. 1, где показано цитопатическое действие на клетки Vero E6, подвергнутые воздействию SARS-CoV-2 в фиксированной концентрации в присутствии возрастающих концентраций PLD. PLD использовали в диапазоне концентраций от 10 мкМ до 0,5 нМ при разведении 1/3. Показана нелинейная аппроксимация кривой переменного отклика из одного показательного эксперимента в двух повторностях (квадраты). Указано конкретное значение IC_{50} этого графика. Также показано цитотоксическое действие на клетки Vero E6, подвергнутые воздействию возрастающих концентраций лекарственных препаратов в отсутствие вируса (кружки).

Клинический изолят SARS-CoV-2 (ID EPI_ISL_418268) в постоянной концентрации смешивали с PLD в возрастающих концентрациях и добавляли к клеткам Vero E6. Для контроля цитотоксичности, вызванной лекарственным препаратом, клетки Vero E6 также культивировали с PLD в возрастающих концентрациях в отсутствие SARS-CoV-2. PLD был способен ингибировать вызванные вирусом цитопатические эффекты (квадраты) в концентрациях, при которых цитотоксические эффекты лекарственного препарата не наблюдались (кружки). Средняя величина IC_{50} и стандартное отклонение для PLD в двух экспериментах в двух повторностях каждый составила $0,051 \pm 0,02$ мкМ.

PLD тестировали в комбинации с другими активными противовирусными препаратами. При комбинировании каждый лекарственный препарат добавляли в молярном соотношении 1:1 при одинаковой концентрации. Комбинация PLD и гидроксихлорохина показала значение IC_{50} 0,011 мкМ. Результаты этого эксперимента показаны на Фиг. 2. Важно отметить, что не наблюдается снижения активности PLD. Также важно, что не наблюдается увеличения токсичности.

Комбинация PLD и ремдесивира показала значение IC_{50} 0,07 мкМ. Снова важно отметить, что не наблюдается снижения активности PLD. Также важно, что не наблюдается увеличения токсичности. Результаты этого эксперимента показаны на Фиг. 2.

Комбинация PLD и MDL28170 показала значение IC_{50} 0,021 мкМ. Снова важно отметить, что не наблюдается снижения активности PLD. Также важно, что не

наблюдается увеличения токсичности. Результаты этого эксперимента показаны на Фиг. 2.

Комбинация PLD и гидрата мезилата нелфинавира показала значение IC_{50} 0,015 мкМ. Снова важно отметить, что не наблюдается снижения активности PLD. Также важно, что не наблюдается увеличения токсичности. Результаты этого эксперимента показаны на Фиг. 2.

Активность ремдесивира, гидроксихлорохина, MDL28170 и гидрата мезилата нелфинавира показана на Фиг. 3-б.

Пример 2. Противовирусная активность гидроксихлорохина в отношении SARS-CoV-2

Противовирусная активность гидроксихлорохина показана на Фиг. 3, где показано цитопатическое действие на клетки Vero E6, подвергнутые воздействию SARS-CoV-2 в фиксированной концентрации в присутствии возрастающих концентраций гидроксихлорохина (долхин). Гидроксихлорохин используют в диапазоне концентраций от 100 мкМ до 0,0512 нМ. Показана нелинейная аппроксимация кривой переменного отклика из одного показательного эксперимента в двух повторностях (красные квадраты), за исключением данных о концентрациях лекарственного препарата, связанных с токсичностью. Указано конкретное значение IC_{50} этого графика. Также показано цитотоксическое действие на клетки Vero E6, подвергнутые воздействию возрастающих концентраций препарата в отсутствие вируса (серые кружки).

Ингибирующее действие гидроксихлорохина (долхин) на индуцированную SARS-CoV-2 клеточную цитотоксичность в отношении клеток Vero E6 было подтверждено на Фиг. 3. Клинический изолят SARS-CoV-2 (ID EPI_ISL_418268) в постоянной концентрации смешивали с гидроксихлорохином в возрастающих концентрациях и добавляли к клеткам Vero E6. Для контроля цитотоксичности, вызванной лекарственным препаратом, клетки Vero E6 также культивировали с гидроксихлорохином в возрастающих концентрациях в отсутствие SARS-CoV-2. Гидроксихлорохин был способен ингибировать вызванные вирусом цитопатические эффекты (красные квадраты) в концентрациях, при которых цитотоксические эффекты лекарственного препарата не наблюдались (серые кружки). Средняя величина IC_{50} и стандартное отклонение для этого лекарственного препарата по меньшей мере в трех независимых экспериментах в двух повторностях каждый составила $9,3 \pm 11,1$ мкМ.

Пример 3. Цитопатическое действие на клетки Vero E6, подвергнутые воздействию SARS-CoV-2 в фиксированной концентрации в присутствии ремдесивира в возрастающих концентрациях

Цитопатическое действие на клетки Vero E6, подвергнутые воздействию SARS-CoV-2 в фиксированной концентрации в присутствии возрастающих концентраций ремдесивира, показано на Фиг. 4. Лекарственный препарат использовали в диапазоне концентраций от 100 мкМ до 0,0512 нМ. Показана нелинейная аппроксимация кривой переменного отклика из одного показательного эксперимента в двух повторностях (красные квадраты), за исключением данных о концентрациях лекарственного препарата, связанных с токсичностью. Указано конкретное значение IC_{50} этого графика. Также показано цитотоксическое действие на клетки Vero E6, подвергнутые воздействию возрастающих концентраций лекарственных препаратов в отсутствие вируса (серые кружки).

Лекарственные препараты в комбинации использовали в диапазоне концентраций от 100 мкМ до 0,0512 нМ. Было подтверждено, что ремдесивир обладает способностью *in vitro* ингибировать вызванное SARS-CoV-2 цитопатическое действие на клетки Vero E6 в концентрациях, при которых цитотоксичность лекарственного препарата не наблюдалась. Средняя величина IC_{50} и стандартное отклонение для этого лекарственного препарата по меньшей мере в трех независимых экспериментах в двух повторностях каждый составила $2,16 \pm 4,1$ мкМ.

Пример 4. Цитопатическое действие на клетки Vero E6, подвергнутые воздействию SARS-CoV-2 в фиксированной концентрации в присутствии MDL28170 в возрастающих концентрациях

Цитопатическое действие на клетки Vero E6, подвергнутые воздействию SARS-CoV-2 в фиксированной концентрации в присутствии возрастающих концентраций MDL 28170, ингибитора кальпаина III, показано на Фиг. 5. Лекарственный препарат использовали в диапазоне концентраций от 100 мкМ до 0,0512 нМ. Показана нелинейная аппроксимация кривой переменного отклика из одного показательного эксперимента в двух повторностях (красные квадраты), за исключением данных о концентрациях лекарственного препарата, связанных с токсичностью. Указано конкретное значение IC_{50} этого графика. Также показано цитотоксическое действие на клетки Vero E6, подвергнутые воздействию уменьшающихся концентраций лекарственных препаратов в отсутствие вируса (серые кружки).

Было подтверждено, что MDL 28170 обладает способностью *in vitro* ингибировать вызванное SARS-CoV-2 цитопатическое действие на клетки Vero E6 в концентрациях, при которых цитотоксичность лекарственного препарата не наблюдалась. Средняя величина IC₅₀ и стандартное отклонение для этого лекарственного препарата по меньшей мере в двух независимых экспериментах в двух повторностях каждый составила 0,14 ± 0,06 мкМ.

Пример 5. Цитопатическое действие на клетки Vero E6, подвергнутые воздействию гидрата мезилата нелфинавира

Цитопатическое действие на клетки Vero E6, подвергнутые воздействию SARS-CoV-2 в фиксированной концентрации в присутствии возрастающих концентраций ингибитора протеазы ВИЧ-1, гидрата мезилата нелфинавира, показано на Фиг. 6. Лекарственный препарат использовали в диапазоне концентраций от 100 мкМ до 0,0512 нМ. Показана нелинейная аппроксимация кривой переменного отклика из одного показательного эксперимента в двух повторностях (красные квадраты), за исключением данных о концентрациях лекарственного препарата, связанных с токсичностью. Указано конкретное значение IC₅₀ этого графика. Также показано цитотоксическое действие на клетки Vero E6, подвергнутые воздействию возрастающих концентраций лекарственных препаратов в отсутствие вируса (серые кружки).

Было подтверждено, что гидрат мезилата нелфинавира обладает способностью *in vitro* ингибировать вызванное SARS-CoV-2 цитопатическое действие на клетки Vero E6 в концентрациях, при которых цитотоксичность лекарственного препарата не наблюдалась.

Эти данные показывают, что PLD можно вводить в комбинации с другим агентом(ами) без снижения активности PLD. Эти данные также показывают, что PLD можно вводить в комбинации с другими агентами без неблагоприятного воздействия токсичности. Эти важные результаты подчеркивают возможность комбинирования PLD с другими агентами, чтобы свести к минимуму или избежать селекции резистентных вирусов.

Было показано, что PLD эффективен в комбинации с одним или более чем одним дополнительным противовирусным агентом против CoV, выбранным из агента(ов), которые ингибируют проникновение вируса, ингибируют слияние вируса с клеткой, ингибируют эндоцитоз или ингибируют репликацию вируса. В частности, один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV выбран из

ингибиторов кальпаина, катепсина или кальпаина/катепсина, ингибиторов РНК-полимеразы, ингибиторов клатрин-опосредованного эндоцитоза, ингибиторов протеазы ВИЧ-1, ингибиторов сериновых протеаз, ингибиторов TMPRSS2, стимулированных IFN противовирусных белков, агонистов рецептора PPAR α , ингибиторов переносчика холестерина, ингибиторов транспорта внутриклеточного холестерина, ингибиторов пути биосинтеза ганглиозидов, агентов, снижающих уровень холестерина, глюкокортикоидов, агентов, которые ингибируют слияние вируса с мембранами клеток-хозяев, и ингибиторов JAK.

Описанные здесь противовирусные агенты, обладающие противовирусной активностью, затрагивают различные этапы жизненного цикла вируса и, следовательно, могут рассматриваться для применения в комбинации с PLD. Эти комбинации сохраняют эффективность и обладают приемлемой цитотоксичностью, и они могут быть использованы для минимизации или предотвращения появления резистентного вируса.

PLD в комбинации сохраняет эффективность и сохраняет приемлемую цитотоксичность. Комбинации, раскрытые здесь, полезны в качестве противовирусных комбинированных агентов в арсенале против SARS-CoV-2 и COVID-19.

Пример 6. Профиль PLD в плазме

На Фиг. 7 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 IC₅₀, IC₉₀ и 3×IC₉₀ *in vitro*. При обоих уровнях дозы (1,0 мг и 2,0 мг) концентрации в плазме выше IC₅₀ будут достигаться в течение всего периода лечения и будут оставаться выше IC₉₀ в течение большей части интервала введения. Кумуляция после пяти повторных введений является минимальной.

Дальнейший режим дозирования PLD составляет 1,5 мг в сутки в течение 5 суток. На Фиг. 8 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 IC₅₀ в течение всего периода лечения и остаются выше IC₉₀ 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. 9 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.

Валидированная популяционная фармакокинетическая модель плитидепсина (Nalda-Molina R, et al. Population pharmacokinetics meta-analysis of plitidepsin 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. 10 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

Boulware, D.R., Pullen, M.F., Bangdiwala, A.S., Pastick, K.A., Lofgren, S.M., Okafor, E.C., Skipper, C.P., Nascene, A.A., Nicol, M.R., Abassi, M., et al. (2020). A Randomized Trial of Hydroxychloroquine as Postexposure Prophylaxis for Covid-19. *N. Engl. J. Med.* NEJMoa2016638.

Caly, L., Druce, J.D., Catton, M.G., Jans, D.A., and Wagstaff, K.M. (2020). The FDA-approved Drug Ivermectin inhibits the replication of SARS-CoV-2 in vitro. *Antiviral Res.* 104787.

Cavalcanti, A.B., Zampieri, F.G., Rosa, R.G., Azevedo, L.C.P., Veiga, V.C., Avezum, A., Damiani, L.P., Marcadenti, A., Kawano-Dourado, L., Lisboa, T., et al. (2020). Hydroxychloroquine with or without Azithromycin in Mild-to-Moderate Covid-19. *N. Engl. J. Med.* NEJMoa2019014.

Elfiky, A.A. (2020). Ribavirin, Remdesivir, Sofosbuvir, Galidesivir, and Tenofovir against SARS-CoV-2 RNA dependent RNA polymerase (RdRp): A molecular docking study. *Life Sci.* 253, 117592.

Fantini, J., Di Scala, C., Chahinian, H., and Yahi, N. (2020). Structural and molecular modelling studies reveal a new mechanism of action of chloroquine and hydroxychloroquine against SARS-CoV-2 infection. *Int. J. Antimicrob. Agents* 105960.

Gassen, N.C., Papies, J., Bajaj, T., Dethloff, F., Emanuel, J., Weckmann, K., Heinz, D.E., Heinemann, N., Lennarz, M., Richter, A., et al. (2020). Analysis of SARS-CoV-2-controlled autophagy reveals spermidine, MK-2206, and niclosamide as putative antiviral therapeutics (*Microbiology*).

Hadjadj, J., Yatim, N., Barnabei, L., Corneau, A., Boussier, J., Smith, N., Péré, H., Charbit, B., Bondet, V., Chenevier-Gobeaux, C., et al. (2020). Impaired type I interferon activity and inflammatory responses in severe COVID-19 patients. *Science* eabc6027.

Haviernik, J., Štefánik, M., Fojtíková, M., Kali, S., Tordo, N., Rudolf, I., Hubálek, Z., Eyer, L., and Ruzek, D. (2018). Arbidol (Umifenovir): A Broad-Spectrum Antiviral Drug That Inhibits Medically Important Arthropod-Borne Flaviviruses. *Viruses* 10, 184.

Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Krueger, N., Mueller, M.A., Drosten, C., and Poehlmann, S. (2020). The novel coronavirus 2019 (2019-nCoV) uses the SARS-coronavirus receptor ACE2 and the cellular protease TMPRSS2 for entry into target cells (*Molecular Biology*).

Jeon, S., Ko, M., Lee, J., Choi, I., Byun, S.Y., Park, S., Shum, D., and Kim, S. (2020). Identification of antiviral drug candidates against SARS-CoV-2 from FDA-approved drugs (*Microbiology*).

Li (2020). An exploratory randomized controlled study on the efficacy and safety of lopinavir/ritonavir or arbidol treating adult patients hospitalized with mild/moderate COVID-19 (ELACOI). *MedRxiv* 33.

Lu, Y., Liu, D.X., and Tam, J.P. (2008). Lipid rafts are involved in SARS-CoV entry into Vero E6 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 369, 344–349.

Maisonnasse, P., Guedj, J., Contreras, V., Behillil, S., Solas, C., Marlin, R., Naninck, T., Pizzorno, A., Lemaitre, J., Gonçalves, A., et al. (2020). Hydroxychloroquine use against SARS-CoV-2 infection in non-human primates. *Nature*.

Richardson, P., Griffin, I., Tucker, C., Smith, D., Oechsle, O., Phelan, A., and Stebbing, J. (2020). Baricitinib as potential treatment for 2019-nCoV acute respiratory disease. *The Lancet* 395, e30-e31.

Riva, L., Yuan, S., Yin, X., Martin-Sancho, L., Matsunaga, N., Pache, L., Burgstaller-Muehlbacher, S., De Jesus, P.D., Teriete, P., Hull, M.V., et al. (2020). Discovery of SARS-CoV-2 antiviral drugs through large-scale compound repurposing. *Nature*.

Schneider, M., Ackermann, K., Stuart, M., Wex, C., Protzer, U., Schätzl, H.M., and Gilch, S. (2012). Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Replication Is Severely Impaired by MG132 due to Proteasome-Independent Inhibition of M-Calpain. *J. Virol.* *86*, 10112-10122.

Stebbing, J., Phelan, A., Griffin, I., Tucker, C., Oechsle, O., Smith, D., and Richardson, P. (2020). COVID-19: combining antiviral and anti-inflammatory treatments. *Lancet Infect. Dis.* *20*, 400-402.

Tu, Y.-F., Chien, C.-S., Yarmishyn, A.A., Lin, Y.-Y., Luo, Y.-H., Lin, Y.-T., Lai, W.-Y., Yang, D.-M., Chou, S.-J., Yang, Y.-P., et al. (2020). A Review of SARS-CoV-2 and the Ongoing Clinical Trials. *Int. J. Mol. Sci.* *21*, 2657.

Wang, Y., Zhang, D., Du, G., Du, R., Zhao, J., Jin, Y., Fu, S., Gao, L., Cheng, Z., Lu, Q., et al. (2020). Remdesivir in adults with severe COVID-19: a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial. *The Lancet* S0140673620310229.

Williamson, B., Feldmann, F., Schwarz, B., Meade-White, K., Porter, D., Schulz, J., van Doremalen, N., Leighton, I., Yinda, C.K., Perez-Perez, L., et al. (2020). Clinical benefit of remdesivir in rhesus macaques infected with SARS-CoV-2 (Microbiology).

Wu, C., Liu, Y., Yang, Y., Zhang, P., Zhong, W., Wang, Y., Wang, Q., Xu, Y., Li, M., Li, X., et al. (2020). Analysis of therapeutic targets for SARS-CoV-2 and discovery of potential drugs by computational methods. *Acta Pharm. Sin. B* *10*, 766–788.

Zhou, Y., and Simmons, G. (2012). Development of novel entry inhibitors targeting emerging viruses. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* *10*, 1129-1138.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. PLD (плитидепсин) или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер для применения в лечении коронавирусной (CoV) инфекции, где PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер используют в комбинации с одним или более чем одним дополнительным противовирусным агентом против CoV.

2. PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер для применения по п. 1, где один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV выбран из агента, который ингибирует проникновение вируса, ингибирует слияние вируса с клеткой, ингибирует эндоцитоз или ингибирует репликацию вируса.

3. PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер для применения по любому из пп. 1-2, где один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV выбран из ингибиторов кальпаина, катепсина или кальпаина/катепсина, ингибиторов РНК-полимеразы, ингибиторов клатрин-опосредованного эндоцитоза, ингибиторов протеазы ВИЧ-1, ингибиторов сериновых протеаз, ингибиторов TMPRSS2, IFN (интерферон)-стимулированных противовирусных белков, агонистов рецептора PPAR α (альфа-рецептор, активируемый пероксисомными пролифераторами), ингибиторов переносчика холестерина, ингибиторов транспорта внутриклеточного холестерина, ингибиторов пути биосинтеза ганглиозидов, агентов, снижающих уровень холестерина, глюкокортикоидов, агентов, которые ингибируют слияние вируса с мембранами клеток-хозяев, и ингибиторов JAK (Янус-киназа).

4. PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер для применения по любому из пп. 1-3, где один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV выбран из ингибиторов кальпаина, катепсина или кальпаина/катепсина, ингибиторов РНК-полимеразы, ингибиторов клатрин-опосредованного эндоцитоза, ингибиторов протеазы ВИЧ-1, ингибиторов сериновых протеаз, ингибиторов TMPRSS2, IFN-стимулированных противовирусных белков и агонистов рецептора PPAR α .

5. PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер для применения по любому из пп. 1-4, где один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV представляет собой ингибитор катепсина, ингибитор катепсина В, ингибитор катепсина L, ингибитор кальпаина,

комбинированный ингибитор кальпаина и катепсина В, ингибитор пан-катепсина В/Л; где агент предпочтительно может быть выбран из MDL28170, E64d или CA-074; предпочтительно MDL28170; или

где один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV представляет собой ингибитор РНК-полимеразы; где агент предпочтительно может быть выбран из ремдесивира и фавипиравира; предпочтительно ремдесивира; или

где один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV представляет собой ингибитор клатрин-опосредованного эндоцитоза; где агент предпочтительно может быть выбран из гидроксихлорохина, хлорохина, амантадина или хлорпромазина; предпочтительно гидроксихлорохина или хлорохина; более предпочтительно гидроксихлорохина; или

где один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV представляет собой ингибитор протеазы ВИЧ-1, где агент предпочтительно может быть выбран из гидрата мезилата нелфинавира, лопинавира, типранавира, ампренавира или дарунавира, предпочтительно гидрата мезилата нелфинавира; или

где один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV представляет собой ингибитор сериновых протеаз, где агент предпочтительно может быть выбран из камостата, бромгексина, апротинина или нафамостата, предпочтительно камостата; или

где один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV представляет собой ингибитор TMPRSS2; где агент предпочтительно может быть выбран из камостата, бромгексина, апротинина или нафамостата, предпочтительно камостата; или

где один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV представляет собой IFN-стимулированный противовирусный белок; где агент предпочтительно может быть выбран из интерферона альфа-2 или интерферона гамма; или

где один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV представляет собой агонист рецептора PPAR α ; где агент предпочтительно может представлять собой фенофибрат; или

где один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV ингибирует переносчик холестерина для ингибирования транспорта

внутриклеточного холестерина; где агент предпочтительно может представлять собой итраконазол; или

где один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV представляет собой ингибитор пути биосинтеза ганглиозидов; где агент предпочтительно может представлять собой NB-DNJ; или

где один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV представляет собой агент, снижающий уровень холестерина; где агент предпочтительно может представлять собой метил-бета-циклодекстрин; или

где один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV представляет собой глюкокортикоид; где агент предпочтительно может представлять собой циклесонид; или

где один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV представляет собой агент, который ингибирует слияние вируса с мембранами клеток-хозяев; где агент предпочтительно может представлять собой арбидол; или

где один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV представляет собой ингибитор JAK; где агент предпочтительно может представлять собой тофацитиниб.

6. PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер для применения по любому из пп. 1-5, где один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV выбран из MDL 28170, ремдесивира, гидроксихлорохина, гидрата мезилата нелфинавира, хлорохина, интерферона 2 α , интерферона- γ и фенофибрата.

7. PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер для применения по любому из пп. 1-6, где PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер и один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV вводят одновременно, последовательно или раздельно.

8. PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер для применения по любому из пп. 1-7, где молярное соотношение PLD или его фармацевтически приемлемых соли или стереоизомера и одного или более чем одного дополнительного противовирусного агента против CoV составляет от 1:1000 до 1000:1, от 1:700 до 700:1, от 1:500 до 500:1, от 1:300 до 300:1, от 1:100 до 100:1 или от 1:50 до 50:1.

9. PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер для применения по любому из пп. 1-8, где в дополнение к PLD или его фармацевтически приемлемым соли или стереоизомеру и одному или более чем одному дополнительному противовирусному агенту против CoV также вводят кортикостероид, предпочтительно дексаметазон.

10. PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер для применения по п. 9, где кортикостероид вводят одновременно, последовательно или отдельно с PLD или его фармацевтически приемлемыми солью или стереоизомером и одним или более чем одним дополнительным противовирусным агентом против CoV.

11. PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер для применения по любому из пп. 1-10, где пациент дополнительно получает, предпочтительно за 20-30 минут до начала лечения PLD или его фармацевтически приемлемыми солью или стереоизомером, следующие лекарственные препараты:

- ондансетрон 8 мг в/в (внутривенно) (или эквивалент);
- дифенгидрамина гидрохлорид 25 мг в/в (или эквивалент); и
- ранитидин 50 мг в/в (или эквивалент).

12. PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер для применения по любому из пп. 1-11, где лечение коронавирусной (CoV) инфекции представляет собой профилактическое лечение.

13. PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер для применения по любому из пп. 1-12, где CoV представляет собой SARS-CoV-2.

14. PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер для применения по любому из пп. 1-13, для применения в лечении COVID-19 и/или для применения в лечении пневмонии, вызванной COVID-19.

15. PLD или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер для применения по любому из пп. 1-14, где CoV инфекция представляет собой легкую инфекцию; и/или где CoV инфекция представляет собой инфекцию средней степени тяжести; и/или где CoV инфекция представляет собой тяжелую инфекцию.

16. Соединение по любому из пп. 1-15, где CoV инфекция представляет собой острую CoV инфекцию, предпочтительно где CoV инфекция представляет собой острую инфекцию COVID-19; и/или где CoV инфекция представляет собой продолжающуюся симптоматическую CoV инфекцию, предпочтительно где CoV инфекция представляет собой продолжающуюся симптоматическую инфекцию COVID-19; и/или где CoV

инфекция представляет собой постковидный синдром, персистирующий ковид или долгий ковид; предпочтительно, где CoV инфекция представляет собой пост-COVID-19-синдром, персистирующий COVID или долгий COVID.

17. Соединение по п. 16, где постковидный синдром, персистирующий ковид или долгий ковид включает 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.

18. Соединение по любому из пп. 1-17 для применения в лечении пациента с признаками и симптомами CoV инфекции (предпочтительно COVID-19) в течение вплоть до 4 недель; и/или для применения в лечении пациента с признаками и симптомами CoV инфекции (предпочтительно COVID-19) в течение от 4 недель до 12 недель; и/или для применения в лечении пациента с признаками и симптомами CoV инфекции, предпочтительно COVID-19, в течение более 12 недель.

19. Соединение по любому из пп. 1-18 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 CoV инфекции.

20. Соединение по любому из пп. 1-19, где лечение снижает инфекционность пациентов с CoV инфекцией; в том числе, где пациент бессимптомен или еще малосимптомен, но имеет высокую вирусную нагрузку.

21. Применение PLD или его фармацевтически приемлемых соли или стереоизомера в изготовлении лекарственного средства для лечения коронавирусной (CoV) инфекции, где при указанном лечении вводят один или более чем один дополнительный противовирусный агент против CoV; где применение может возможно находиться в соответствии с любым из пп. 1-20.

22. Способ лечения коронавирусной (CoV) инфекции, включающий введение нуждающемуся в этом пациенту комбинации PLD или его фармацевтически приемлемых соли или стереоизомера и одного или более чем одного дополнительного

противовирусного агента против CoV, где способ может возможно находиться в соответствии с любым из пп. 1-20.

23. Комбинация PLD или его фармацевтически приемлемых соли или стереоизомера и одного или более чем одного дополнительного противовирусного агента против CoV.

24. Комбинация по п. 23 для применения в качестве лекарственного средства; где применение может возможно находиться в соответствии с любым из пп. 1-20.

25. Фармацевтическая композиция, содержащая фармацевтически приемлемый разбавитель и комбинацию по п. 23 или п. 24.

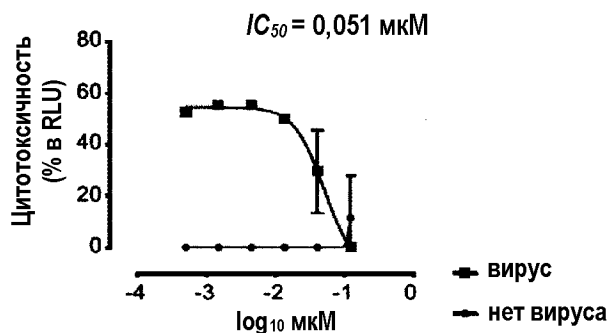
26. Набор, содержащий комбинацию по п. 23, возможно дополнительно содержащий инструкции по лечению пациента; причем указанные инструкции возможно содержат инструкции по применению комбинации(й) по настоящему изобретению для применения в лечении коронавирусной (CoV) инфекции; где применение может возможно находиться в соответствии с любым из пп. 1-20.

27. Противовирусный агент против CoV для применения в лечении коронавирусной (CoV) инфекции, где противовирусный агент против CoV используют в комбинации с PLD или его фармацевтически приемлемыми солью или стереоизомером; где применение может возможно находиться в соответствии с любым из пп. 1-20.

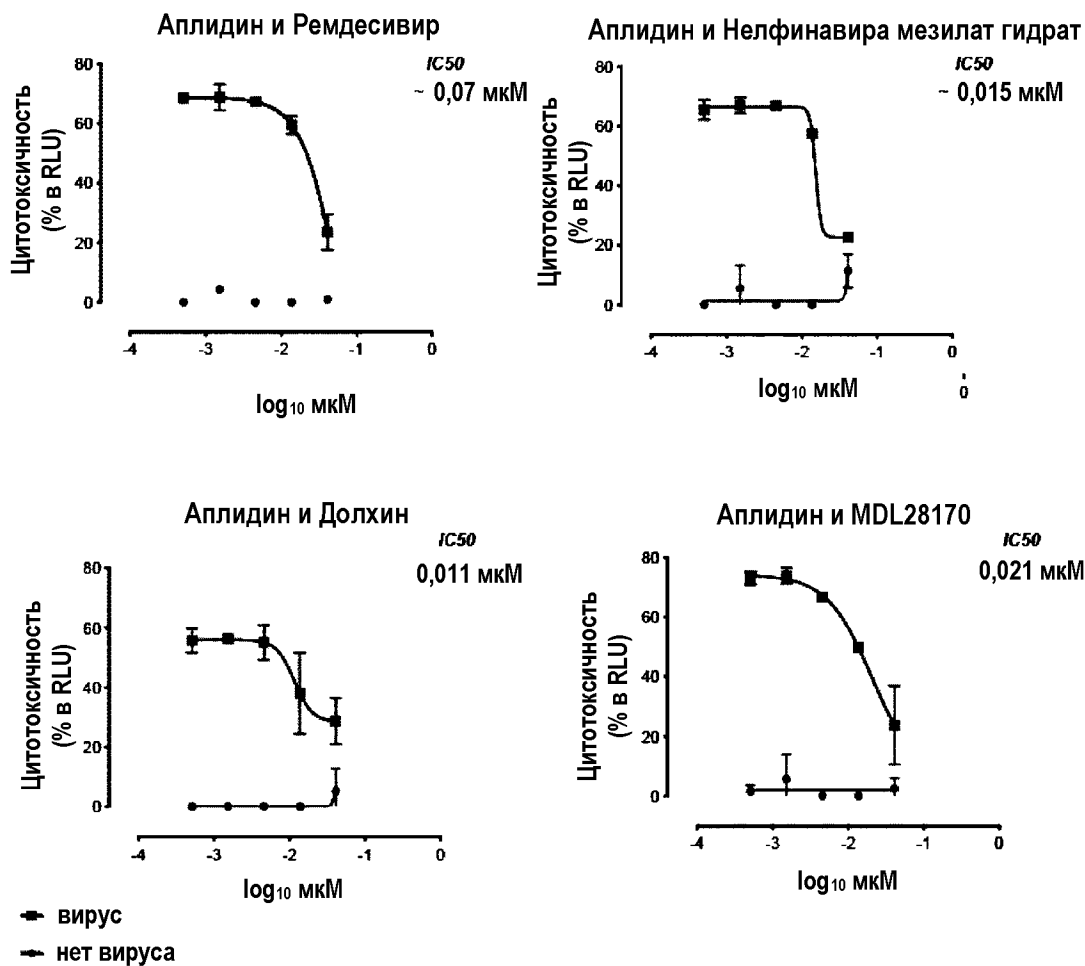
28. Противовирусный агент против CoV для применения в лечении коронавирусной (CoV) инфекции по п. 27, где противовирусный агент против CoV выбран из ингибитора кальпаина, катепсина или кальпаина/катепсина, ингибитора РНК-полимеразы, ингибитора клатрин-опосредованного эндоцитоза, ингибитора протеазы ВИЧ-1, ингибитора сериновых протеаз, ингибитора TMPRSS2, IFN-стимулированного противовирусного белка, агониста рецептора PPAR α , ингибитора переносчика холестерина, ингибитора транспорта внутриклеточного холестерина, ингибитора пути биосинтеза ганглиозидов, агента, снижающего уровень холестерина, глюкокортикоида, агентов, которые ингибируют слияние вируса с мембранами клеток-хозяев, или ингибитора JAK.

29. Противовирусный агент против CoV для применения в лечении коронавирусной (CoV) инфекции по п. 27 или п. 28, где лечение представляет собой лечение COVID-19.

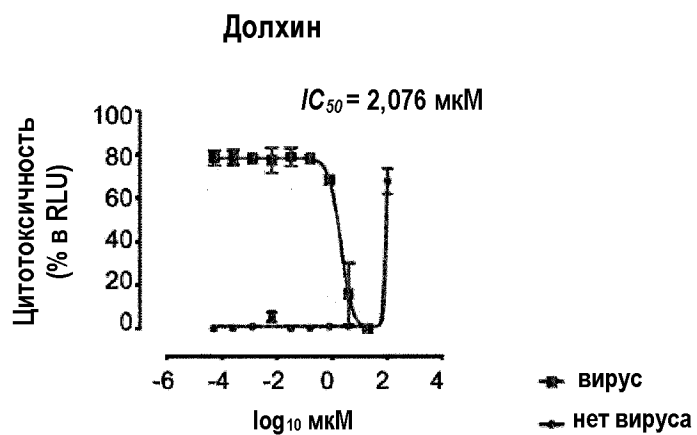
Плителидепсин



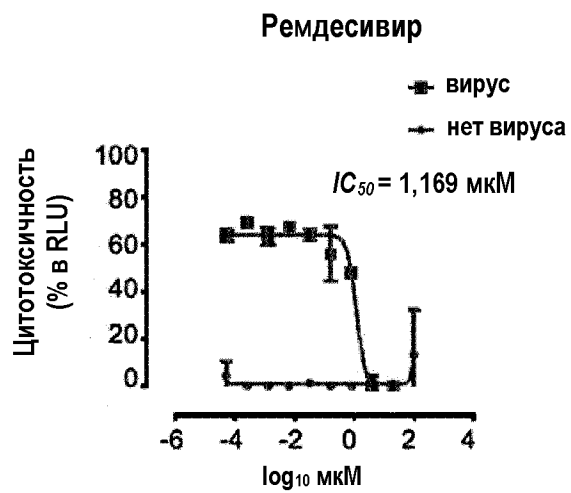
Фиг. 1



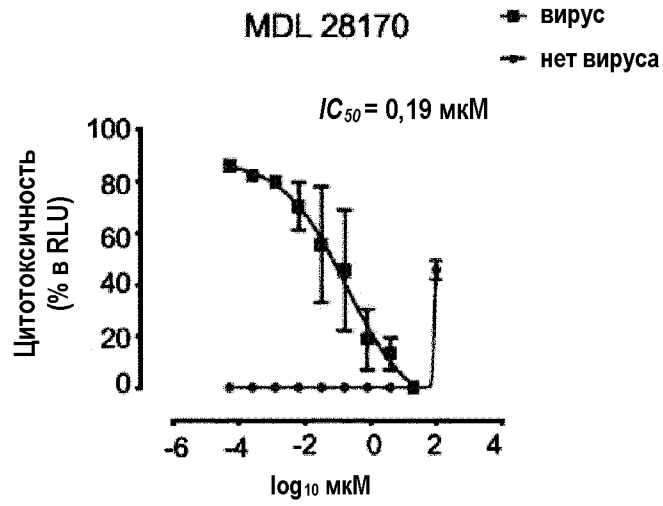
Фиг. 2



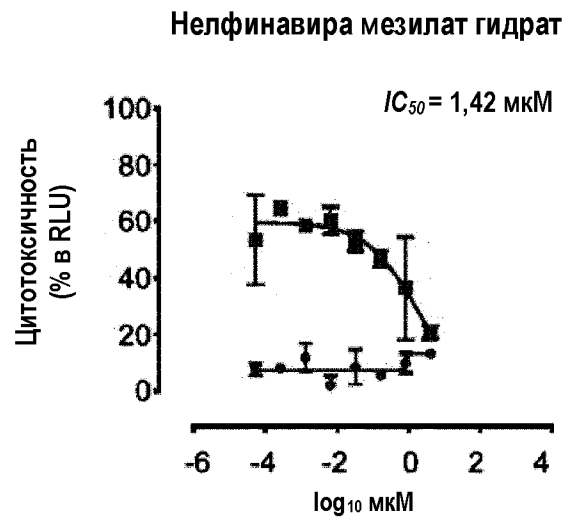
Фиг. 3



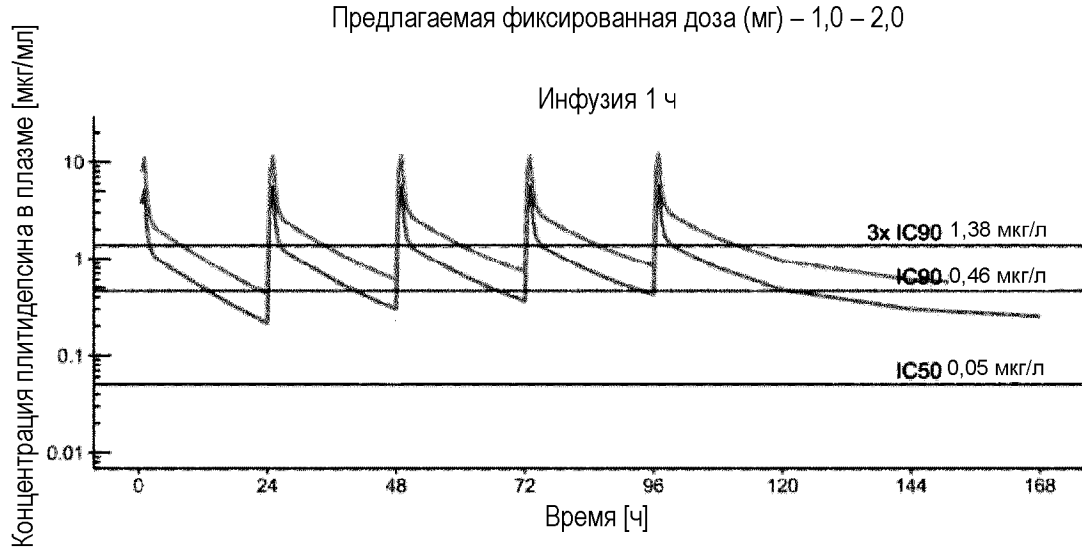
Фиг. 4



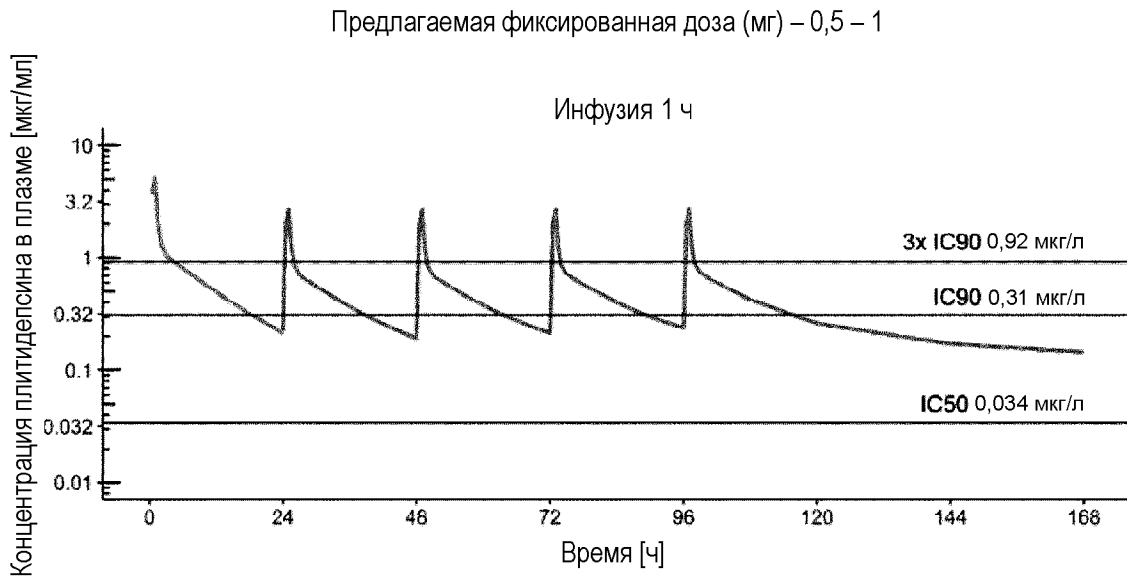
Фиг. 5



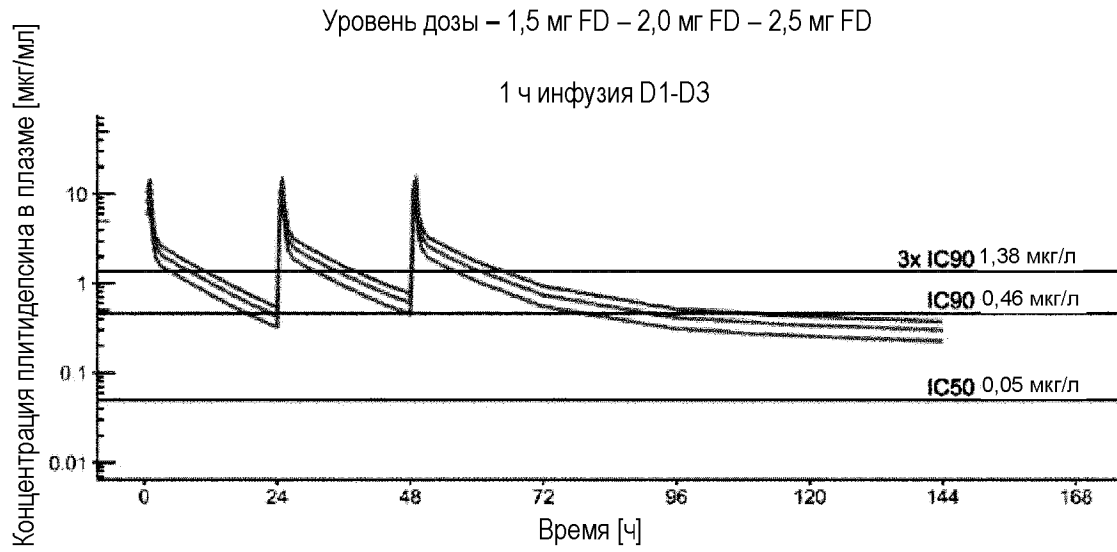
Фиг. 6



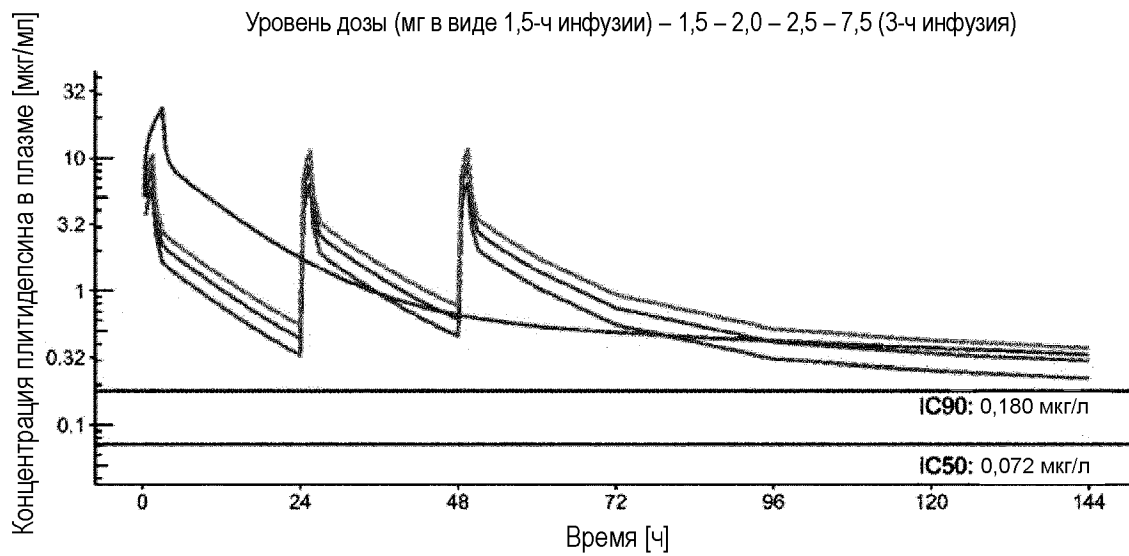
Фиг. 7



Фиг. 8



Фиг. 9



Фиг. 10