

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202292251** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.12.09

(22) Дата подачи заявки
2021.03.02

(51) Int. Cl. *A61K 38/12* (2006.01)
A61K 31/56 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)
A61K 38/15 (2006.01)
A61P 37/06 (2006.01)

(54) СОЕДИНЕНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ ПРИ АУТОИММУННЫХ СОСТОЯНИЯХ

(31) 20382152.5; 20382192.1; 20382266.3;
20382339.8; 20382815.7; 20382814.0;
21382059.0

(32) 2020.03.02; 2020.03.13; 2020.04.02;
2020.04.27; 2020.09.16; 2020.09.16;
2021.01.25

(33) EP

(86) PCT/EP2021/055142

(87) WO 2021/175829 2021.09.10

(71) Заявитель:
ФАРМА МАР, С.А. (ES)

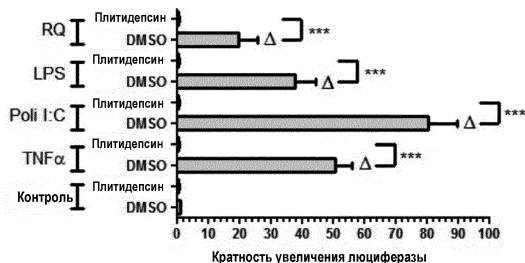
(72) Изобретатель:

**Авилес Марин Пабло, Лосада
Гонсалес Алехандро, Фернандес
Соуса-Фаро Хосе Мария (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) Изобретение относится к применению соединений в лечении аутоиммунных состояний и, в частности, для лечения ревматоидного артрита.



202292251

A1

A1

202292251

PCT/EP2021/055142

A61K 38/12 (2006.01) **A61K 38/15** (2006.01)
A61K 31/56 (2006.01) **A61P 37/06** (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)

СОЕДИНЕНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ ПРИ АУТОИММУННЫХ СОСТОЯНИЯХ

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к лечению аутоиммунных состояний.

ПРЕДШЕСТВУЮЩИЙ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Аутоиммунные состояния характеризуются хроническим воспалением, которое связано с активацией пути Toll-подобного рецептора (TLR). В этом пути все вредные стимулы, индуцированные травмой, инфекцией, стрессом, гипоксией или гибелью клеток, вызывают повреждение тканей и приводят к высвобождению эндогенных лигандов TLR или «аутоантигенов». Существуют многочисленные гипотезы относительно того, как такие эндогенные лиганды TLR генерируются во время аутоиммунного ответа, что приводит к воспалению, и возможно, что многие или все эти процессы происходят во время аутоиммунного заболевания.

Одна из гипотез состоит в том, что антигены, которые обычно являются внутриклеточными и поэтому невидимы для иммунной системы, могут накапливаться на мембранах клеток из-за высокого уровня апоптоза, становясь видимыми для иммунной системы и действуя в качестве лиганда TLR. Другая гипотеза состоит в том, что могут генерироваться неопитопы, способные индуцировать иммунный ответ, в том числе действовать в качестве лигандов TLR. Неопитопы могут генерироваться посредством модификации существующих молекул путем ферментативного расщепления, посттрансляционных модификаций или других структурных модификаций. Эти изменения могут быть вызваны фактором окружающей среды или изменениями *in vivo*, например нарушением регуляции ферментативной активности, таким как повышенная активность гранзима В вследствие апоптоза.

Эти лиганды, также известные как DAMP (молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждением), связываются с Toll-подобным рецептором (которых у людей существует 10 подтипов, называемых TLR1-10), приводя к активации сигнальных каскадов, что в конечном итоге приводит к воспалительной реакции. Эндогенные лиганды TLR были идентифицированы по меньшей мере для TLR 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9 и 11 и связаны с рядом аутоиммунных заболеваний. Кроме того, микробные продукты, которые являются известными лигандами TLR, также были обнаружены у

пациентов, страдающих аутоиммунным заболеванием, и, наряду с эндогенными лигандами TLR, могут управлять сигнальными каскадами TLR.

Один из таких сигнальных каскадов приводит к активации канонического пути NF- κ B, который является центральным регулятором воспаления и центральным медиатором индукции провоспалительных генов и, следовательно, ключевым фактором аутоиммунной патологии.

В пути NF- κ B связывание эндогенных лигандов с TLR запускает димеризацию рецептора. Далее TLR способны взаимодействовать с серией адапторных белков, которые опосредуют различные сигнальные пути. Белок первичного ответа миелоидной дифференцировки 88 (MyD88) является наиболее широко используемым адапторным белком TLR и опосредует передачу сигналов через все TLR. MyD88 взаимодействует с треонин-сериновой киназой IRAK4 (киназа, ассоциированная с рецептором интерлейкина (IL)-1), которая при активации фосфорилирует IRAK1. Затем киназы IRAK рекрутируют убиквитинлигазу TRAF6 (фактор 6, ассоциированный с рецептором фактора некроза опухоли), которая полиубиквитинирует и активирует киназу TAK1 (киназа 1, активируемая трансформирующим фактором роста β). Киназа TAK1 активирует комплекс IKK, который запускает протеолитическую деградацию ингибитора κ B (I- κ B), ингибитора ядерного фактора κ B (NF- κ B), который демаскирует сигнал ядерной локализации NF- κ B, делая возможной транслокацию этого транскрипционного комплекса из цитоплазмы к ядру и активацию широкого спектра генов, чувствительных к NF- κ B, включая гены, кодирующие провоспалительные цитокины и костимулирующие молекулы, необходимые для активации адаптивного иммунного ответа.

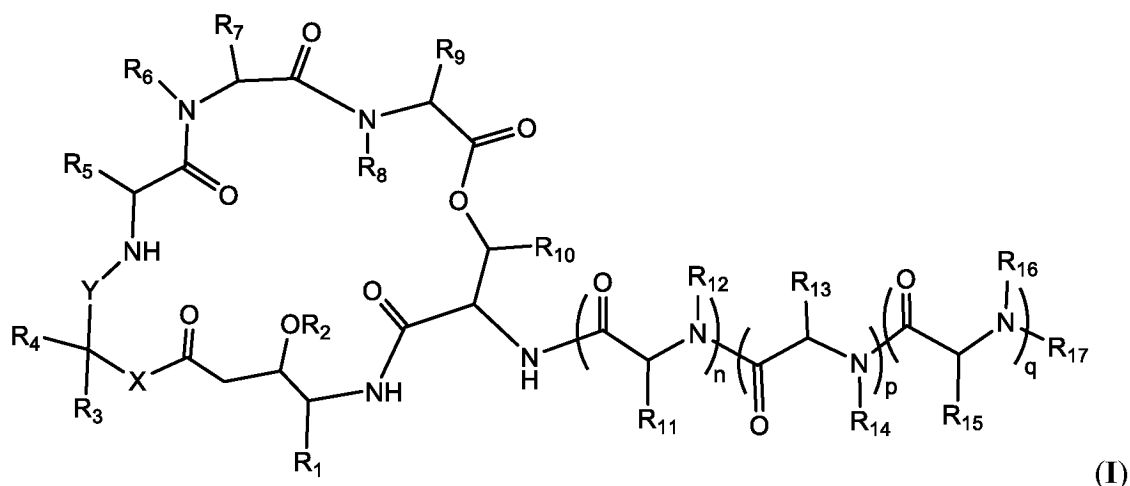
Соответственно, активация трансдукции NF- κ B отвечает за индукцию транскрипции провоспалительных цитокинов, хемокинов и дополнительных медиаторов воспаления в различных типах иммунных клеток. Эти медиаторы воспаления могут как непосредственно участвовать в индукции воспаления, так и действовать опосредованно, способствуя дифференцировке воспалительных Т-клеток. Таким образом, активация или нарушение регуляции передачи сигналов TLR приводит к хроническому воспалению, которое играет центральную роль в патогенезе аутоиммунных состояний.

Поэтому существует необходимость в разработке новых терапий для лечения аутоиммунных состояний, которые в настоящее время не поддаются лечению у большинства пораженных пациентов. В частности, существует необходимость в

разработке терапии, которая может препятствовать активации TLR или предотвратить патологию, такую как аутоиммунные состояния, возникающие в результате активации TLR. Настоящее изобретение направлено на удовлетворение этих потребностей.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

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



где X выбран из O и NH;

Y выбран из CO и $-\text{COCH}(\text{CH}_3)\text{CO}-$;

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

каждый R_1 , R_3 , R_5 , R_9 , R_{11} и R_{15} независимо выбран из водорода, замещенного или незамещенного C_1 - C_6 алкила, замещенного или незамещенного C_2 - C_6 алкенила и замещенного или незамещенного C_2 - C_6 алкинила;

R_2 выбран из водорода, CORa , COORa , замещенного или незамещенного C_1 - C_6 алкила, замещенного или незамещенного C_2 - C_6 алкенила и замещенного или незамещенного C_2 - C_6 алкинила;

каждый R_4 , R_8 , R_{10} , R_{12} и R_{16} независимо выбран из водорода и замещенного или незамещенного C_1 - C_6 алкила;

каждый R_7 и R_{13} независимо выбран из водорода, замещенного или незамещенного C_1 - C_6 алкила, замещенного или незамещенного C_2 - C_6 алкенила и замещенного или незамещенного C_2 - C_6 алкинила; каждый R_6 и R_{14} независимо выбран из водорода и замещенного или незамещенного C_1 - C_6 алкила; или R_6 и R_7 и/или R_{13} и R_{14} вместе с соответствующим атомом N и атомом C, к которым они присоединены, могут образовывать замещенную или незамещенную гетероциклическую группу;

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

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

для применения в лечении аутоиммунного состояния.

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

В другом аспекте настоящее изобретение относится к дидемнину В или его фармацевтически приемлемым соли или стереоизомеру.

В другом аспекте настоящее изобретение также относится к фармацевтической композиции, содержащей соединение, как определено здесь, и фармацевтически приемлемый носитель, для применения согласно настоящему изобретению.

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

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

В воплощениях аутоиммунное состояние выбрано из системной красной волчанки (СКВ), ревматоидного артрита (РА), рассеянного склероза (РС), склеродермии, синдрома Шегрена, аутоиммунного миокардита, диабета 1 типа и атеросклероза. В предпочтительном воплощении аутоиммунное состояние представляет собой РА.

В дополнительном аспекте изобретения предложен набор, содержащий соединение, как определено здесь, или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер вместе с инструкциями по лечению аутоиммунного состояния.

Следующие воплощения применимы ко всем аспектам настоящего изобретения.

Аутоиммунное состояние может быть вызвано активацией одного или более чем одного Toll-подобного рецептора (TLR).

Аутоиммунное состояние может характеризоваться усиленной передачей сигналов посредством по меньшей мере одного или более чем одного Toll-подобного рецептора (TLR).

Аутоиммунное состояние может характеризоваться повышенными уровнями по меньшей мере одного провоспалительного цитокина.

Аутоиммунное состояние может быть выбрано из системной красной волчанки (СКВ), ревматоидного артрита (РА), рассеянного склероза (РС), склеродермии, синдрома Шегрена, аутоиммунного миокардита, диабета 1 типа и атеросклероза. В предпочтительном воплощении аутоиммунное состояние представляет собой РА.

R_3 и R_4 могут быть независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1 - C_6 алкила. R_3 может представлять собой изопропил, а R_4 может представлять собой водород. R_3 и R_4 могут представлять собой метил (это соединение также называют соединением общей формулы II).

R_{11} может быть выбран из водорода и замещенного или незамещенного C_1 - C_6 алкила. R_{11} может представлять собой метил или изобутил. R_{11} может представлять собой метил, а n равен 1 (это соединение также называют соединением общей формулы III).

R_1 , R_5 , R_9 и R_{15} могут быть независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1 - C_6 алкила. R_1 может быть выбран из *втор*-бутила и изопропила, R_5 может представлять собой изобутил, R_9 может представлять собой *пара*-метоксибензил, а R_{15} может быть выбран из метила и бензила.

R_8 , R_{10} , R_{12} и R_{16} могут быть независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1 - C_6 алкила. R_8 , R_{10} и R_{12} могут представлять собой метил, а R_{16} может представлять собой водород.

R_6 и R_{14} могут быть независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1 - C_6 алкила. R_6 может быть выбран из водорода и метила, а R_{14} может представлять собой водород.

R_7 и R_{13} могут быть независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1 - C_6 алкила. R_7 может представлять собой метил, а R_{13} может быть выбран из водорода, метила, изопропила, изобутила и 3-амино-3-оксопропила.

R₆ и R₇ и/или R₁₃ и R₁₄ вместе с соответствующим атомом N и атомом C, к которым они присоединены, могут образовывать замещенную или незамещенную пирролидиновую группу.

R₂ может быть выбран из водорода, замещенного или незамещенного C₁-C₆алкила и COR_a, где R_a может представлять собой замещенный или незамещенный C₁-C₆алкил. R₂ может представлять собой водород.

R₁₇ может быть выбран из водорода, COR_a, COOR_a, CONHR_b, (C=S)NHR_b и SO₂R_c, где каждый R_a, R_b и R_c может быть независимо выбран из замещенного или незамещенного C₁-C₆алкила, замещенного или незамещенного C₂-C₆алкенила, замещенного или незамещенного C₂-C₆алкинила, замещенного или незамещенного арила и замещенной или незамещенной гетероциклической группы. R₁₇ может быть выбран из водорода, COOбензила, COбензо[b]тиофен-2-ила, группы SO₂(*пара*-метилфенил), COCOCH₃ и COOC(CH₃)₃.

X может представлять собой NH. X может представлять собой O. Y может представлять собой CO. Y может представлять собой -COCH(CH₃)CO-.

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

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

ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Изобретение дополнительно описано в следующих неограничивающих фигурах:

На **Фиг. 1** показано, что трансактивация NF-κB в ответ на активацию Toll-подобных рецепторов ингибируется PLD. Моноцитарные клетки человека (THP-1) стабильно трансфицировали плазмидой NF-κB-Luc, и (A) уровни трансактивации NF-κB измеряли в присутствии и в отсутствие PLD. (B) Цитотоксичность, индуцированную соединением, тестировали с помощью МТТ-анализа (метилтетразолиевый тест) пролиферации клеток. Культуры подвергали воздействию PLD в концентрации 100 нМ в течение 6 часов. RQ - резиквимод в концентрации 10 мкг/мл. LPS-B5 - липополисахарид *Escherichia coli* 055:B5 (LPS-B5) в концентрации 10 мкг/мл. Poly I:C - полиинозиново-полицитидиловая кислота в концентрации 500 мкг/мл. TNF-α использовали в качестве положительного контроля. *** p менее 0,001; ** p менее 0,01.

На **Фиг. 2** показано, что трансактивация NF-κB в ответ на активацию Toll-подобных рецепторов приводит к усилению секреции провоспалительных цитокинов: IL-1, IL-6, IL-8 и TNF-α. Культуры подвергали воздействию PLD в концентрации 100 нМ или DMSO (диметилсульфоксид) в течение 6 часов. Через 6 часов после обработки секретируемые цитокины анализировали с помощью твердофазного ИФА (иммуноферментный анализ). TNF-α использовали в качестве положительного контроля. *** p менее 0,001; ** p менее 0,01.

На **Фиг. 3** показано *ex-vivo* подавление цитокинов IL-6, IL-10 и TNF-α с помощью PLD.

На **Фиг. 4** показано снижение количества классически активированных макрофагов у сенсibilизированных LPS (липополисахаридом) мышей.

На **Фиг. 5** показаны рентгеновские снимки, показывающие влияние введения PLD на пациента с двусторонней пневмонией.

На **Фиг. 6** показаны рентгеновские снимки, показывающие влияние введения PLD на пациента с односторонней пневмонией.

На **Фиг. 7** показаны тесты на С-реактивный белок у пациентов, получавших PLD.

На **Фиг. 8** показан воспалительный профиль в ЖБАЛ (жидкость бронхоальвеолярного лаважа) мышей, инфицированных вирусом гриппа, при лечении (PR8) PLD или без него (PC).

На **Фиг. 9** показано влияние предварительной обработки плитидепсином (APL) в концентрации 1 нМ, 10 нМ и 50 нМ на секрецию провоспалительных цитокинов IL6 (a), IL8 (b), IL1β (c) и TNF-α (d). (e) показано влияние обработки PLD в концентрации 1 нМ, 10 нМ и 50 нМ на жизнеспособность клеток (в виде процента от контроля). В момент времени 0 клетки THP-1 обрабатывали 1 нМ, 10 нМ или 50 нМ APL или DMSO (0,2%), а затем стимулировали резиквимодом в концентрации 2,5 или 5 мкг/мл через 8 часов. Через 24 часа измеряли цитокины или жизнеспособность клеток.

На **Фиг. 10** показано влияние обработки плитидепсином на продукцию провоспалительных цитокинов, IL-6 (c), IL-10 (d) and TNF-α (e), опосредованную LPS-B5, в клетках CD45+, выделенных из жидкости бронхоальвеолярного лаважа (ЖБАЛ). (a) показан процент живых клеток CD45+ в контроле, клеток, обработанных LPS-B5, и клеток, обработанных LPS-B5 и PLD. (b) показана выживаемость клеток в виде процента от контроля в клетках, обработанных LPS-B5, и клетках, обработанных LPS-B5 и PLD.

На **Фиг. 11** показано влияние обработки плитидепсином на продукцию провоспалительных цитокинов TNF- α , опосредованную резиквимодом.

На **Фиг. 12** показано влияние плитидепсина на рекрутирование альвеолярных макрофагов у мышей, получавших LPS. Кривые концентрация-время (среднее $\pm$ SD (стандартное отклонение)) плитидепсина в плазме и легких мышей (a), крыс (b) и хомяков (c) после однократного внутривенного введения дозы 1,0, 0,2 и 0,2 мг/кг, соответственно.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Следующие воплощения применимы ко всем аспектам настоящего изобретения.

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

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

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

«Пациент» включает людей, не относящихся к человеку млекопитающих (например собак, кошек, кроликов, крупного рогатого скота, лошадей, овец, коз, свиней, оленей и тому подобных) и не млекопитающих (например птиц и тому подобных).

Плитидепсин (PLD) представляет собой циклический депсипептид, первоначально выделенный из морских оболочников *Aplidium albicans*. PLD также известен как аплидин. Такие термины используются здесь взаимозаменяемо. Аналогами PLD являются те аналоги, которые определены здесь. В предпочтительном воплощении настоящее изобретение относится к применению PLD.

Авторы обнаружили, что PLD

(1) ингибирует трансактивацию NF- κ B, индуцированную посредством активации Toll-подобных рецепторов;

(2) ингибирует секрецию провоспалительных цитокинов, таких как IL-1, IL-6, IL-8 и TNF- α , как *in vivo*, так и *ex vivo*; и

(3) ингибирует активацию макрофагов.

Эти свойства означают, что PLD обладает особой эффективностью при лечении аутоиммунных состояний. Информацию, относящуюся здесь к PLD, можно считать применимой к соединениям по изобретению (другим аналогам PLD). Как показано в примерах, авторы обнаружили, что PLD может ингибировать секрецию провоспалительных цитокинов, тем самым снижая уровни воспаления, которое является основным фактором патогенеза аутоиммунных состояний. В частности, авторы обнаружили, что PLD может ингибировать трансактивацию NF- κ B через Toll-подобные рецепторы (TLR) и последующую секрецию провоспалительных цитокинов. Например, авторы показали, что PLD может ингибировать трансактивацию NF- κ B посредством активации TLR3, TLR4, TLR7 и TLR8, все из которых, как было показано, активируются эндогенными лигандами.

Как поясняется здесь, при аутоиммунных состояниях Toll-подобные рецепторы активируются в ответ на ряд эндогенных лигандов, которые высвобождаются из поврежденных тканей. Связывание лигандов TLR (то есть стимулов) с Toll-подобным рецептором (TLR) запускает нисходящий сигнальный каскад, который в конечном итоге приводит к активации ядерного фактора транскрипции каппа-B (NF- κ B), который контролирует индукцию провоспалительных цитокинов и хемокинов. Авторы обнаружили, что PLD значительно блокирует этот каскад, приводя в результате к снижению высвобождения провоспалительных цитокинов. В результате, в одном примере, PLD может быть использован для предупреждения аутоиммунного состояния после активации Toll-подобных рецепторов.

Авторы также обнаружили, что PLD значительно снижает уровни активации и/или рекрутирования макрофагов. Активированные макрофаги являются ключевым медиатором воспаления, и ингибирование активации макрофагов играет центральную роль в лечении воспаления и, следовательно, патологии аутоиммунного состояния.

Соответственно, соединения, как определено здесь (включая PLD и дидемнин В), особенно PLD, могут быть использованы для лечения аутоиммунного состояния, являющегося результатом активации Toll-подобных рецепторов.

Настоящее изобретение может быть полезно в отношении следующих аутоиммунных состояний:

Ревматоидный артрит (РА)

Ревматоидный артрит (РА) представляет собой хроническое воспалительное аутоиммунное заболевание, характеризующееся прогрессирующим и необратимым поражением суставов. РА является наиболее распространенным аутоиммунным заболеванием, поражающим около 1% населения. В настоящее время лекарства нет, и до 40% населения не реагируют на существующие методы лечения. РА характеризуется персистирующим воспалением, вызванным пролиферацией фибробластов синовиальной ткани, а также Т- и В-клеток, нейтрофилов и моноцитов, мигрирующих в суставы. Было продемонстрировано, что различные эндогенные лиганды TLR, включая фибриноген, HSP60 (белок теплового шока 60), 70, EDA фибронектина, HMGB1 (белок 1 высокомолекулярной группы), гиалуронат и HSP22, присутствуют в воспаленных суставах пациентов с РА, и было показано, что они приводят к активации TLR: TLR2, TLR4, TLR5 и TLR7. Подразумевают, что активация этих TLR ответственна за постоянную экспрессию провоспалительных цитокинов и активированных макрофагов, наблюдаемую в суставах при ревматоидном артрите, при этом разные члены семейства TLR вовлекаются на разных стадиях заболевания. В соответствии с активацией TLR в патогенезе РА активированный NF- κ B также был обнаружен в синовиальной ткани человека как на ранних, так и на поздних стадиях заболевания, и полагают, что он отвечает как за инициацию, так и за сохранение хронического воспаления, наблюдаемого при РА. В частности, считается, что многие из этих лигандов индуцируются при клеточном повреждении, деградациии внеклеточного матрикса и активированной активности макрофагов, которые являются отличительными особенностями РА. Следовательно, микроокружение РА может способствовать устойчивому и прогрессирующему заболеванию за счет дальнейшего высвобождения этих лигандов. Интересно, что фрагменты двухцепочечной вирусной РНК, высвобождаемые некротическими клетками, являются эффективным лигандом TLR и были обнаружены в синовиальной жидкости пациентов с РА, что подтверждает гипотезу о том, что

инфицирование микроорганизмами может запускать или поддерживать ответы TLR при РА, вызывая развитие и обострение заболевания.

Системная красная волчанка (СКВ)

Системная красная волчанка (СКВ) или волчанка представляет собой тяжелое, рецидивирующее, ремиттирующее аутоиммунное заболевание, которое вызывает ряд симптомов у пораженных пациентов, включая боль в суставах, кожную сыпь и утомляемость. В некоторых случаях заболевание также поражает почки, а также другие органы. Было обнаружено, что сыворотка пациентов содержит лиганды TLR и, в частности, TLR7, TLR8 и TLR9. Периферические дендритные клетки признаны ключевыми факторами патологии РА, и эти клетки экспрессируют как TLR7, так и TLR9, что означает, что они могут быть активированы такими лигандами, чтобы вызвать передачу сигналов, связанных с заболеванием. В частности, у пациентов с СКВ аутореактивные клетки продуцируют большое количество аутоантител против собственных ядерных антигенов, образуя иммунные комплексы с собственными нуклеиновыми кислотами в сыворотке. Эти комплексы действуют как лиганды TLR, особенно для TLR7 и TLR9, активируя путь TLR и вызывая хроническое воспаление.

Как и в случае с ревматоидным артритом, одноцепочечная вирусная РНК также была обнаружена у пациентов с волчанкой, а также у пациентов, страдающих другими аутоиммунными заболеваниями, такими как склеродермия и синдром Шегрена, и является эффективным лигандом для TLR 7 и 8. Бактериальная ДНК или ДНК ВПГ (вирус простого герпеса) также была обнаружена у пациентов с волчанкой и является эффективным лигандом TLR9. Многочисленные экспериментальные системы в настоящее время продемонстрировали, что микробные лиганды TLR способны вызывать заболевание в экспериментальных моделях артрита, рассеянного склероза, экспериментального аллергического энцефаломиелита (ЭАЭ), аутоиммунного миокардита, диабета 1 типа и атеросклероза. Как и в предыдущем случае, это в значительной степени подтверждает участие микроорганизмов в активации TLR, вызывающей аутоиммунное заболевание.

Рассеянный склероз (РС)

Рассеянный склероз (РС) представляет собой аутоиммунное заболевание, при котором поражение ЦНС возникает в результате инфильтрации периваскулярных иммунных клеток, связанной с повреждением миелина, олигодендроцитов и нейронов. Клинически симптомы включают онемение, слабость, потерю мышечной координации

и проблемы со зрением, речью и контролем над мочевым пузырем. Патология рассеянного склероза включает две основные фазы: во-первых, начальную иммунную активацию, когда запускается аутоиммунный ответ, и, во-вторых, рекрутирование иммунных клеток в ЦНС, где происходит разрушение тканей и демиелинизация. Исследования показывают, что TLR играют важную роль в модулировании РС, а также экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита (ЭАЭ), животной модели РС. Интересно, что наряду с рекрутированными иммунными клетками, как было обнаружено, резидентная микроглия в ЦНС также экспрессирует ряд TLR, и что экспрессия этих TLR увеличивается в ответ на медиаторы воспаления. Было показано, что эти клетки жизненно важны для образования и разрастания воспалительных бляшек в ЦНС во время рассеянного склероза, и вероятно, они распространяют заболевание посредством прогрессирующей активации этих рецепторов.

Склеродермия

Склеродермия, или системный склероз, представляет собой хроническое заболевание соединительной ткани, обычно классифицируемое как аутоиммунное ревматическое заболевание. Склеродермия вызывается в результате атаки иммунной системой соединительных тканей под кожей и вокруг внутренних органов и кровеносных сосудов. Это вызывает рубцевание и утолщение тканей в этих областях. Некоторые типы склеродермии протекают относительно легко и могут со временем пройти сами собой, в то время как другие могут привести к серьезным и опасным для жизни проблемам, от которых нет лекарства. Было установлено, что TLR играют решающую роль в патогенезе склеродермии, когда продукты поврежденных клеток, то есть эндогенные лиганды TLR, запускают передачу сигналов TLR, которая стимулирует воспалительную и фибротическую активность. В частности, полагают, что передача сигналов TLR может стимулировать высвобождение TIMP (тканевые ингибиторы металлопротеиназ), вызывая фиброз при склеродермии.

Синдром Шегрена

Синдром Шегрена представляет собой аутоиммунное заболевание, которое часто сосуществует с ревматоидным артритом и/или волчанкой и в первую очередь поражает слюнные и слезные железы. Эти железы помогают организму создавать влагу в глазах и в ротовой полости в виде слюны и слез. Таким образом, у человека с синдромом Шегрена организм не вырабатывает достаточно влаги. Полагают, что TLR могут лежать в основе этого расстройства, при этом ряд предполагаемых эндогенных лигандов TLR

обнаружены у пациентов с синдромом Шегрена или в мышинных моделях заболевания, включая бигликан, декорин, версикан и фибронектин. Также было обнаружено, что экспрессия TLR повышена и гиперчувствительна к лигированию в клетках периферической крови у пациентов, страдающих синдромом Шегрена.

Аутоиммунный миокардит

Аутоиммунный миокардит представляет собой аутоиммунное заболевание, поражающее сердце. Состояние характеризуется воспалением сердечной мышцы и не влияет на какой-либо другой орган. И снова оказывается, что передача сигналов TLR является важным механизмом, лежащим в основе патологии миокардита. Например, мыши, нокаутные по MyD88, являющемуся канонической адапторной молекулой, которая облегчает далее по ходу передачу сигналов TLR, защищены от заболевания в индуцированной модели миокардита. Было высказано предположение, что сердечный миозин человека может действовать как эндогенный лиганд TLR, чтобы запускать нижеследующие провоспалительные ответы посредством TLR2 и TLR8.

Диабет 1 типа

Диабет 1 типа, или инсулинозависимый диабет, представляет собой аутоиммунное заболевание, при котором происходит разрушение бета-клеток поджелудочной железы, вырабатывающих инсулин. Это приводит к тому, что у пациента может вырабатываться только очень небольшое количество инсулина или вообще не может вырабатываться инсулин, который является гормоном, необходимым для эффективного контроля уровня сахара в крови. Было показано, что вирусная инфекция может вызывать это разрушение клеток посредством активации иммунной системы, индуцированной TLR9, и что повышающая регуляция TLR может увеличить проявления заболевания. Это демонстрирует важную роль передачи сигналов TLR в патогенезе диабета 1 типа.

Атеросклероз

Атеросклероз представляет собой состояние, при котором накопление жиров, холестерина и других веществ внутри и на стенках артерий (бляшки) может ограничивать кровоток. Эти бляшки могут разрываться, приводя к образованию тромба и вызывая сопутствующие состояния, такие как инсульт или инфаркт миокарда, и, в частности, вызывая сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ). В настоящее время считают, что атеросклероз является воспалительным аутоиммунным заболеванием, и, в частности, полагают, что TLR являются ключевыми факторами, ответственными за

развитие патологического процесса. Существует множество доказательств, подтверждающих это на моделях заболеваний, включая нокауты по MyD88, TLR2 и TLR4, которые способны уменьшать или предупреждать атеросклероз в моделях мышей. Полагают, что TLR2 и TLR4 активны во время болезни и могут быть активированы с помощью ряда липопептидов (Falck-Hansen *et al*, 2013).

С учетом вышеизложенного становится ясно, что передача сигналов TLR является основной движущей силой аутоиммунитета, независимо от того, происходит ли это в ответ на эндогенные лиганды TLR, микробные лиганды TLR или их комбинацию, и что во многих случаях микроокружение заболевания может обеспечивать положительную обратную связь для поддержания передачи сигналов TLR.

Соответственно, соединения по настоящему изобретению (включая PLD) могут быть использованы для лечения аутоиммунных состояний.

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

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

Предпочтительные алкенильные и алкинильные группы в соединениях по настоящему изобретению могут быть разветвленными или неразветвленными, имеют одну или более чем одну ненасыщенную связь и от 2 до приблизительно 12 атомов углерода. Еще один предпочтительный класс алкенильных и алкинильных групп имеет от 2 до приблизительно 6 атомов углерода. Еще более предпочтительными являются алкенильные и алкинильные группы, имеющие 2, 3 или 4 атома углерода. Используемые здесь термины алкенил и алкинил, если не оговорено особо, относятся как к циклическим, так и к нециклическим группам, однако циклические группы будут содержать по меньшей мере три члена углеродного кольца.

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

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

пиперидин-4-ил и пиперидин-5-ил, морфолинил, тиоморфолинил, тиоксанил, пиперазинил, азетидинил, оксетанил, тиетанил, гомопиперидил, оксепанил, тиепанил, оксазепинил, диазепинил, тиазепинил, 1,2,3,6-тетрагидропиридил, 2-пирролинил, 3-пирролинил, дигидропирролил, индолинил, 2Н-пиранил, 4Н-пиранил, диоксанил, 1,3-диоксоланил, пиразолинил, дитианил, дитиоланил, дигидропиранил, дигидротиенил, дигидрофуранил, пиразолидинил, имидазолинил, имидазолидинил, 3-азабицикло[3.1.0]гексил, 3-азабицикло[4.1.0]гептил, 3Н-индолил и хинолизинил.

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

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

Термин «фармацевтически приемлемые соли» относится к любой соли, которая при введении пациенту способна (прямо или опосредованно) образовывать соединение, как описано здесь. Следует понимать, что соли, не являющиеся фармацевтически приемлемыми, также входят в объем изобретения, поскольку они могут быть использованы при 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, общепринятыми химическими способами. Как правило, такие соли получают, например,

посредством взаимодействия свободных кислотных или основных форм этих соединений со стехиометрическим количеством соответствующего основания или кислоты в воде, или в органическом растворителе, или в их смеси. Как правило, предпочтительными являются неводные среды, такие как эфир, этилацетат, этанол, изопропанол или ацетонитрил. Примеры солей присоединения кислот включают соли присоединения неорганических кислот, такие как, например, гидрохлорид, гидробромид, гидройодид, сульфат, нитрат, фосфат, и соли присоединения органических кислот, такие как, например, ацетат, трифторацетат, малеат, фумарат, цитрат, оксалат, сукцинат, тартрат, малат, манделат, метансульфонат и *пара*-толуолсульфонат. Примеры солей присоединения оснований включают неорганические соли, такие как, например, соли натрия, калия, кальция и аммония, и органические соли щелочных металлов, такие как, например, соли этилендиамина, этаноламина, N,N-диалкиленэтанолamina, триэтанолamina и основных аминокислот.

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

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

соединений, упомянутых здесь, и их смеси, рассматриваются в объеме настоящего изобретения.

В соединениях общей формулы **I** и **II** особенно предпочтительные R_1 , R_5 , R_9 , R_{11} и R_{15} независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1 - C_6 алкила. Более предпочтительные R_1 , R_5 , R_9 , R_{11} и R_{15} независимо выбраны из водорода, замещенного или незамещенного метила, замещенного или незамещенного этила, замещенного или незамещенного *n*-пропила, замещенного или незамещенного изопропила и замещенного или незамещенного бутила, включая замещенный или незамещенный *n*-бутил, замещенный или незамещенный *трет*-бутил, замещенный или незамещенный изобутил и замещенный или незамещенный *втор*-бутил. Предпочтительными заместителями указанных групп являются OR' , $=O$, SR' , SOR' , SO_2R' , NO_2 , NHR' , $NR'R'$, $=N-R'$, $NHCOR'$, $N(COR')_2$, $NHSO_2R'$, $NR'C(=NR')NR'R'$, CN , галоген, COR' , $COOR'$, $OCOR'$, $CONHR'$, $CONR'R'$, $CONHR'$, $CONR'R'$, замещенный или незамещенный C_1 - C_{12} алкил, замещенный или незамещенный C_2 - C_{12} алкенил, замещенный или незамещенный C_2 - C_{12} алкинил, замещенный или незамещенный арил и замещенная или незамещенная гетероциклическая группа, где каждая из групп R' независимо выбрана из группы, состоящей из водорода, OH , NO_2 , NH_2 , SH , CN , галогена, $CONH$, CO алкила, CO_2H , замещенного или незамещенного C_1 - C_{12} алкила, замещенного или незамещенного C_2 - C_{12} алкенила, замещенного или незамещенного C_2 - C_{12} алкинила, замещенного или незамещенного арила и замещенной или незамещенной гетероциклической группы. Когда такие группы сами замещены, заместители могут быть выбраны из приведенного выше списка. Наиболее предпочтительными группами R_1 , R_5 , R_9 , R_{11} и R_{15} являются водород, метил, *n*-пропил, изопропил, изобутил, *втор*-бутил, 4-аминобутил, 3-амино-3-оксопропил, бензил, *пара*-метоксибензил, *пара*-гидроксibenзил и циклогексилметил. В частности, особенно предпочтительный R_1 выбран из *втор*-бутила и изопропила, причем наиболее предпочтительным является *втор*-бутил. Особенно предпочтительный R_5 выбран из изобутила и 4-аминобутила, причем наиболее предпочтительным является изобутил. Особенно предпочтительным R_{11} является метил и изобутил. Особенно предпочтительный R_9 выбран из *пара*-метоксибензила, *пара*-гидроксibenзила и циклогексилметила, причем наиболее предпочтительным является *пара*-метоксибензил. Особенно предпочтительный R_{15} выбран из метила, *n*-пропила и бензила, причем наиболее предпочтительными являются метил и бензил.

В соединениях общей формулы **III** особенно предпочтительные R_1 , R_5 , R_9 и R_{15} независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1 - C_6 алкила. Более предпочтительные R_1 , R_5 , R_9 и R_{15} независимо выбраны из водорода, замещенного или незамещенного метила, замещенного или незамещенного этила, замещенного или незамещенного *n*-пропила, замещенного или незамещенного изопропила и замещенного или незамещенного бутила, включая замещенный или незамещенный *n*-бутил, замещенный или незамещенный *трет*-бутил, замещенный или незамещенный изобутил и замещенный или незамещенный *втор*-бутил. Предпочтительными заместителями указанных групп являются OR' , $=O$, SR' , SOR' , SO_2R' , NO_2 , NHR' , $NR'R'$, $=N-R'$, $NHCOR'$, $N(COR')_2$, $NHSO_2R'$, $NR'C(=NR')NR'R'$, CN , галоген, COR' , $COOR'$, $OCOR'$, $CONHR'$, $CONR'R'$, $CONHR'$, $CONR'R'$, замещенный или незамещенный C_1 - C_{12} алкил, замещенный или незамещенный C_2 - C_{12} алкенил, замещенный или незамещенный C_2 - C_{12} алкинил, замещенный или незамещенный арил и замещенная или незамещенная гетероциклическая группа, где каждая из групп R' независимо выбрана из группы, состоящей из водорода, OH , NO_2 , NH_2 , SH , CN , галогена, COH , CO алкила, CO_2H , замещенного или незамещенного C_1 - C_{12} алкила, замещенного или незамещенного C_2 - C_{12} алкенила, замещенного или незамещенного C_2 - C_{12} алкинила, замещенного или незамещенного арила и замещенной или незамещенной гетероциклической группы. Когда такие группы сами замещены, заместители могут быть выбраны из приведенного выше списка. Наиболее предпочтительными группами R_1 , R_5 , R_9 и R_{15} являются водород, метил, *n*-пропил, изопропил, изобутил, *втор*-бутил, 4-аминобутил, 3-амино-3-оксипропил, бензил, *пара*-метоксибензил, *пара*-гидроксibenзил и циклогексилметил. В частности, особенно предпочтительный R_1 выбран из *втор*-бутила и изопропила, причем наиболее предпочтительным является *втор*-бутил. Особенно предпочтительный R_5 выбран из изобутила и 4-аминобутила, причем наиболее предпочтительным является изобутил. Особенно предпочтительный R_9 выбран из *пара*-метоксибензила, *пара*-гидроксibenзила и циклогексилметила, причем наиболее предпочтительным является *пара*-метоксибензил. Особенно предпочтительный R_{15} выбран из метила, *n*-пропила и бензила, причем наиболее предпочтительными являются метил и бензил.

В соединениях общей формулы **I**, **II** и **III** особенно предпочтительные R_8 , R_{10} , R_{12} и R_{16} независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1 - C_6 алкила. Более предпочтительные R_8 , R_{10} , R_{12} и R_{16} независимо выбраны из водорода, метила, этила, *n*-пропила, изопропила и бутила, включая *n*-бутил, *трет*-бутил,

изобутил и *втор*-бутил, и даже более предпочтительно они независимо выбраны из водорода и метила. В частности, особенно предпочтительными R_8 , R_{10} и R_{12} является метил, а особенно предпочтительным R_{16} является водород.

В соединениях общей формулы **I** и **III** особенно предпочтительные R_3 и R_4 независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1 - C_6 алкила. Более предпочтительные R_3 и R_4 независимо выбраны из водорода, замещенного или незамещенного метила, замещенного или незамещенного этила, замещенного или незамещенного *n*-пропила, замещенного или незамещенного изопропила и замещенного или незамещенного бутила, включая замещенный или незамещенный *n*-бутил, замещенный или незамещенный *трет*-бутил, замещенный или незамещенный изобутил и замещенный или незамещенный *втор*-бутил. Предпочтительными заместителями указанных групп являются OR' , $=O$, SR' , SOR' , SO_2R' , NO_2 , NHR' , $NR'R'$, $=N-R'$, $NHCOR'$, $N(COR')_2$, $NHSO_2R'$, $NR'C(=NR')NR'R'$, CN , галоген, COR' , $COOR'$, $OCOR'$, $CONHR'$, $CONR'R'$, $CONHR'$, $CONR'R'$, замещенный или незамещенный C_1 - C_{12} алкил, замещенный или незамещенный C_2 - C_{12} алкенил, замещенный или незамещенный C_2 - C_{12} алкинил, замещенный или незамещенный арил и замещенная или незамещенная гетероциклическая группа, где каждая из групп R' независимо выбрана из группы, состоящей из водорода, OH , NO_2 , NH_2 , SH , CN , галогена, $CONH$, CO алкила, CO_2H , замещенного или незамещенного C_1 - C_{12} алкила, замещенного или незамещенного C_2 - C_{12} алкенила, замещенного или незамещенного C_2 - C_{12} алкинила, замещенного или незамещенного арила и замещенной или незамещенной гетероциклической группы. Когда такие группы сами замещены, заместители могут быть выбраны из приведенного выше списка. Наиболее предпочтительными группами R_3 и R_4 являются водород, метил, изопропил и *втор*-бутил. В частности, особенно предпочтительный R_3 выбран из метила и изопропила, а особенно предпочтительным R_4 является метил или водород.

В одном воплощении соединений общей формулы **I**, **II** и **III** особенно предпочтительные R_6 и R_7 независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1 - C_6 алкила. Более предпочтительный R_7 выбран из водорода, замещенного или незамещенного метила, замещенного или незамещенного этила, замещенного или незамещенного *n*-пропила, замещенного или незамещенного изопропила и замещенного или незамещенного бутила, включая замещенный или незамещенный *n*-бутил, замещенный или незамещенный *трет*-бутил, замещенный или

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

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

В одном воплощении соединений общей формулы **I**, **II** и **III** особенно предпочтительные R_{13} и R_{14} независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1 - C_6 алкила. Более предпочтительный R_{13} выбран из водорода, замещенного или незамещенного метила, замещенного или незамещенного этила, замещенного или незамещенного *n*-пропила, замещенного или незамещенного изопропила и замещенного или незамещенного бутила, включая замещенный или незамещенный *n*-бутил, замещенный или незамещенный *трет*-бутил, замещенный или

незамещенный изобутил и замещенный или незамещенный *втор*-бутил. Предпочтительными заместителями указанных групп являются OR', =O, SR', SOR', SO₂R', NO₂, NHR', NR'R', =N-R', NHCOR', N(COR')₂, NHSO₂R', NR'C(=NR')NR'R', CN, галоген, COR', COOR', OCOR', OCONHR', OCONR'R', CONHR', CONR'R', замещенный или незамещенный C₁-C₁₂алкил, замещенный или незамещенный C₂-C₁₂алкенил, замещенный или незамещенный C₂-C₁₂алкинил, замещенный или незамещенный арил и замещенная или незамещенная гетероциклическая группа, где каждая из групп R' независимо выбрана из группы, состоящей из водорода, OH, NO₂, NH₂, SH, CN, галогена, COH, COалкила, CO₂H, замещенного или незамещенного C₁-C₁₂алкила, замещенного или незамещенного C₂-C₁₂алкенила, замещенного или незамещенного C₂-C₁₂алкинила, замещенного или незамещенного арила и замещенной или незамещенной гетероциклической группы. Когда такие группы сами замещены, заместители могут быть выбраны из приведенного выше списка. Более предпочтительный R₁₄ выбран из водорода, метила, этила, *n*-пропила, изопропила и бутила, включая *n*-бутил, *трет*-бутил, изобутил и *втор*-бутил. Наиболее предпочтительный R₁₃ выбран из водорода, метила, изопропила, изобутила и 3-амино-3-оксoproпила, а наиболее предпочтительным R₁₄ является водород.

В другом воплощении соединений общей формулы **I**, **II** и **III** особенно предпочтительно, что R₁₃ и R₁₄ вместе с соответствующим атомом N и атомом C, к которым они присоединены, образуют замещенную или незамещенную гетероциклическую группу. В этом отношении предпочтительная гетероциклическая группа представляет собой гетероалициклическую группу, содержащую один, два или три гетероатома, выбранных из атомов N, O или S, наиболее предпочтительно один атом N, и имеющую от 5 до приблизительно 10 атомов в кольце, наиболее предпочтительно 5, 6 или 7 атомов в кольце. Наиболее предпочтительной является пирролидиновая группа.

В соединениях общей формулы **I**, **II** и **III** особенно предпочтительный R₂ выбран из водорода, замещенного или незамещенного C₁-C₆алкила и COR_a, где R_a представляет собой замещенный или незамещенный C₁-C₆алкил, и даже более предпочтительным R_a является метил, этил, *n*-пропил, изопропил и бутил, включая *n*-бутил, *трет*-бутил, *втор*-бутил и изобутил. Более предпочтительно R₂ представляет собой водород.

В соединениях общей формулы **I**, **II** и **III** особенно предпочтительный R₁₇ выбран из водорода, COR_a, COOR_a, CONHR_b, (C=S)NHR_b и SO₂R_c, где каждый R_a, R_b и R_c

предпочтительно и независимо выбран из замещенного или незамещенного C_1 - C_6 алкила, замещенного или незамещенного C_2 - C_6 алкенила, замещенного или незамещенного C_2 - C_6 алкинила, замещенного или незамещенного арила и замещенной или незамещенной гетероциклической группы. Предпочтительными заместителями указанных групп являются OR' , $=O$, SR' , SOR' , SO_2R' , NO_2 , NHR' , $NR'R'$, $=N-R'$, $NHCOR'$, $N(COR')_2$, $NHSO_2R'$, $NR'C(=NR')NR'R'$, CN , галоген, COR' , $COOR'$, $OCOR'$, $CONHR'$, $CONR'R'$, $CONHR'$, $CONR'R'$, замещенный или незамещенный C_1 - C_{12} алкил, замещенный или незамещенный C_2 - C_{12} алкенил, замещенный или незамещенный C_2 - C_{12} алкинил, замещенный или незамещенный арил и замещенная или незамещенная гетероциклическая группа, где каждая из групп R' независимо выбрана из группы, состоящей из водорода, OH , NO_2 , NH_2 , SH , CN , галогена, COH , CO алкила, CO_2H , замещенного или незамещенного C_1 - C_{12} алкила, замещенного или незамещенного C_2 - C_{12} алкенила, замещенного или незамещенного C_2 - C_{12} алкинила, замещенного или незамещенного арила и замещенной или незамещенной гетероциклической группы. Когда такие группы сами замещены, заместители могут быть выбраны из приведенного выше списка. Наиболее предпочтительными группами R_{17} являются водород, COR_a , $COOR_a$ и SO_2R_c , а водород, COO бензил, CO бензо[b]тиофен-2-ил, SO_2 (*para*-метилфенил), $COCOCH_3$ и $COOC(CH_3)_3$ являются даже более предпочтительными.

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

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

В другом воплощении соединений общей формулы **I** и **II** особенно предпочтительно, что n , r и q равны 0. В другом воплощении особенно предпочтительно, что n равен 1, а r и q равны 0. В другом воплощении особенно предпочтительно, что n и r равны 1, а q равен 0. В другом воплощении особенно предпочтительно, что n , r и q равны 1. В другом воплощении особенно предпочтительно, что n и r равны 1, а q равен 2.

В другом воплощении соединений общей формулы **III** особенно предпочтительно, что r и q равны 0. В другом воплощении особенно предпочтительно,

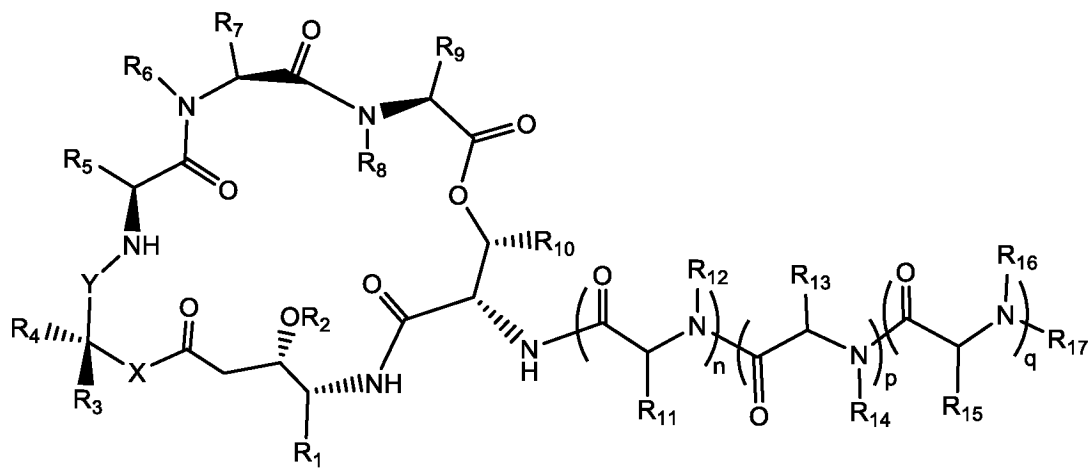
что p равен 1, а q равен 0. В другом воплощении особенно предпочтительно, что p и q равны 1. В другом воплощении особенно предпочтительно, что p равен 1, а q равен 2.

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

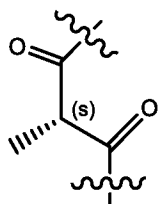
В настоящем описании и определениях, когда в соединениях по изобретению присутствует несколько групп R_a , R_b и R_c , и если это прямо не указано, следует понимать, что каждая из них может независимо отличаться в рамках данного определения, то есть R_a не обязательно одновременно представляет одну и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

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

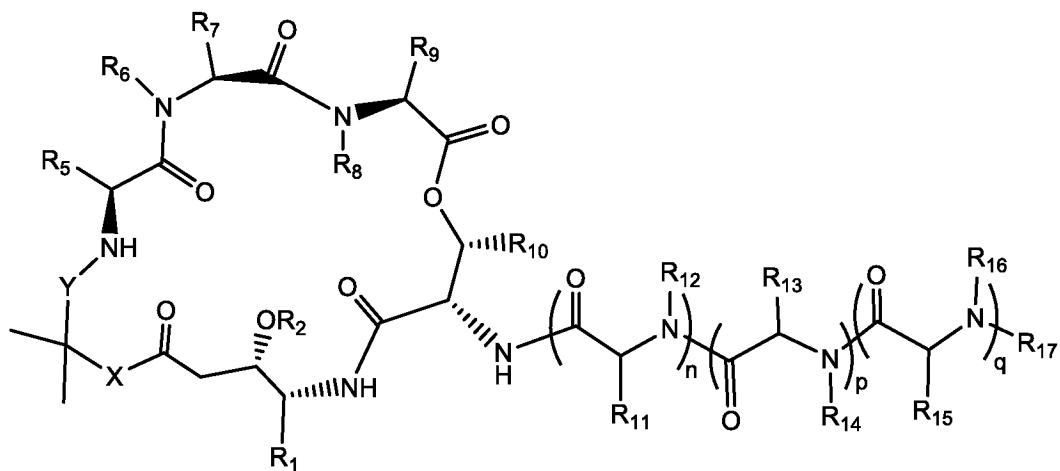
Особенно предпочтительная стереохимическая формула для соединений общей формулы **I** представляет собой



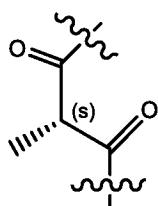
где X , Y , n , p , q и R_1 - R_{17} являются такими, как определено выше, и когда Y представляет собой $-\text{COCH}(\text{CH}_3)\text{CO}-$, он имеет следующую стереохимическую формулу:



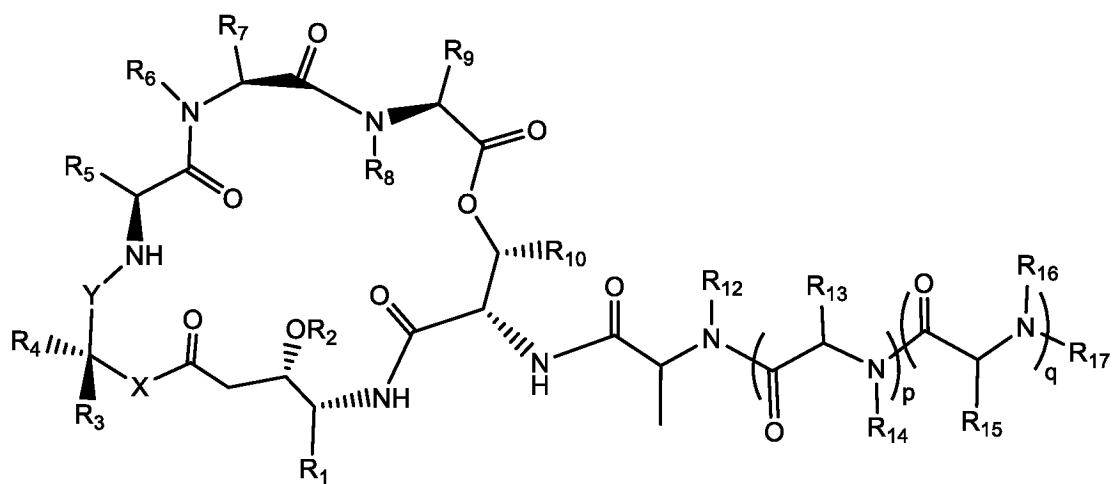
Особенно предпочтительная стереохимическая формула для соединений общей формулы **II** представляет собой



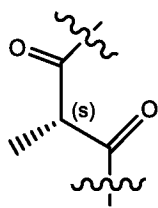
где X, Y, n, p, q, R₁, R₂ и R₅-R₁₇ являются такими, как определено выше, и когда Y представляет собой -COCH(CH₃)CO-, он имеет следующую стереохимическую формулу:



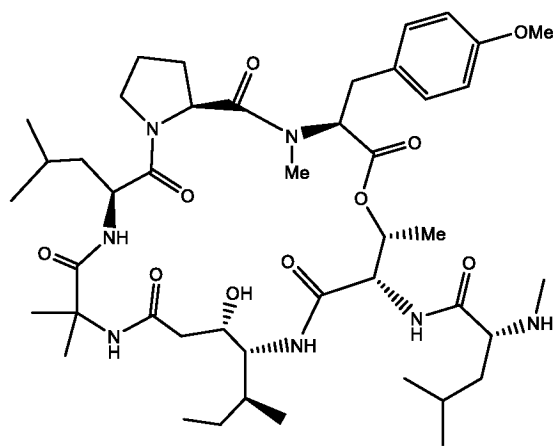
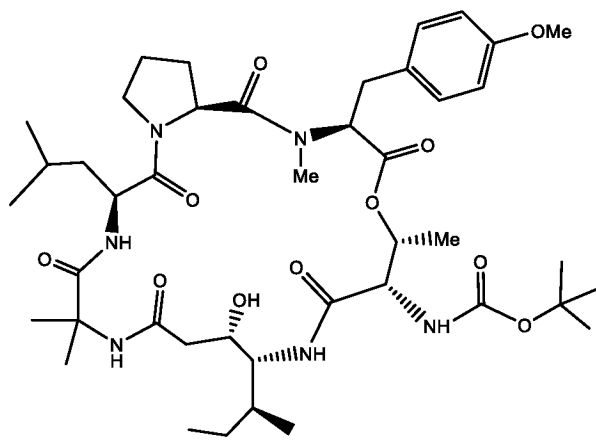
Особенно предпочтительная стереохимическая формула для соединений общей формулы **III** представляет собой

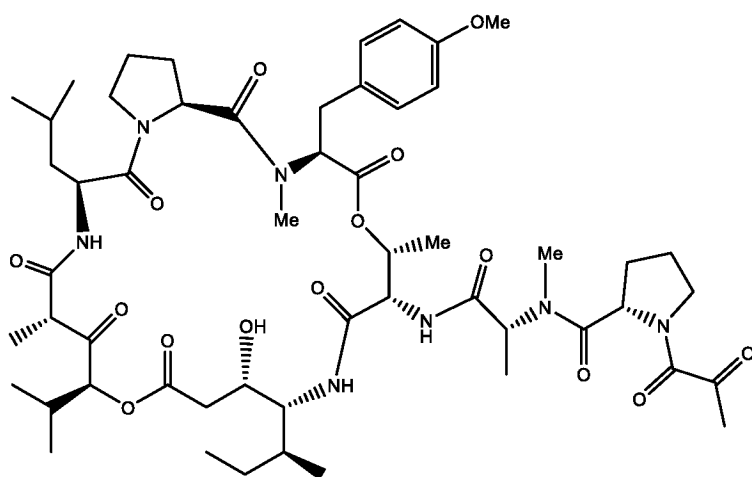
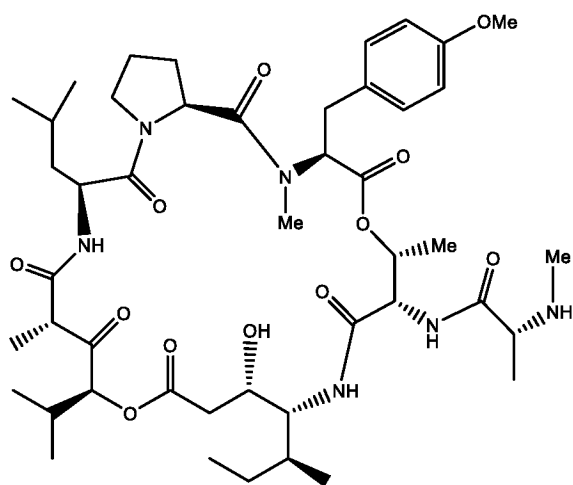


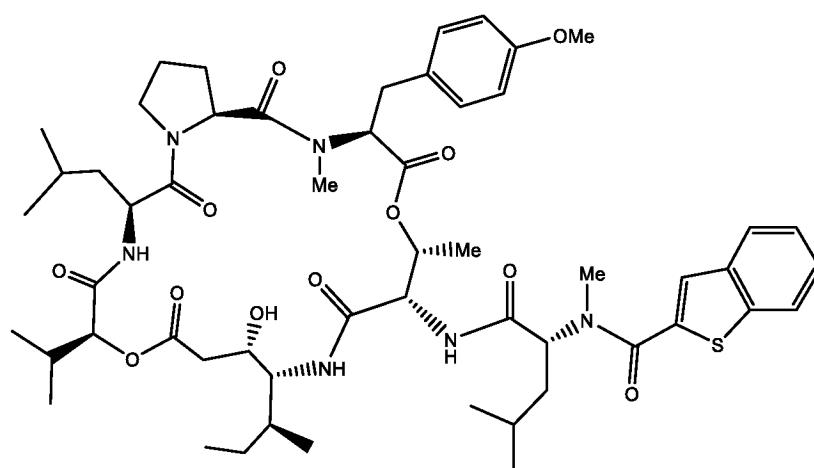
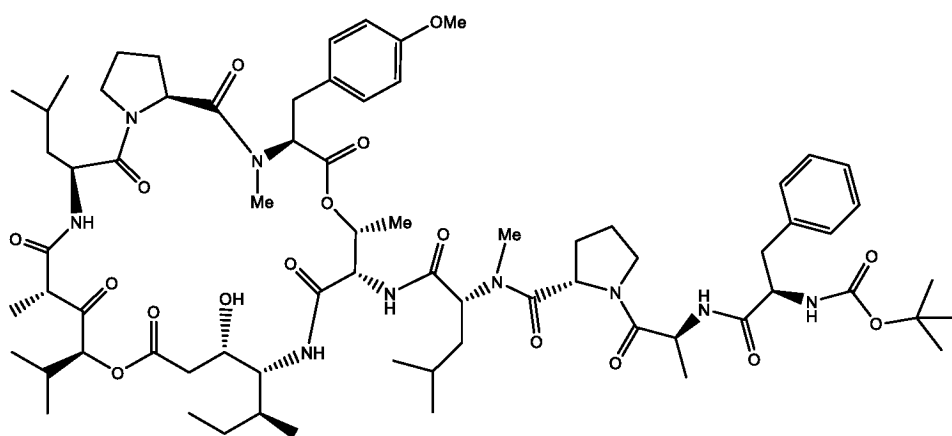
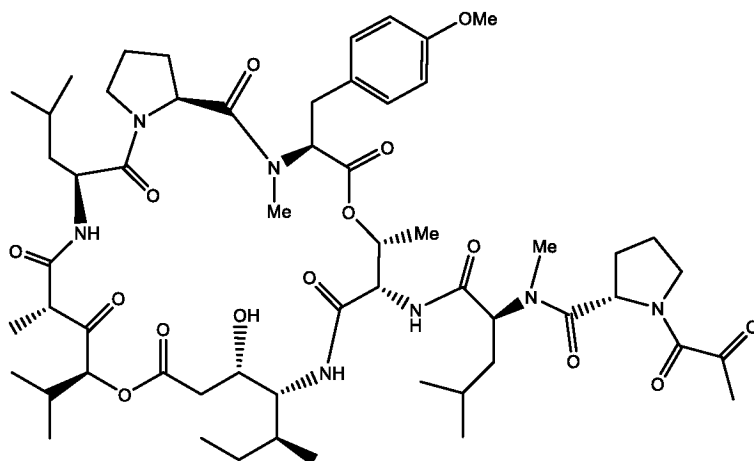
где X, Y, p, q, R₁-R₁₀ и R₁₂-R₁₇ являются такими, как определено выше, и когда Y представляет собой -COCH(CH₃)CO-, он имеет следующую стереохимическую формулу:

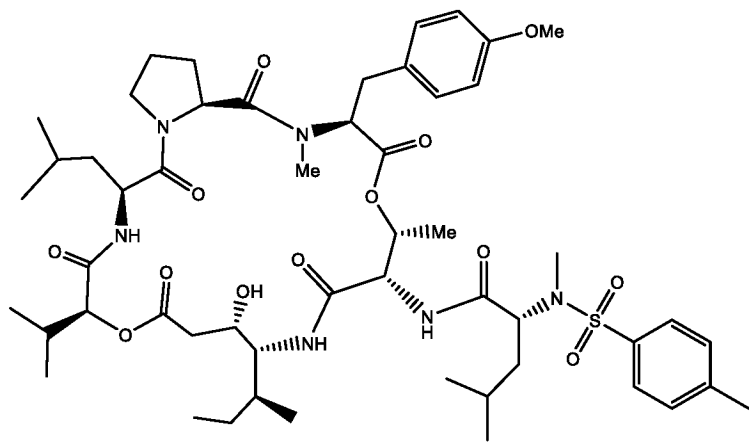


Особенно предпочтительными соединениями по изобретению являются следующие:







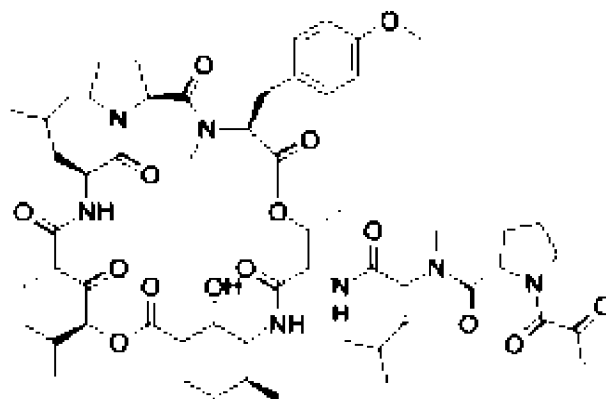


или их фармацевтически приемлемые соли или стереоизомеры.

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

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

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



Информация, относящаяся к соединению общей формулы I, II и III, включает информацию, относящуюся к PLD и дидемнину В. В предпочтительных воплощениях

соединение представляет собой PLD или дидемнин В. Наиболее предпочтительным является PLD.

Согласно настоящему изобретению предложено применение соединения, как определено здесь, и его фармацевтически приемлемых солей или стереоизомеров в лечении аутоиммунного состояния.

В одном аспекте изобретения предложено соединение по настоящему изобретению для применения в лечении аутоиммунного состояния. В другом аспекте изобретения предложено применение соединения по настоящему изобретению в изготовлении лекарственного средства для лечения аутоиммунного состояния. В другом аспекте изобретения предложен способ лечения аутоиммунного состояния, включающий введение нуждающемуся в этом индивидууму терапевтически эффективного количества соединения по настоящему изобретению.

В одном воплощении аутоиммунное состояние вызвано активацией одного или более чем одного Toll-подобного рецептора (TLR) и/или характеризуется усилением передачи сигналов посредством по меньшей мере одного TLR. Усиление передачи сигналов посредством TLR может быть вызвано путем повышения экспрессии по меньшей мере одного TLR. В другом воплощении аутоиммунное состояние вызвано или обусловлено TLR-индуцированной экспрессией цитокинов. В одном воплощении TLR представляет собой TLR-3, TLR4, TLR7 или TLR8. Способы измерения активации передачи сигналов TLR в ответ на известный или возможный агонист TLR должны быть хорошо известны специалисту в данной области техники, но в одном примере уровни трансаактивации NF-κB могут быть использованы в качестве индикатора активации TLR. Как описано здесь, трансаактивация NF-κB может быть измерена при использовании меченной люциферазой трансаактивации NF-κB, как описано в примерах. В другом примере активация TLR может быть определена путем измерения фосфорилирования любой из IRAK1 (киназа, ассоциированная с рецептором IL), IRAK4 и активации TAK1 (киназа-1, активируемая трансформирующим фактором роста β). В данной области техники известны другие индикаторы активации TLR (см., например, Kawai & Akira, 2007, где описан путь TLR).

В другом воплощении аутоиммунное состояние характеризуется повышенными уровнями по меньшей мере одного провоспалительного цитокина и предпочтительно по меньшей мере одного из IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 и CCL-2 (хемокинового лиганда 2

с мотивом С-С), более предпочтительно по меньшей мере одного из IL-1, IL-6, IL-8.

В другом воплощении аутоиммунное состояние выбрано из ревматоидного артрита (РА), рассеянного склероза (РС), системной красной волчанки (СКВ), склеродермии, синдрома Шегрена, аутоиммунного миокардита, диабета 1 типа или атеросклероза. В предпочтительном воплощении аутоиммунное состояние представляет собой РА.

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

Типичная композиция находится в форме порошка для приготовления раствора для инфузий. Например, композиции, как описано в WO 9942125. Например, лиофилизированный препарат соединения по изобретению, содержащий водорастворимое вещество, и, во-вторых, раствор смешанных растворителей для восстановления. Конкретным примером является лиофилизированный препарат PLD и маннита и раствор смешанных растворителей для восстановления, например ПЭГ-35 касторового масла, этанола и воды для инъекций. Каждый флакон, например, может содержать 2 мг PLD. После восстановления каждый мл восстановленного раствора может содержать: 0,5 мг PLD, 158 мг ПЭГ-35 касторового масла и 0,15 мл/мл этанола.

Конкретная дозировка и схема лечения для любого конкретного пациента могут варьироваться и будут зависеть от множества факторов, включая активность конкретного используемого соединения, конкретный используемый препарат, способ применения, возраст, массу тела, общее состояние здоровья, пол, режим питания, время

введения, скорость выведения, комбинацию лекарственных средств, аллергические реакции и тяжесть конкретного заболевания или состояния, подвергаемого лечению.

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

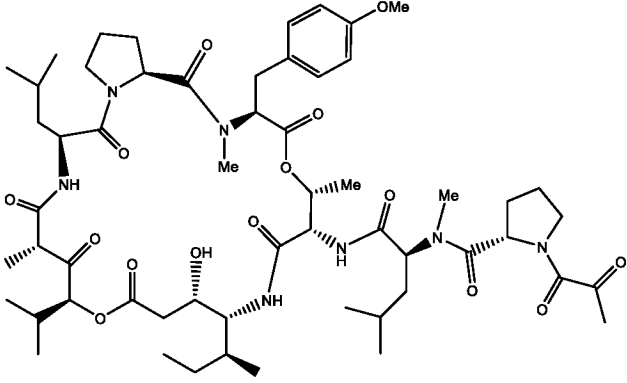
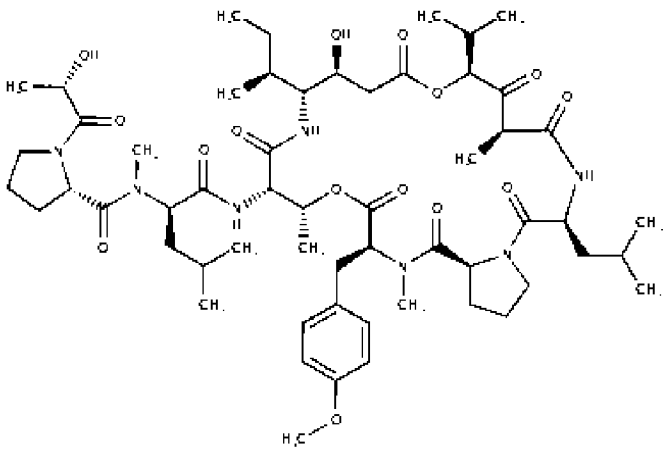
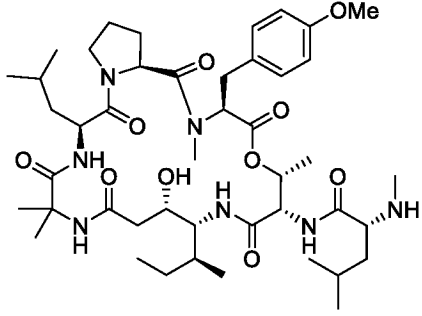
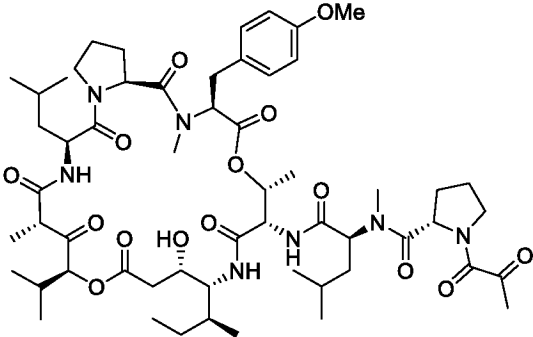
Чтобы обеспечить более краткое описание, некоторые из количественных выражений, приведенных здесь, не снабжены термином «приблизительно». Понятно, что независимо от того, используется ли термин «приблизительно» непосредственно или нет, каждая величина, приведенная здесь, подразумевается как относящаяся 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.

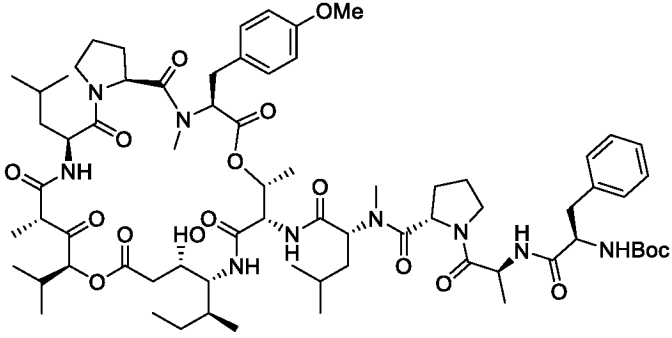
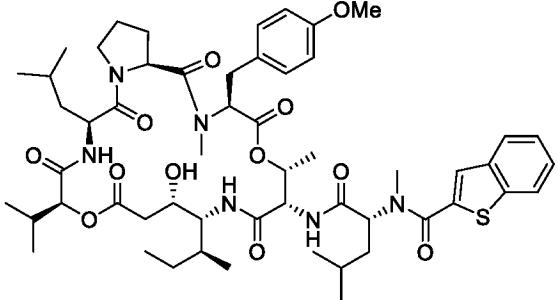
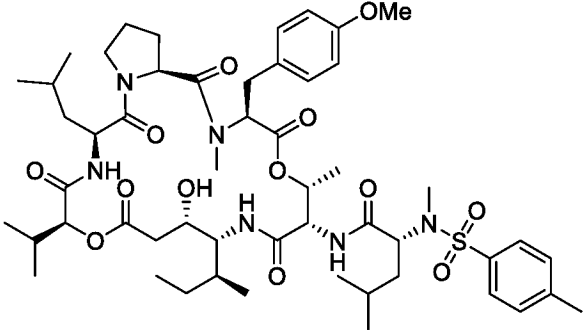
В то время как вышеприведенное раскрытие обеспечивает общее описание предмета, который охватывается объемом настоящего изобретения, включая способы, а также наилучший принцип его осуществления и применения этого изобретения, следующие примеры приведены для того, чтобы дополнительно обеспечить возможность 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 аспекты этих примеров не следует рассматривать как ограничивающие изобретение, объем которого следует понимать из формулы изобретения и ее эквивалентов, прилагаемых к настоящему описанию. Различные дополнительные аспекты и воплощения настоящего изобретения будут очевидны специалистам в данной области техники ввиду настоящего раскрытия.

ПРИМЕРЫ

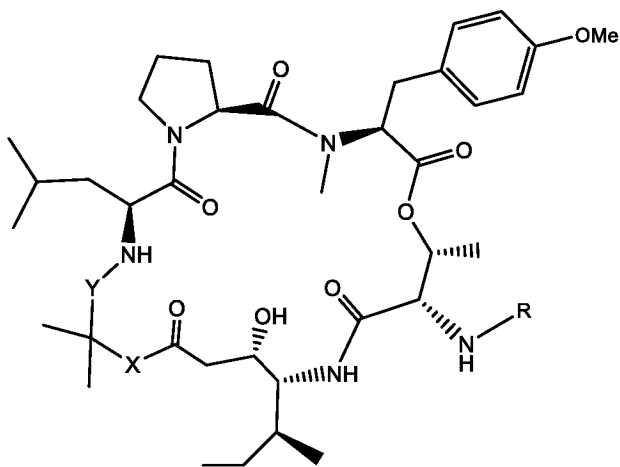
Соединения по настоящему изобретению могут быть получены согласно способам, изложенным в литературе, например: Vera et al. Med. Res. Rev. 2002, 22(2), 102-145, WO 2011/020913 (см., в частности, Примеры 1-5), WO 02/02596, WO 01/76616 и WO 2004/084812, содержание которых включено здесь посредством ссылки.

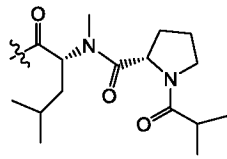
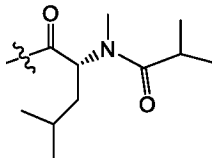
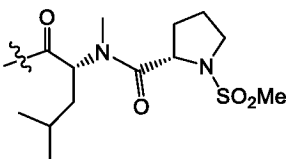
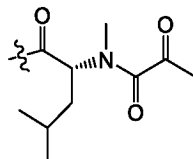
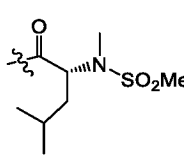
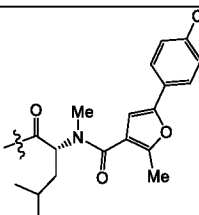
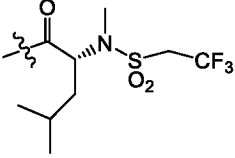
Конкретные соединения по настоящему изобретению представляют собой:

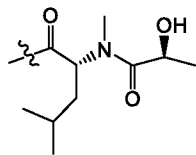
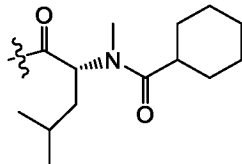
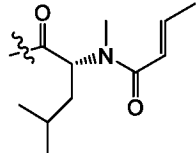
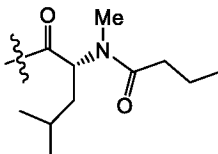
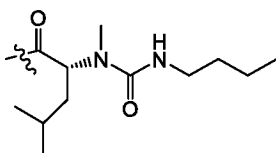
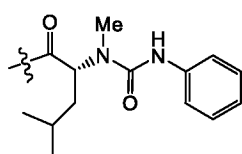
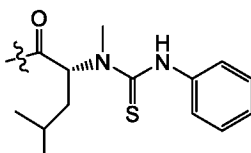
Соединение	Структура
PLD	
Дидемнин В (соединение 240)	
Соединение 3	
Соединение 8	

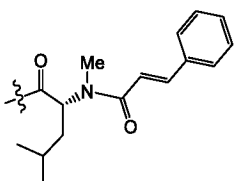
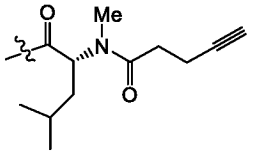
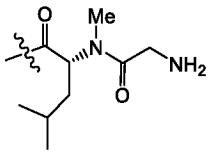
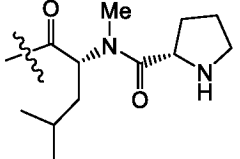
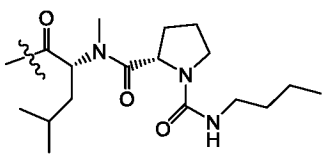
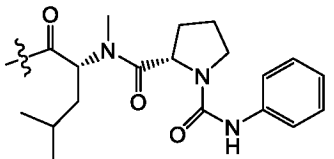
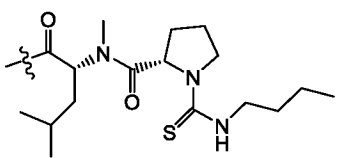
Соединение 9	
Соединение 10	
Соединение 11	

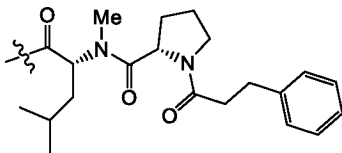
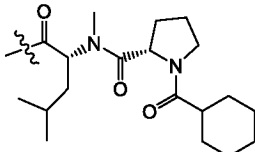
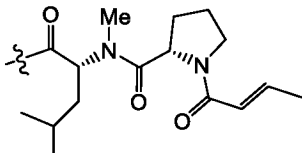
Следуя способам, описанным в WO 02/02596 и в описании, и дополнительно раскрытым в предыдущих примерах, можно получить следующие соединения:

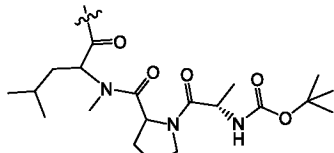
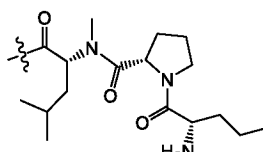
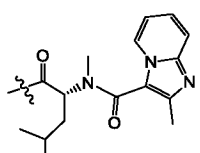
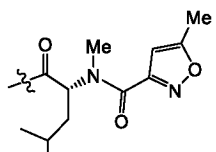


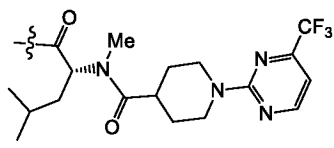
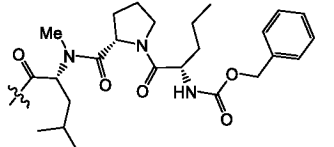
Соединение	X	Y	R
12	O	CO	
13	NH	CO	
14	O	-COCH(CH ₃)CO-	
15	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
16	O	CO	
17	NH	CO	
18	O	-COCH(CH ₃)CO-	
19	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
20	O	CO	
21	NH	CO	
22	O	-COCH(CH ₃)CO-	
23	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
24	O	CO	
25	NH	CO	
26	O	-COCH(CH ₃)CO-	
27	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
28	O	CO	
29	NH	CO	
30	O	-COCH(CH ₃)CO-	
31	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
32	O	CO	
33	NH	CO	
34	O	-COCH(CH ₃)CO-	
35	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
36	O	CO	
37	NH	CO	
38	O	-COCH(CH ₃)CO-	
39	NH	-COCH(CH ₃)CO-	

Соединение	X	Y	R
40	O	CO	
41	NH	CO	
42	O	-COCH(CH ₃)CO-	
43	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
44	O	CO	
45	NH	CO	
46	O	-COCH(CH ₃)CO-	
47	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
48	O	CO	
49	NH	CO	
50	O	-COCH(CH ₃)CO-	
51	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
52	O	CO	
53	NH	CO	
54	O	-COCH(CH ₃)CO-	
55	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
56	O	CO	
57	NH	CO	
58	O	-COCH(CH ₃)CO-	
59	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
60	O	CO	
61	NH	CO	
62	O	-COCH(CH ₃)CO-	
63	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
64	O	CO	
65	NH	CO	
66	O	-COCH(CH ₃)CO-	
67	NH	-COCH(CH ₃)CO-	

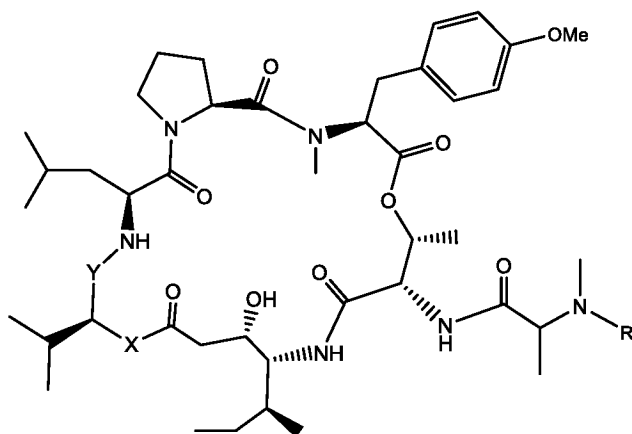
Соединение	X	Y	R
68	O	CO	
69	NH	CO	
70	O	-COCH(CH ₃)CO-	
71	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
72	O	CO	
73	NH	CO	
74	O	-COCH(CH ₃)CO-	
75	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
76	O	CO	
77	NH	CO	
78	O	-COCH(CH ₃)CO-	
79	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
80	O	CO	
81	NH	CO	
82	O	-COCH(CH ₃)CO-	
83	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
84	O	CO	
85	NH	CO	
86	O	-COCH(CH ₃)CO-	
87	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
88	O	CO	
89	NH	CO	
90	O	-COCH(CH ₃)CO-	
91	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
92	O	CO	
93	NH	CO	
94	O	-COCH(CH ₃)CO-	
95	NH	-COCH(CH ₃)CO-	

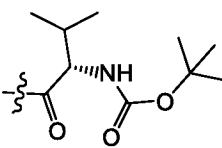
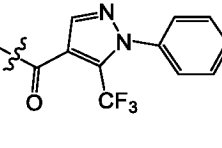
96	O	CO	
97	NH	CO	
98	O	-COCH(CH ₃)CO-	
99	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
100	O	CO	
101	NH	CO	
102	O	-COCH(CH ₃)CO-	
103	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
104	O	CO	
105	NH	CO	
106	O	-COCH(CH ₃)CO-	
107	NH	-COCH(CH ₃)CO-	

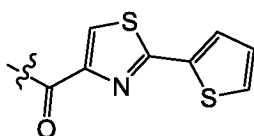
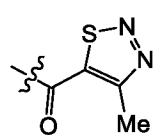
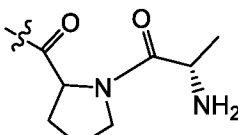
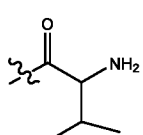
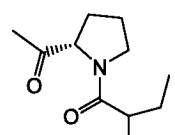
Соединение	X	Y	R
108	O	CO	
109	NH	CO	
110	O	-COCH(CH ₃)CO-	
111	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
112	O	CO	
113	NH	CO	
114	O	-COCH(CH ₃)CO-	
115	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
116	O	CO	
117	NH	CO	
118	O	-COCH(CH ₃)CO-	
119	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
120	O	CO	
121	NH	CO	
122	O	-COCH(CH ₃)CO-	
123	NH	-COCH(CH ₃)CO-	

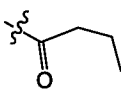
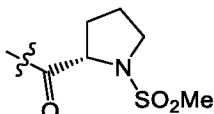
124	O	CO	
125	NH	CO	
126	O	-COCH(CH ₃)CO-	
127	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
128	O	CO	
129	NH	CO	
130	O	-COCH(CH ₃)CO-	
131	NH	-COCH(CH ₃)CO-	

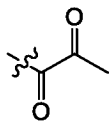
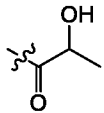
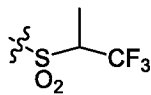
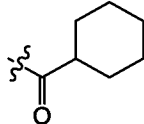
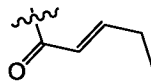
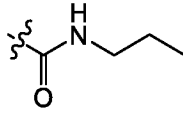
Следуя способам, описанным в WO 02/02596 и в описании, и дополнительно раскрытым в предыдущих примерах, можно получить следующие соединения:

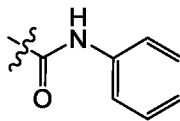


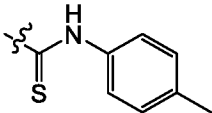
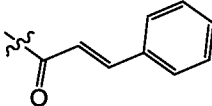
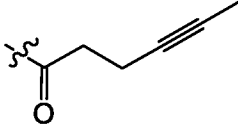
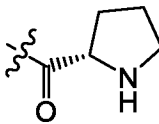
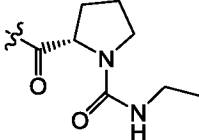
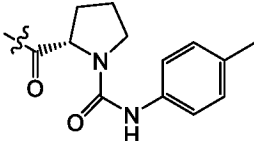
Соединение	X	Y	R
132	O	CO	
133	NH	CO	
134	O	-COCH(CH ₃)CO-	
135	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
136	O	CO	
137	NH	CO	
138	O	-COCH(CH ₃)CO-	
139	NH	-COCH(CH ₃)CO-	

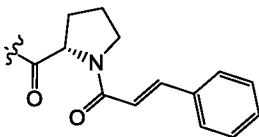
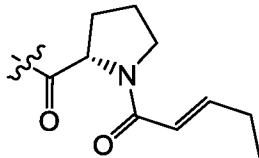
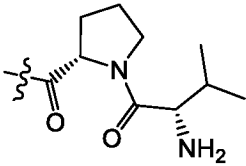
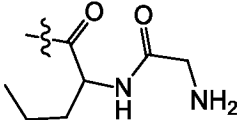
Соединение	X	Y	R
140	O	CO	
141	NH	CO	
142	O	-COCH(CH ₃)CO-	
143	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
144	O	CO	
145	NH	CO	
146	O	-COCH(CH ₃)CO-	
147	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
148	O	CO	
149	NH	CO	
150	O	-COCH(CH ₃)CO-	
151	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
152	O	CO	
153	NH	CO	
154	O	-COCH(CH ₃)CO-	
155	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
156	O	CO	
157	NH	CO	
158	O	-COCH(CH ₃)CO-	
159	NH	-COCH(CH ₃)CO-	

Соединение	X	Y	R
160	O	CO	
161	NH	CO	
162	O	-COCH(CH ₃)CO-	
163	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
164	O	CO	
165	NH	CO	
166	O	-COCH(CH ₃)CO-	
167	NH	-COCH(CH ₃)CO-	

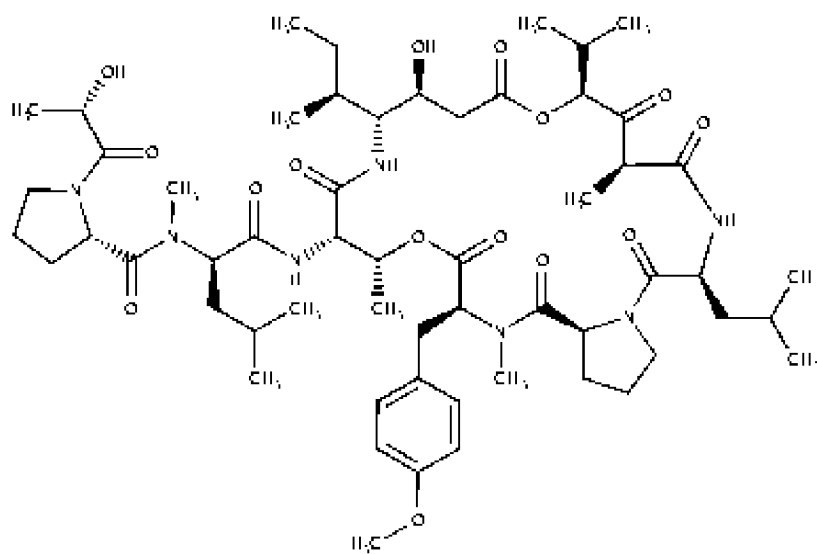
168	O	CO	
169	NH	CO	
170	O	-COCH(CH ₃)CO-	
171	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
Соединение	X	Y	R
172	O	CO	
173	NH	CO	
174	O	-COCH(CH ₃)CO-	
175	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
176	O	CO	-SO ₂ Me
177	NH	CO	
178	O	-COCH(CH ₃)CO-	
179	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
180	O	CO	
181	NH	CO	
182	O	-COCH(CH ₃)CO-	
183	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
184	O	CO	
185	NH	CO	
186	O	-COCH(CH ₃)CO-	
187	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
188	O	CO	
189	NH	CO	
190	O	-COCH(CH ₃)CO-	
191	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
192	O	CO	
193	NH	CO	
194	O	-COCH(CH ₃)CO-	
195	NH	-COCH(CH ₃)CO-	

196	O	CO	
197	NH	CO	
198	O	-COCH(CH ₃)CO-	
199	NH	-COCH(CH ₃)CO-	

Соединение	X	Y	R
200	O	CO	
201	NH	CO	
202	O	-COCH(CH ₃)CO-	
203	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
204	O	CO	
205	NH	CO	
206	O	-COCH(CH ₃)CO-	
207	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
208	O	CO	
209	NH	CO	
210	O	-COCH(CH ₃)CO-	
211	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
Соединение	X	Y	R
212	O	CO	
213	NH	CO	
214	O	-COCH(CH ₃)CO-	
215	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
216	O	CO	
217	NH	CO	
218	O	-COCH(CH ₃)CO-	
219	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
220	O	CO	
221	NH	CO	
222	O	-COCH(CH ₃)CO-	
223	NH	-COCH(CH ₃)CO-	

224	O	CO	
225	NH	CO	
226	O	–COCH(CH ₃)CO–	
227	NH	–COCH(CH ₃)CO–	
228	O	CO	
229	NH	CO	
230	O	–COCH(CH ₃)CO–	
231	NH	–COCH(CH ₃)CO–	
232	O	CO	
233	NH	CO	
234	O	–COCH(CH ₃)CO–	
235	NH	–COCH(CH ₃)CO–	
236	O	CO	
237	NH	CO	
238	O	–COCH(CH ₃)CO–	
239	NH	–COCH(CH ₃)CO–	

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



ПРИМЕР 1

Как показано на Фиг. 1, PLD ингибирует трансактивацию NF-κB *in vitro*.

Авторы проверили, регулируется ли транскрипционная активность NF-κB плитидепсином. С этой целью авторы использовали клетки THP-1, стабильно трансфицированные репортерной плазмидой люциферазы NF-κB. Авторы обрабатывали клетки 100 нг/мл TNFα (активатор NF-κB), 500 мкг/мл Poly I:C (лиганд TLR3), 10 мкг/мл LPS-B5 (лиганд TLR4) или 10 мкг/мл резиквимода (лиганд TLR-7/8). Соединения использовали либо по отдельности (серые столбцы на Фиг. 1A), либо в сочетании со 100 нМ плитидепсина (черные столбцы на Фиг. 1A) в течение 6 часов и количественно определяли активность люциферазы при каждом условии. В присутствии каждого из лигандов TLR плитидепсин отчетливо ингибировал продукцию люциферазы, указывая на то, что трансактивация NF-κB ингибировалась в присутствии лекарственного средства. Выживаемость анализировали с помощью анализа МТТ (серые столбцы на Фиг. 1B (активаторы) и красные столбцы (активаторы в сочетании со 100 нМ плитидепсина)). Цитотоксическое действие не было выявлено.

Как показано на Фиг. 2, PLD также ингибирует секрецию провоспалительных цитокинов IL-1, IL-6, IL-8 и TNF-α в моноцитах человека *in vitro*.

Чтобы выяснить, ингибирует ли плитидепсин секрецию цитокинов, запускаемую TLR, авторы обрабатывали клетки THP-1 100 нг/мл TNFα (активатор NF-κB), 500 мкг/мл Poly I:C (лиганд TLR3), 10 мкг/мл LPS-B5 (лиганд TLR4) или 10 мкг/мл резиквимода (лиганд TLR-7/8). Соединения использовали либо по отдельности (серые столбцы), либо в сочетании со 100 нМ плитидепсина (красные столбцы) в течение 6 часов. Авторы сравнивали варианты секреции цитокинов в супернатантах клеточных культур между различными обработками с помощью твердофазного ИФА анализа. Как видно на Фиг. 2, Poly I:C, LPS и резиквимод индуцируют секрецию IL-1, IL-6, IL-8 и TNF-α. Кроме того, плитидепсин отчетливо ингибировал продукцию IL-1, IL-6, IL-8 и TNF-α. TNF-α не увеличивал секрецию IL-1 и IL-6. Возможно, клеткам THP-1 требуется другое время воздействия TNF-α для секреции этих цитокинов.

В присутствии каждого из лигандов TLR плитидепсин отчетливо ингибировал секрецию провоспалительных цитокинов IL-1, IL-6, IL-8.

В дополнительном эксперименте *in vitro* изучали влияние предварительной обработки плитидепсином (APL) на клетки THP-1. Используя линию THP-1 NF-κB Luc, за 8 часов до стимуляции резиквимодом (RQ) в концентрации 2,5 или 5 мкг/мл добавляли

1, 10 или 50 нМ APL или DMSO (0,2%). RQ является агонистом TLR-7/8 и имитирует оцРНК. Через 24 часа измеряли уровень цитокинов или жизнеспособность клеток. Как показано на Фиг. 9, предварительная обработка PLD ингибировала секрецию провоспалительных цитокинов: IL6, IL8, IL1 β и TNF- α , стимулированную RQ.

ПРИМЕР 2

Как показано на Фиг. 3, PLD ингибирует *ex vivo* секрецию провоспалительных цитокинов, IL-6, IL-8 и TNF-альфа, выделенных из БАЛ (бронхоальвеолярный лаваж), у мышей.

Авторы проверили, ингибирует ли плитидепсин секрецию цитокинов, запускаемую LPS, в альвеолярных макрофагах. С этой целью мышам внутривенно вводили плитидепсин (1 мг/кг) или носитель и через 12 часов после введения отбирали жидкость бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ). Клетки высевали и *ex vivo* обрабатывали или не обрабатывали 15 мкг/мл LPS-B5 в течение 3 или 6 часов и измеряли секретируемые цитокины. Как можно видеть, LPS индуцируют секрецию IL-6, IL-10 и TNF- α (серые столбцы). Кроме того, у животных, получавших плитидепсин, лекарственный препарат отчетливо ингибировал продукцию IL-6 и TNF- α , стимулированную LPS (красные столбцы), и приводил к общему противовоспалительному эффекту.

Далее это снова показано на Фиг. 10. У животных, получавших плитидепсин, плитидепсин был способен значительно снижать секрецию IL-6, IL-10 и TNF- α , стимулированную LPS-B5, через 3 и 6 часов в клетках CD45⁺, выделенных из бронхоальвеолярного лаважа. Этот эффект не был связан с жизнеспособностью клеток, как показано на Фиг. 10 (a, b).

Далее авторы проверили, ингибирует ли плитидепсин секрецию цитокинов, запускаемую резиквимодом (RQ), в ЖБАЛ. Мышам внутривенно вводили плитидепсин (1 мг/кг) или носитель за 1 час до интраназальной инокуляции резиквимодом в дозе 50 мкг/мышь. Через 1 или 3 часа после интраназального введения RQ отбирали жидкость бронхоальвеолярного лаважа (ЖБАЛ). Клетки высевали и измеряли секретируемые цитокины. Как можно видеть на Фиг. 11, RQ индуцирует секрецию TNF- α как через 1, так и через 3 часа после введения. *In vivo* введение PLD предотвращало повышенную продукцию TNF- α .

Также авторы проверили влияние плитидепсина на рекрутирование альвеолярных макрофагов. Активированные макрофаги моноцитарного происхождения

способствуют цитокиновому шторму COVID-19 посредством высвобождения огромного количества провоспалительных цитокинов. Клетки бронхоальвеолярного лаважа окрашивали и анализировали с помощью проточной цитометрии. Плитидепсин снижает процент макрофагов, присутствующих в бронхоальвеолярном лаваже, без цитотоксического действия.

ПРИМЕР 3

Как показано на Фиг. 4, после однократного внутривенного введения мышам PLD снижает количество макрофагов в БАЛ.

Чтобы выяснить, снижает ли плитидепсин процент альвеолярных макрофагов у животных с острым воспалением, авторы вводили мышам плитидепсин (1 мг/кг) внутривенно, LPS (20 мкг/кг) внутрибрюшинно в стерильном физиологическом растворе или плитидепсин (1 мг/кг; в/в) в сочетании с LPS (20 мкг/кг, внутрибрюшинно). Через три часа отбирали бронхоальвеолярный лаваж. Клетки бронхоальвеолярного лаважа получали посредством центрифугирования и анализировали с помощью проточной цитометрии (Фиг. 4b). Верхние панели показывают стратегию анализа популяции макрофагов, присутствующих в образцах. Нижняя правая панель показывает тот же результат, выраженный в процентном соотношении клеток. Нижняя левая панель показывает процент живых клеток CD45+ (маркер лейкоцитов). Как можно видеть, LPS индуцируют рекрутирование альвеолярных макрофагов. Обработка плитидепсином снижает процент макрофагов, присутствующих в бронхоальвеолярном лаваже, без цитотоксического действия.

ПРИМЕР 4

Как показано на Фиг. 12, PLD распределяется в легких у неклинических видов. Кроме того, аналогичное содержание в плазме достигается у мышей (которые являются неклиническими видами, используемыми в фармакологических моделях) и пациентов.

Концентрация плитидепсина в легких была постоянно выше, чем в плазме, в любое время отбора проб с соотношением легкое-к-плазме (рассчитываемое как $\text{легочная AUC}_{0-\infty} / \text{плазменная AUC}_{0-\infty}$) у мышей, крыс и хомяков 133, 460 и 909, соответственно, тем самым подтверждая распределение плитидепсина в легких.

Таблица 1

Вид (пол)	Штамм	Доза [†] (мг/кг)	C _{max} (нг/мл)	AUC _{0-∞} (нг·ч/мл)	t _{1/2} (ч)	Cl (л/ч/кг)	Vd _{ss} (л/кг)
Мышь (Ж)	C57BL/6/J	1,0 ^a	50,7	225,3	18,2	4,4	101,8

Человек (М/Ж)	-	0,135 ^b	29,1	256,0	20-80	0,7-0,9	29-33
	-	0,02 ^c	8,5 ^d	174,0 ^d	.	-	-

Ж, женский пол; М, мужской пол.

[†]Схема:

- Неклинические виды: однократное внутривенное болюсное введение.
- Пациенты: 3-часовая внутривенная инфузия.

^a Максимальная переносимая доза.

^b Рассчитывали исходя из рекомендуемой дозы 5 мг/м², 3-часовой инфузии или 9,5 мг/пациент.

^c Эквивалентно 1,5 мг/пациента, эта доза используется в APLICOV (1-часовая инфузия на 1, 2 и 3 сутки).

^d Оценивали по модели популяционной фармакокинетики плитидепсина (CPR/2016/01) после 3 ежедневных доз 1,5 мг/пациент.

Площадь поверхности тела человека, 1,9.

Масса тела человека, 60 кг

Материалы и методы

Люциферазный анализ трансактивации

Трансактивацию NF-κB анализировали с использованием системы анализа люциферазы Bright-Glo™ в соответствии с инструкциями производителя. NF-κB репортерные (Luc)-THP-1 моноциты человека, стабильно трансфицированные плазмидой NF-κB-Luc (содержащей четыре сайта связывания NF-κB, минимальный промотор и ген люциферазы), подвергали воздействию 100 нг/мл TNFα (положительный контроль), 500 мкг/мл Poly I:C (полиинозиново-полицитидиловая кислота), 10 мкг/мл LPS-B5 (липополисахарид из *Escherichia coli* 055:B5) или 10 мкг/мл резиквимода. Соединения использовали либо отдельно, либо в сочетании со 100 нМ плитидепсина в течение 6 часов. Люминесценцию измеряли в ридере Perkin-Elmer EnVision. Одновременно проводили анализ клеточной пролиферации МТТ (бромид 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия) для контроля цитотоксичности соединений. Выживаемость клеток выражали в процентах от роста контрольных клеток. Представленные данные являются средними из трех независимых экспериментов, проведенных в трех повторностях.

ИФА анализы секретируемых цитокинов

Культуры клеток THP1-NF-κB-LUC обрабатывали, как описано выше, и образцы культуральной среды отбирали через 6 часов после обработки для анализа секретируемых цитокинов с помощью твердофазного ИФА. Образцы сред хранили при 4°C. Секрецию белков IL-8, IL-1β, IL-6 и TNF-α в культуральной среде количественно определяли с использованием высокоспецифичных и чувствительных наборов ИФА. Наборы для ИФА ELISA OptEIA™ на человеческий IL-1b, человеческий IL-6, человеческий IL-8 и человеческий TNF были получены от BD Biosciences, и анализ проводили, как описано производителем. Представленные данные являются средними из трех независимых экспериментов, проведенных в трех повторностях.

Анализ МТТ

Клетки высевали в 96-луночные микротитрационные планшеты и оставляли на 24 часа при 37°C и 5% CO₂ перед обработкой, описанной выше. После 6 часов непрерывной обработки жизнеспособность клеток оценивали по превращению МТТ в его окрашенный продукт реакции, МТТ-формазан, который растворяли для измерения его поглощения при 540 нм. Представленные здесь данные являются репрезентативными для серии из трех независимых экспериментов, проведенных в трех повторностях.

Обработки “*in vivo*” и “*ex vivo*”

Мышей рандомизировали в группы по пять животных для обработки. Мышам вводили внутривенно (в/в) плитидепсин (1 мг/кг) и через 12 часов после введения подвергали эвтаназии. Контрольная группа получала носитель плитидепсина, разбавленный физиологическим раствором (кремофор/этанол/вода). Жидкость бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) каждой группы отбирали и центрифугировали для получения клеток бронхоальвеолярного лаважа. Клетки подвергали лизису эритроцитов (Roche), высевали и *ex vivo* обрабатывали или не обрабатывали 15 мкг/мл LPS-B5 в течение 3 или 6 часов. Секретируемые цитокины измеряли с использованием высокоспецифичных и чувствительных наборов ИФА. Наборы для ИФА DuoSet ELISA на мышиный IL-6, мышиный IL-10 и мышиный TNF были получены от R&D Systems, и анализы проводили, как описано производителем. Представленные здесь данные являются репрезентативными для серии из трех независимых экспериментов.

Животная модель воспаления

Мышей рандомизировали в группы по два животных для обработки. Мышам вводили плитидепсин (1 мг/кг) внутривенно (в/в), LPS (20 мкг/кг) внутрибрюшинно (в/б)

в стерильном физиологическом растворе или плитидепсин (1 мг/кг; в/в) в комбинации с LPS (20 мкг/кг; в/б). Контрольная группа получала носитель плитидепсина (кремофор/этанол/вода), разбавленный физиологическим раствором. Через три часа животных подвергали эвтаназии и собирали бронхоальвеолярный лаваж (всего 1,2 мл; PBS (фосфатно-солевой буфер)). Клетки бронхоальвеолярного лаважа получали посредством центрифугирования и анализировали с помощью проточной цитометрии. Представленные здесь данные являются репрезентативными для серии из трех независимых экспериментов.

В другой модели воспаления мышей рандомизировали в группы по два животных для обработки. Мышам вводили плитидепсин (1 мг/кг) внутривенно (в/в) с последующим введением резиквимода (50 мкг/мышь; интраназально) через 1 час. Контрольная группа получала носитель плитидепсина (кремофор/этанол/вода), разбавленный физиологическим раствором. Через 1 и 3 часа животных подвергали эвтаназии, собирали бронхоальвеолярный лаваж (всего 1,2 мл; PBS) и затем определяли количество TNF α с помощью наборов для твердофазного ИФА. Представленные здесь данные являются репрезентативными для серии из трех независимых экспериментов.

Анализ макрофагов с помощью проточной цитометрии

Клетки бронхоальвеолярного лаважа окрашивали моноклональными антителами против F4/80-BV510, CD45-APC700, CD11b-BV650, CD11c-APC-Fire, CD24-PC7 и Ly6C-BV605 (Biolegend) и набором для окрашивания LIVE/DEAD™ Fixable Green Dead Cell для возбуждения при длине волны 488 нм (ThermoFisher). Макрофаги (F4/80+) гейтировали по живым иммунным клеткам (CD45+ краситель LIVE/DEAD-), в то время как альвеолярные макрофаги (F4/80+ CD24-) специфически гейтировали по CD11c+ CD11b- популяции живых иммунных клеток. Изотипические контроли и компенсационные гранулы использовали для установки стратегий компенсаций и гейтирования.

ПРИМЕР 5

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

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

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

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

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

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

- дифенгидрамина гидрохлорид 25 мг в/в или эквивалент;
- ранитидин 50 мг в/в или эквивалент;
- дексаметазон 6,6 мг внутривенно;
- ондансетрон 8 мг в/в в виде медленной 15-минутной инфузии или эквивалент.

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

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

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

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

Плитидепсин будет промаркирован кодом протокола исследования, номером серии, составом, сроком годности, условиями хранения, именем исследователя и спонсора. Исследуемый препарат будет промаркирован в соответствии с Приложением 13 Европейской надлежащей производственной практики. Плитидепсин следует хранить при температуре от 2°C до 8°C, а флаконы следует хранить в картонной упаковке для защиты от света. Лекарственный препарат в этих условиях стабилен в течение 60 месяцев.

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

Промежуточные результаты

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

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

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

Пациент 4: мужчина 42 лет, двусторонняя пневмония. Получал PLD 2,0 мг×3. Потребовалась терапия кортикостероидами. ПЦР-тест на COVID-19: ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ на исходном уровне и все еще положительный на 7-е сутки. На 15-е сутки у пациента был отрицательный результат ПЦР. Пациент в достаточной степени восстановился для выписки из стационара на 10-е сутки.

Пациент 5: женщина 33 лет, двусторонняя пневмония при поступлении. Получала PLD 1,5 мг×3. ПЦР-тест на COVID 19: ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ на исходном уровне, сменился на ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (отсутствие вирусной нагрузки) на 4-е сутки.

Двусторонняя пневмония регрессировала на 6-е сутки (нормальное Rx Lung). Значительное клиническое улучшение. Выписка из стационара на 8-е сутки. Рентгенограммы, показывающие регрессию пневмонии, показаны на Фиг. 5а-с. На Фиг. 5а отчетливо видна двусторонняя пневмония. После лечения PLD замечено улучшение на 6-е сутки. На Фиг. 5b отчетливо виден ламинарный ателектаз. Последующее рентгенологическое исследование на 15-е сутки показало возвращение к норме на Фиг. 5с. При PLD 1,5 мг×3 вирусная нагрузка была подавлена на 4-е сутки. С PLD достигнуто значительное клиническое улучшение, включая подавление всей вирусной нагрузки и лечение двусторонней пневмонии, что позволило выписать пациента из стационара на 8-е сутки.

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

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

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

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

Анализы на С-реактивный белок

У пациентов 5, 7 и 9 также измеряли влияние PLD на воспалительные цитокины, и результаты анализов на С-реактивный белок показаны на Фиг. 7. У пациента 5

(Фиг. 7a) после введения PLD наблюдается резкое падение на 2-е сутки. У пациентов 7 (Фиг. 7b) и 9 (Фиг. 7c) после введения PLD резкое падение наблюдается на 3-и сутки. Эти данные демонстрируют противовоспалительные свойства PLD.

В целом, по завершении исследования 45 пациентов, госпитализированных с COVID-19, были рандомизированы для лечения плитидепсином в дозах 1,5, 2,0 и 2,5 мг ежедневно в течение 3 суток. Лечение хорошо переносилось во всех 3 дозовых когортах. Результаты лечения, оцениваемые по частоте выписки из стационара, зависели от исходной тяжести заболевания и вирусной нагрузки. Во всех дозовых когортах 100% (9/9) пациентов с легким заболеванием, 82% (23/28) с заболеванием средней степени тяжести и 57% (4/7) с тяжелым заболеванием были выписаны на 15-е сутки.

ПРИМЕР 10

Цель данного эксперимента заключалась в оценке *in vivo* воздействия плитидепсина при лечении тяжелой пневмонии, вызванной адаптированным для мышей вирусом гриппа A/H1N1 (A/Puerto Rico/8/34).

Постановка эксперимента: для достижения этой цели авторы использовали *in vivo* модель вирусного патогенеза, основанную на введении высоких доз вируса гриппа PR8 (2×10^5 БОЕ), что вызывало тяжелую инфекцию в легких. Затем авторы оценили терапевтическое действие плитидепсина на тяжелую инфекцию вируса гриппа у мышей. Самок мышей в возрасте 9 недель анестезировали посредством внутрибрюшинной инъекции раствора кетамин-ксилазин и проводили инфицирование посредством интраназального введения PBS раствора вируса по 20 мкл в ноздри.

Мышам, получавшим лечение, вводили подкожно 0,3 мг/кг или 0,15 мг/кг плитидепсина. Затем контролировали выживаемость и потерю массы тела до 3-х суток после введения. За время лечения не было зарегистрировано ни одной гибели мышей или мышей с потерей массы тела более 30% от исходной массы тела.

Контроль гриппозной инфекции в дыхательных путях осуществляли по усилению воспаления в жидкости бронхоальвеолярного лаважа (ЖБАЛ). На Фиг. 8 показан воспалительный профиль в ЖБАЛ инфицированных мышей при лечении плитидепсином или без него. Среди основных провоспалительных цитокинов плитидепсин сильно снижал уровни IL-6 (Фиг. 8a), CCL2 (Фиг. 8b), IL-1 α (Фиг. 8c), IFN- γ (Фиг. 8d) и TNF- α (Фиг. 8e). Мыши, получавшие только половину дозы лекарственного препарата, были менее защищены и демонстрировали промежуточный фенотип.

Клеточный состав ЖБАЛ рассматривают в качестве маркера иммунного ответа на вирусную инфекцию в легких. Количественное измерение инфильтрирующих клеток по отношению к уровням воспалительных цитокинов проводили у мышей, инфицированных гриппом. Лечение плитидепсином не снижало общий клеточный состав ЖБАЛ ($CD45^{+} \times 10^6$).

В совокупности эти результаты подтвердили, что три последовательных введения (суммарная доза 0,9 мг/кг) плитидепсина мышам, инфицированным гриппом, могут положительно уменьшать воспаление, о чем свидетельствует снижение ранних провоспалительных цитокинов в результате лечения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Racke MK, Drew PD. Toll-like receptors in multiple sclerosis. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2009;336:155-168. doi:10.1007/978-3-642-00549-7_9

Elshabrawy HA, Essani AE, Szekanecz Z, Fox DA, Shahrara S. TLRs, future potential therapeutic targets for RA. *Autoimmun Rev*. 2017;16(2):103-113. doi:10.1016/j.autrev.2016.12.003

Mohammad Hosseini A, Majidi J, Baradaran B, Yousefi M. Toll-Like Receptors in the Pathogenesis of Autoimmune Diseases. *Adv Pharm Bull*. 2015;5(Suppl 1):605-614. doi:10.15171/apb.2015.082

Huang QQ, Pope RM. The role of toll-like receptors in rheumatoid arthritis. *Curr Rheumatol Rep*. 2009;11(5):357-364. doi:10.1007/s11926-009-0051-z

Marshak-Rothstein A. Toll-like receptors in systemic autoimmune disease. *Nat Rev Immunol*. 2006;6(11):823-835. doi:10.1038/nri1957

Prinz M, Garbe F, Schmidt H, Mildner A, Gutcher I, Wolter K, Piesche M, Schroers R, Weiss E, Kirschning C, Rochford C, Bruck W, Becher B. Innate immunity mediated by TLR9 modulates pathogenicity in an animal model of multiple sclerosis. *J Clin Invest*. 2006;116(2):456-464. doi:10.1172/JCI26078

O'Reilly S. Toll Like Receptors in systemic sclerosis: An emerging target. *Immunology Letters*. 2018;195:2-8. doi:10.1016/j.imlet.2017.09.001

Kiripolsky J, Kramer J. Current and Emerging Evidence for Toll-Like Receptor Activation in Sjögren's Syndrome. *J Immunol Res*. 2018; 1246818. doi:10.1155/2018/1246818

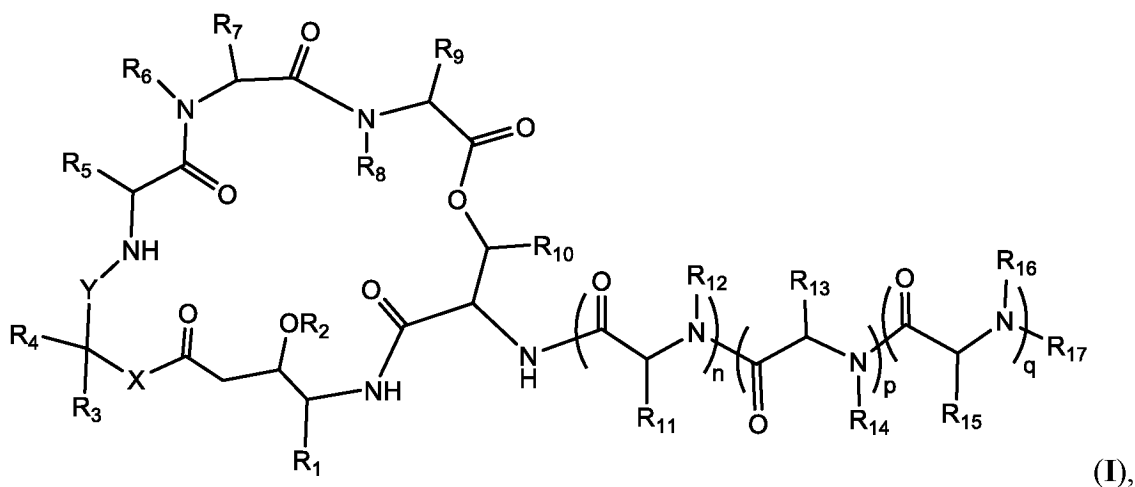
Feng Y, Chao W. Toll-Like Receptors and Myocardial Inflammation. *Int J Inflamm*. 2011; 170352. doi:10.4061/2011/170352

Zipris D. Toll-like receptors and type 1 diabetes. *Adv Exp Med Biol.* 2010;654:585-610. doi:10.1007/978-90-481-3271-3_25

Falck-Hansen M, Kassiteridi C, Monaco C. Toll-Like Receptors in Atherosclerosis. *Int J Mol Sci.* 2013;14(7):14008-14023. doi:10.3390/ijms140714008

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение общей формулы I



где X выбран из O и NH;

Y выбран из CO и -COCH(CH₃)CO-;

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

каждый R₁, R₃, R₅, R₉, R₁₁ и R₁₅ независимо выбран из водорода, замещенного или незамещенного C₁-C₆алкила, замещенного или незамещенного C₂-C₆алкенила и замещенного или незамещенного C₂-C₆алкинила;

R₂ выбран из водорода, COR_a, COOR_a, замещенного или незамещенного C₁-C₆алкила, замещенного или незамещенного C₂-C₆алкенила и замещенного или незамещенного C₂-C₆алкинила;

каждый R₄, R₈, R₁₀, R₁₂ и R₁₆ независимо выбран из водорода и замещенного или незамещенного C₁-C₆алкила;

каждый R₇ и R₁₃ независимо выбран из водорода, замещенного или незамещенного C₁-C₆алкила, замещенного или незамещенного C₂-C₆алкенила и замещенного или незамещенного C₂-C₆алкинила; каждый R₆ и R₁₄ независимо выбран из водорода и замещенного или незамещенного C₁-C₆алкила; или R₆ и R₇ и/или R₁₃ и R₁₄ вместе с соответствующим атомом N и атомом C, к которым они присоединены, могут образовывать замещенную или незамещенную гетероциклическую группу;

R₁₇ выбран из водорода, COR_a, COOR_a, CONHR_b, COSR_c, (C=NR_b)OR_a, (C=NR_b)NHR_b, (C=NR_b)SR_c, (C=S)OR_a, (C=S)NHR_b, (C=S)SR_c, SO₂R_c, SO₃R_c, замещенного или незамещенного C₁-C₁₂алкила, замещенного или незамещенного C₂-C₁₂алкенила, замещенного или незамещенного C₂-C₁₂алкинила, замещенного или

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

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

или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер для применения в лечении аутоиммунного состояния.

2. Соединение по п. 1, где аутоиммунное состояние вызвано активацией одного или более чем одного Toll-подобного рецептора (TLR).

3. Соединение по п. 1, где аутоиммунное состояние характеризуется усиленной передачей сигналов посредством по меньшей мере одного или более чем одного Toll-подобного рецептора (TLR).

4. Соединение по п. 1, где аутоиммунное состояние характеризуется повышенными уровнями по меньшей мере одного провоспалительного цитокина.

5. Соединение по любому из пп. 1-4, где аутоиммунное состояние выбрано из системной красной волчанки (СКВ), ревматоидного артрита (РА), рассеянного склероза (РС), склеродермии, синдрома Шегрена, аутоиммунного миокардита, диабета 1 типа и атеросклероза.

6. Соединение по п. 5, где аутоиммунное состояние представляет собой РА.

7. Соединение по любому из пп. 1-6, где R_3 и R_4 независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1 - C_6 алкила; предпочтительно, где R_3 представляет собой изопропил, и R_4 представляет собой водород.

8. Соединение по любому из пп. 1-7 общей формулы **II**, где R_3 и R_4 представляют собой метил.

9. Соединение по любому из пп. 1-8, где R_{11} выбран из водорода и замещенного или незамещенного C_1 - C_6 алкила; предпочтительно, где R_{11} представляет собой метил или изобутил.

10. Соединение по любому из пп. 1-9 общей формулы **III**, где R_{11} представляет собой метил, и n равен 1.

11. Соединение по любому из пп. 1-10, где R_1 , R_5 , R_9 и R_{15} независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1 - C_6 алкила; предпочтительно,

где R_1 выбран из *втор*-бутила и изопропила, R_5 представляет собой изобутил, R_9 представляет собой *пара*-метоксибензил, и R_{15} выбран из метила и бензила.

12. Соединение по любому из пп. 1-11, где R_8 , R_{10} , R_{12} и R_{16} независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1 - C_6 алкила; предпочтительно, где R_8 , R_{10} и R_{12} представляют собой метил, и R_{16} представляет собой водород.

13. Соединение по любому из пп. 1-12, где R_6 и R_{14} независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1 - C_6 алкила; предпочтительно, где R_6 выбран из водорода и метила, и R_{14} представляет собой водород.

14. Соединение по любому из пп. 1-13, где R_7 и R_{13} независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1 - C_6 алкила; предпочтительно, где R_7 представляет собой метил, и R_{13} выбран из водорода, метила, изопропила, изобутила и 3-амино-3-оксопропила.

15. Соединение по любому из пп. 1-12, где R_6 и R_7 и/или R_{13} и R_{14} вместе с соответствующим атомом N и атомом C, к которым они присоединены, образуют замещенную или незамещенную пирролидиновую группу.

16. Соединение по любому из пп. 1-15, где R_2 выбран из водорода, замещенного или незамещенного C_1 - C_6 алкила и COR_a , и где R_a представляет собой замещенный или незамещенный C_1 - C_6 алкил; предпочтительно, где R_2 представляет собой водород.

17. Соединение по любому из пп. 1-16, где R_{17} выбран из водорода, COR_a , $COOR_a$, $CONHR_b$, $(C=S)NHR_b$ и SO_2R_c , и где каждый R_a , R_b и R_c независимо выбран из замещенного или незамещенного C_1 - C_6 алкила, замещенного или незамещенного C_2 - C_6 алкенила, замещенного или незамещенного C_2 - C_6 алкинила, замещенного или незамещенного арила и замещенной или незамещенной гетероциклической группы; предпочтительно, где R_{17} выбран из водорода, COO бензила, CO бензо[b]тиофен-2-ила, группы SO_2 (*пара*-метилфенил), $COCOCH_3$ и $COOC(CH_3)_3$.

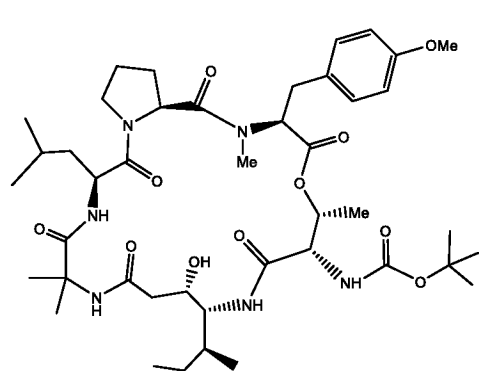
18. Соединение по любому из пп. 1-17, где X представляет собой NH.

19. Соединение по любому из пп. 1-17, где X представляет собой O.

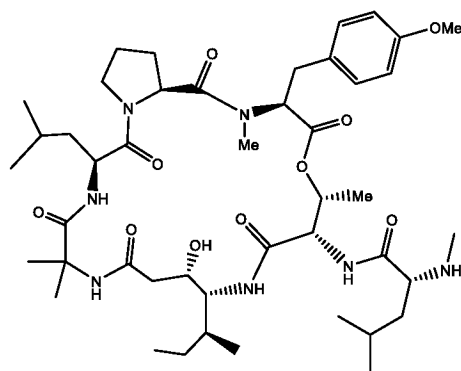
20. Соединение по любому из пп. 1-19, где Y представляет собой CO.

21. Соединение по любому из пп. 1-19, где Y представляет собой $-COCH(CH_3)CO-$.

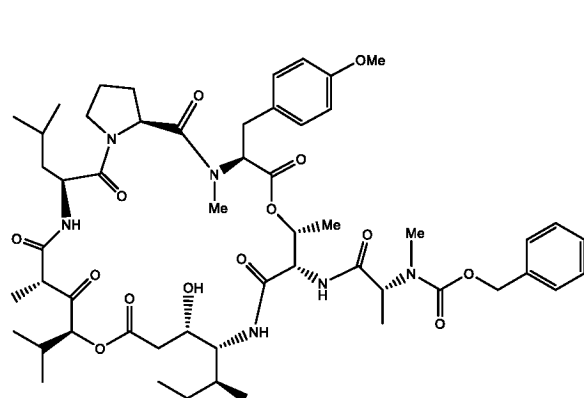
22. Соединение по любому из пп. 1-6, имеющее следующую структуру:



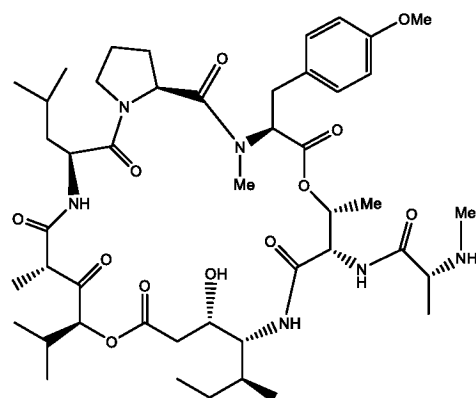
,



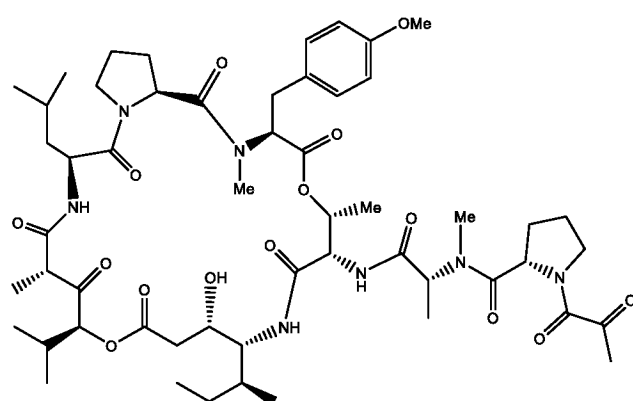
,



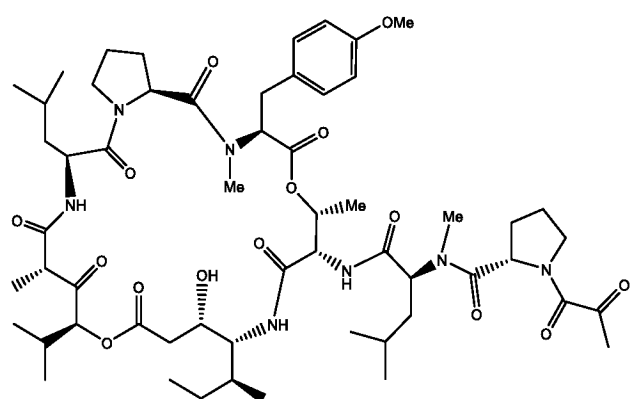
,



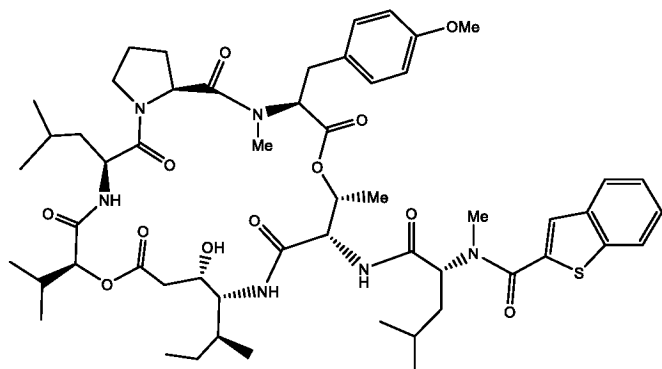
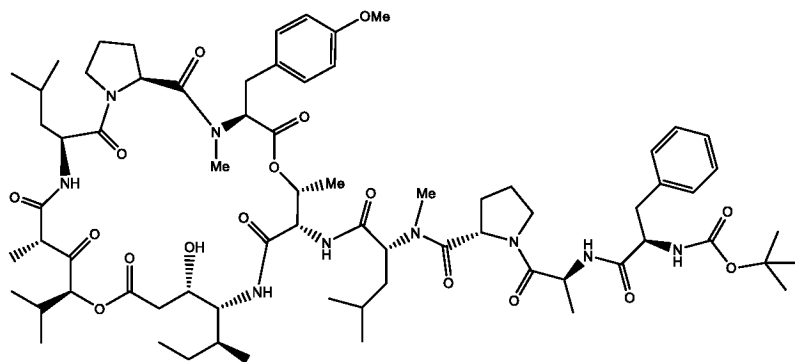
,



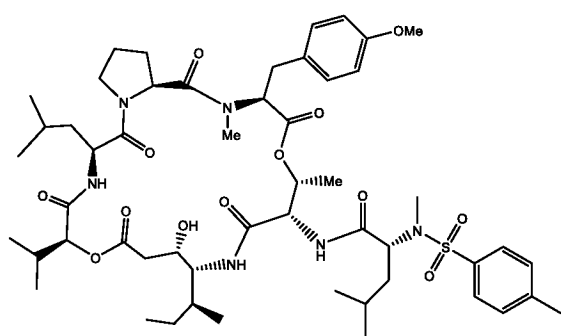
,



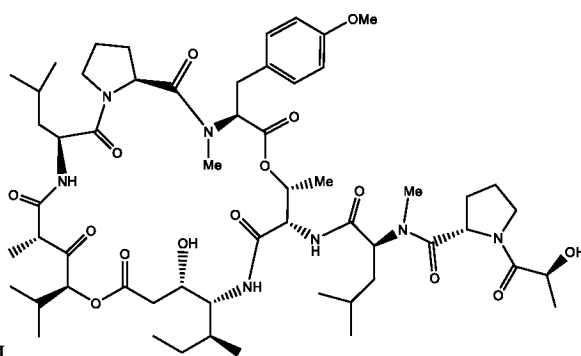
,



И



ИЛИ



или его фармацевтически приемлемые соли или стереоизомеры.

23. Соединение по любому из пп. 1-6, где соединение представляет собой PLD (плитидепсин) или его фармацевтически приемлемые соли или стереоизомеры.

24. Соединение по любому из пп. 1-6, где соединение представляет собой дидемнин В или его фармацевтически приемлемые соли или стереоизомеры.

25. Соединение по любому из пп. 1-6, где соединение представляет собой PLD.

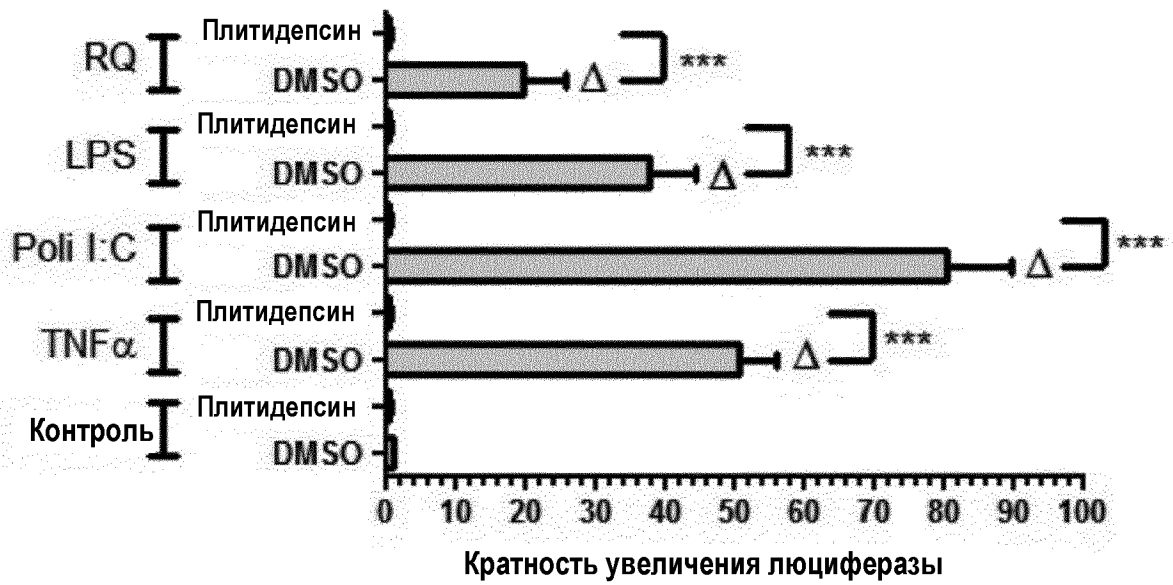
26. Соединение по любому из пп. 1-6, где соединение представляет собой дидемнин В.

27. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пп. 1-26 или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер и фармацевтически приемлемый носитель, для применения в лечении аутоиммунного состояния.

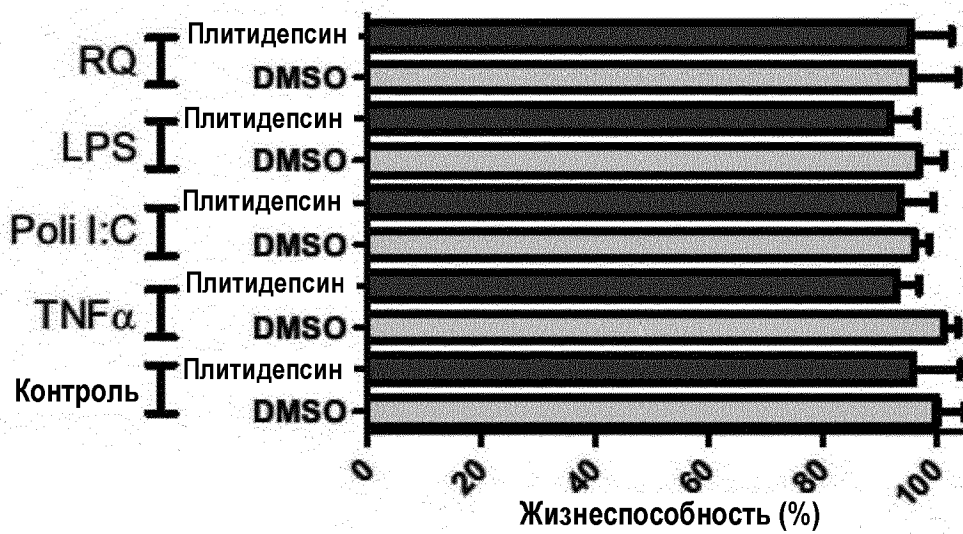
28. Применение соединения по любому из пп. 1-26 или его фармацевтически приемлемых соли или стереоизомера в изготовлении лекарственного средства для лечения аутоиммунного состояния.

29. Способ лечения аутоиммунного состояния, включающий введение нуждающемуся в этом индивидууму терапевтически эффективного количества соединения по любому из пп. 1-26 или его фармацевтически приемлемых соли или стереоизомера.

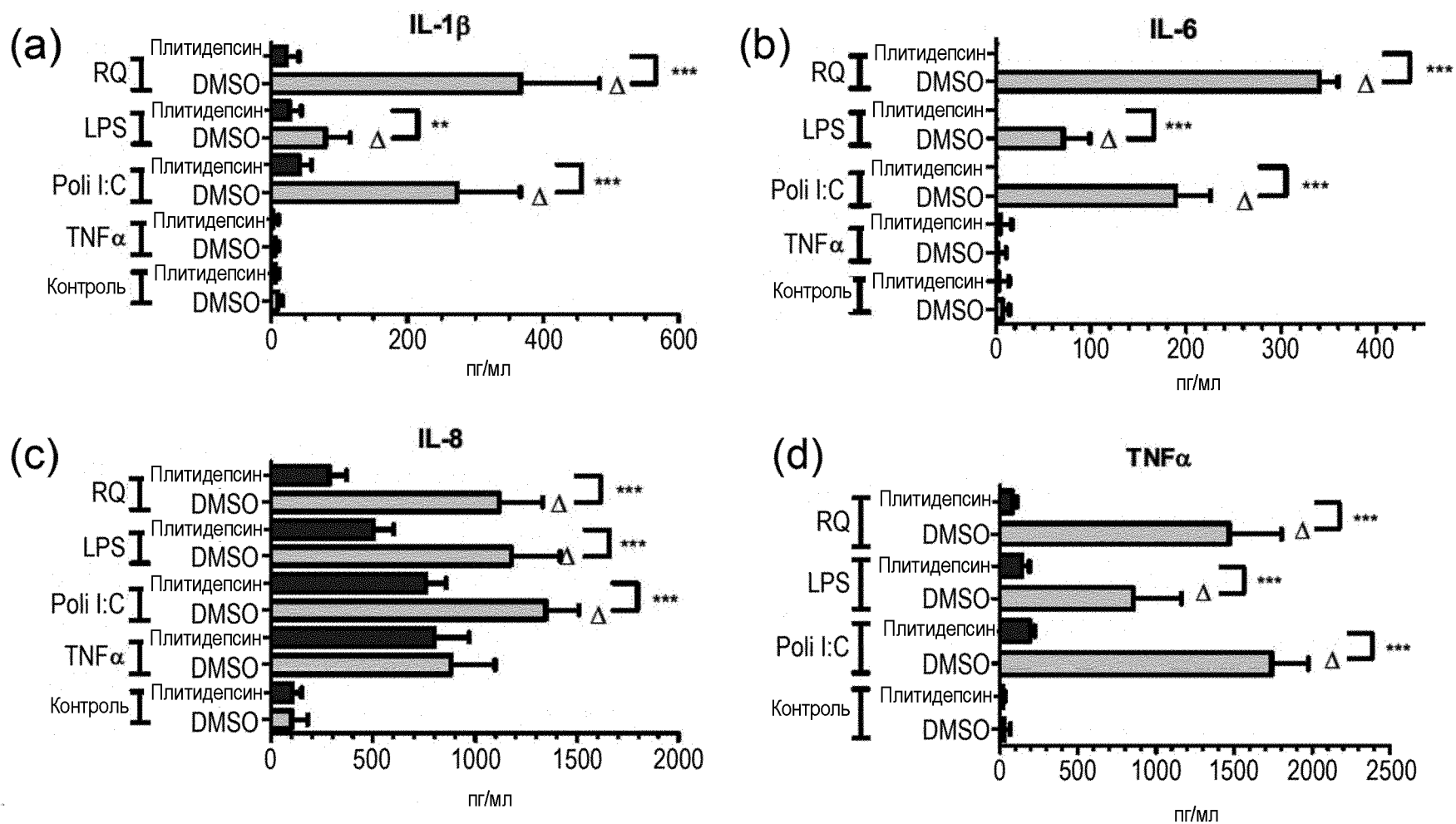
30. Набор, содержащий соединение по любому из пп. 1-26 вместе с инструкциями по лечению аутоиммунного состояния.



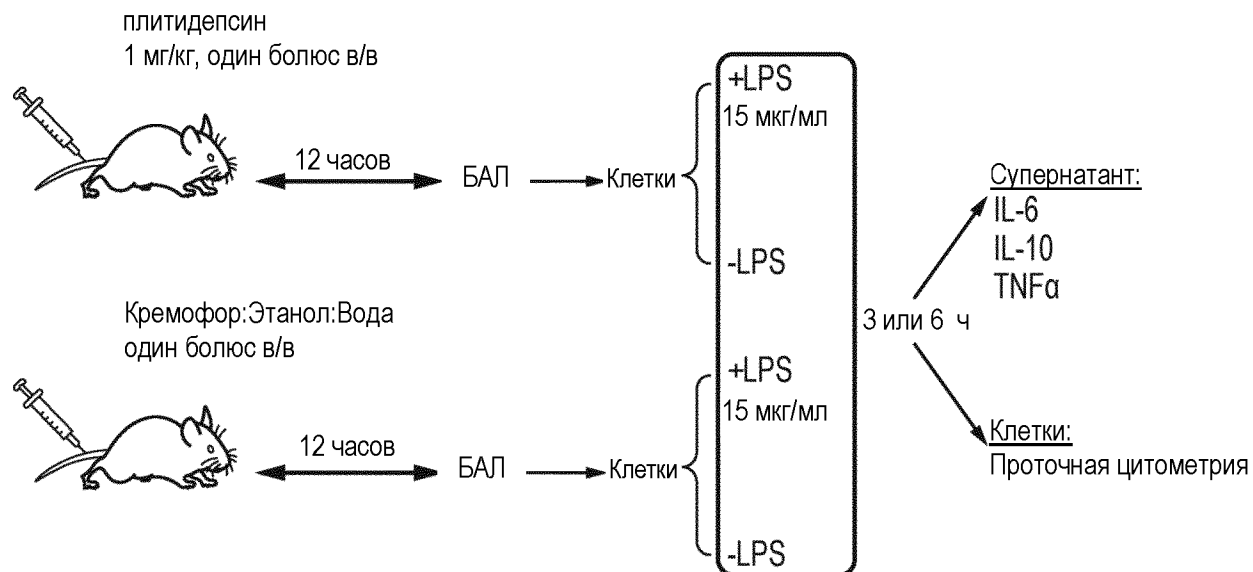
Фиг. 1a



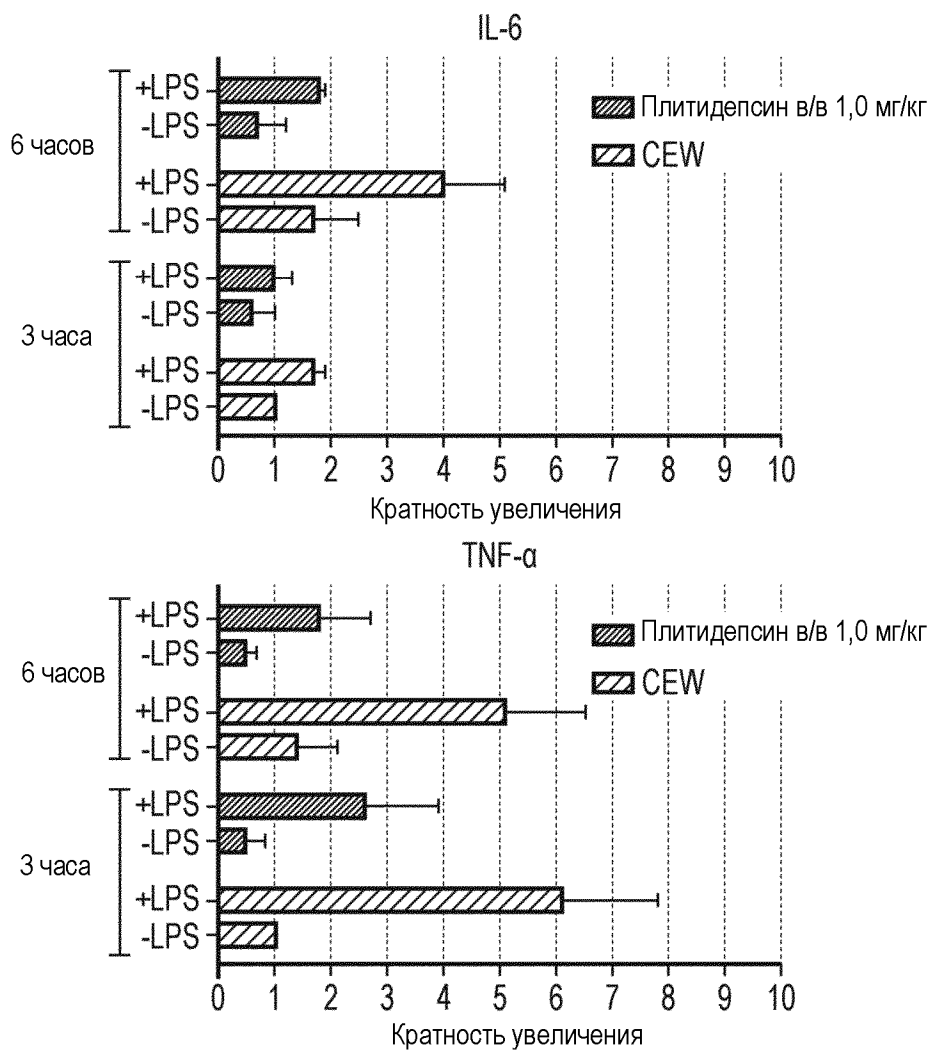
Фиг. 1b



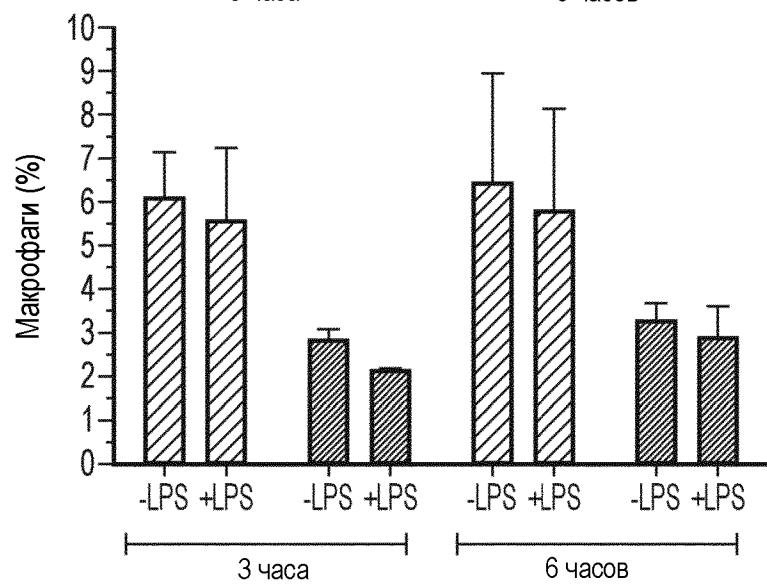
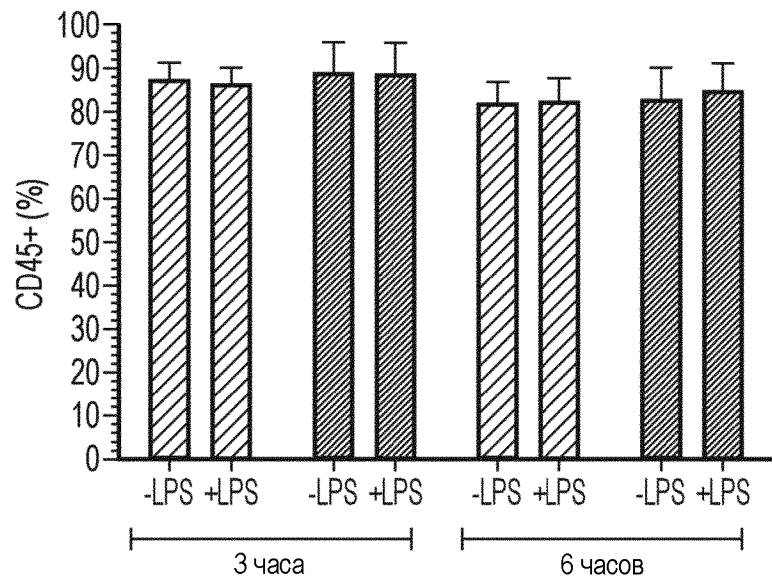
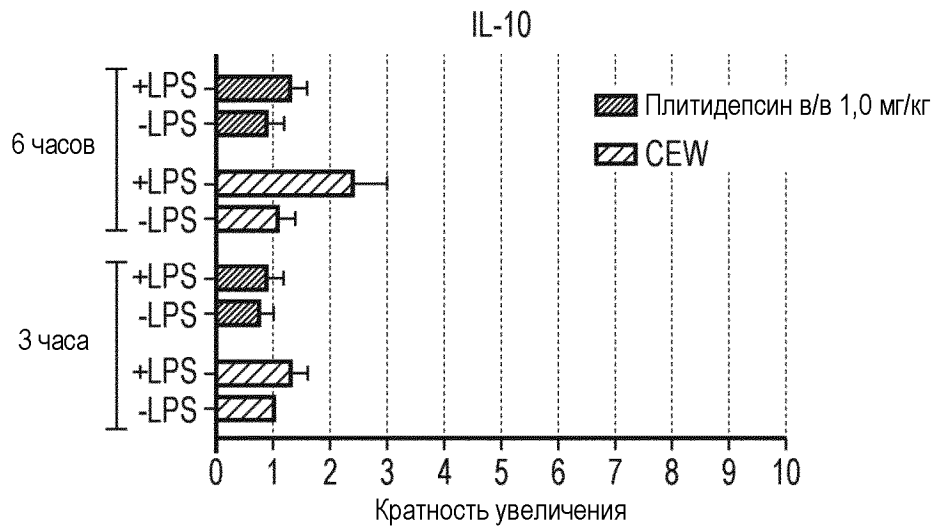
Фиг. 2



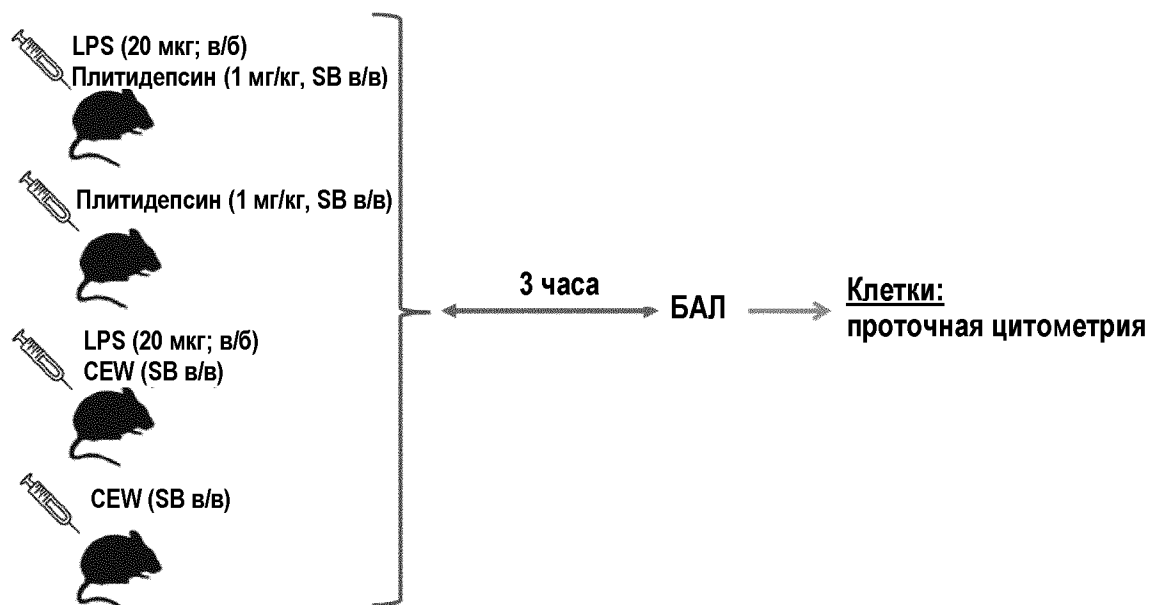
Фиг. 3А



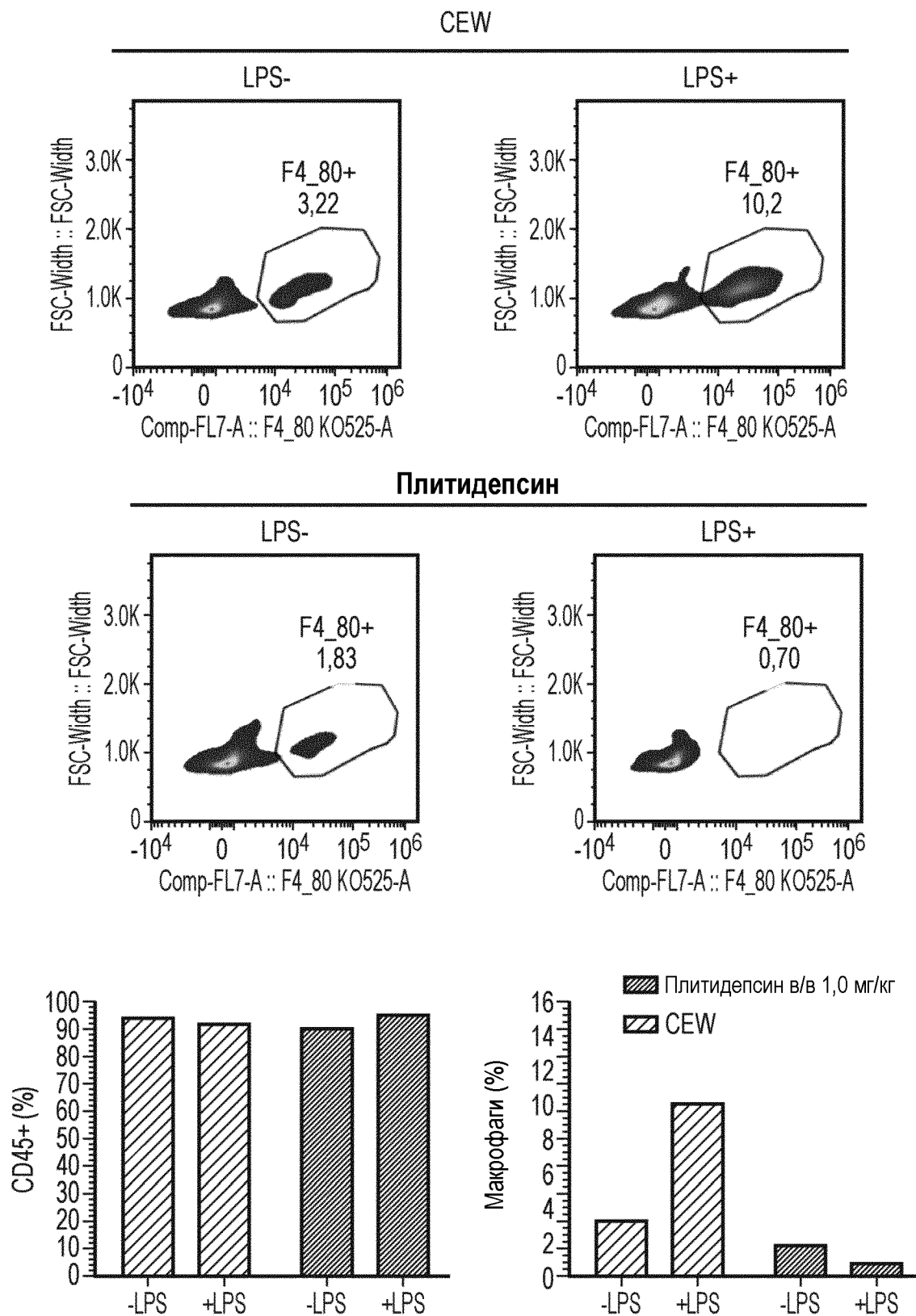
Фиг. 3В

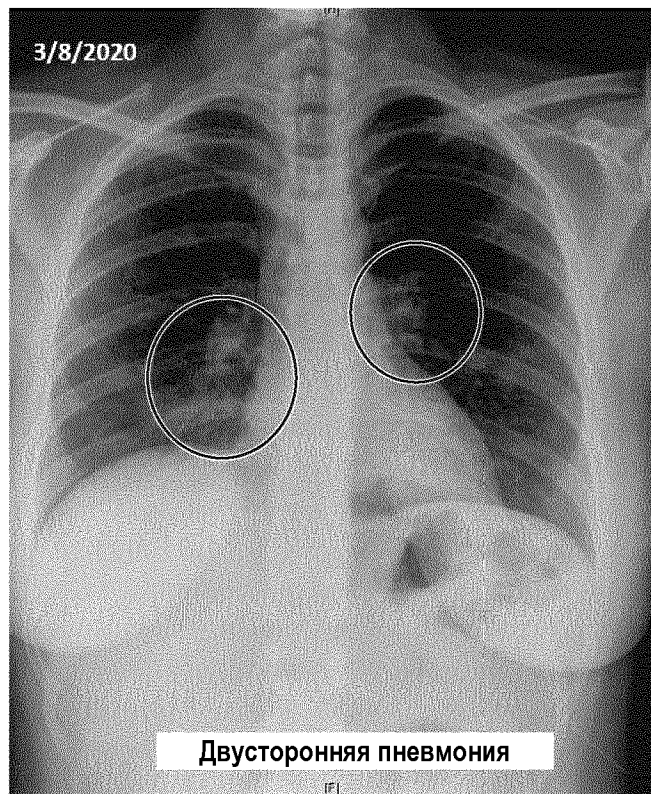


Фиг. 3В (продолжение)

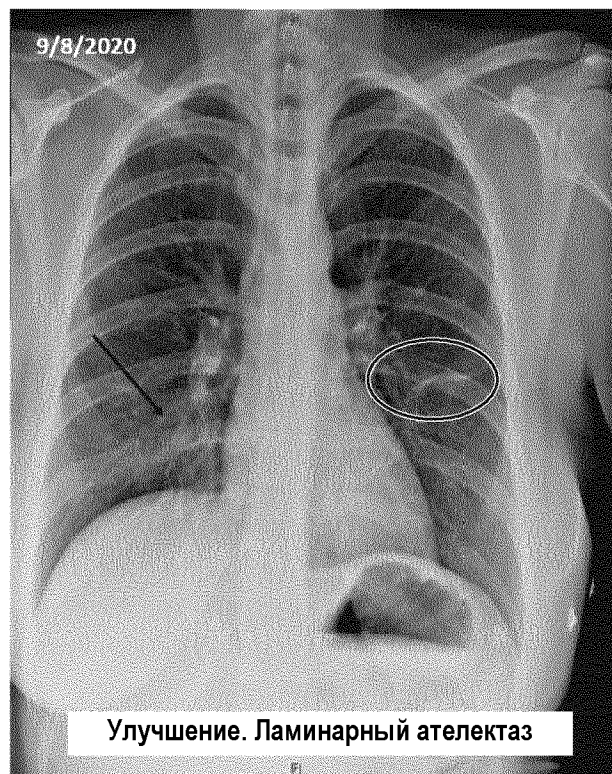


Фиг. 4А

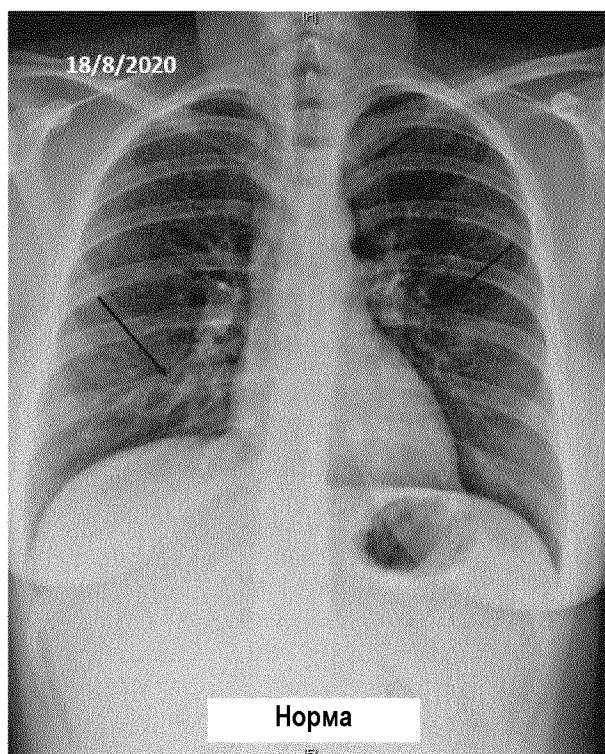
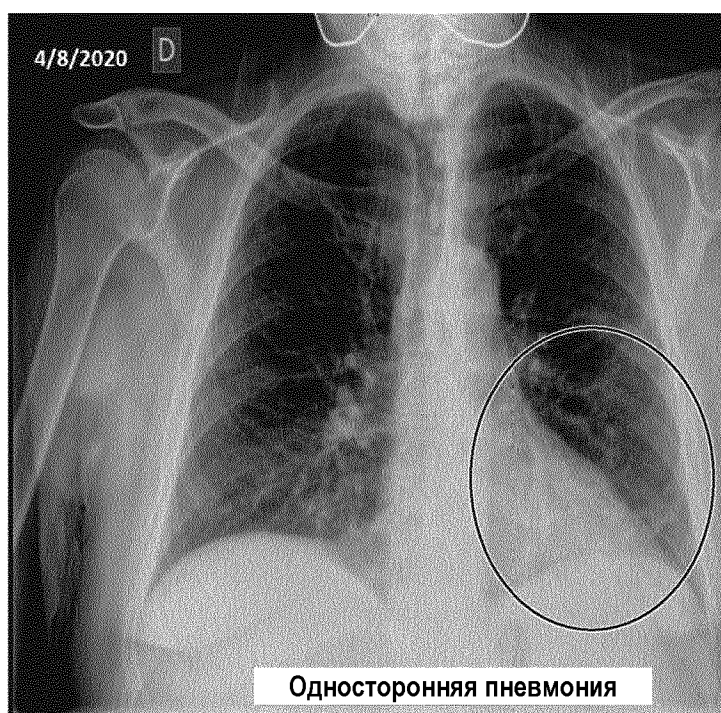
**Фиг. 4В**

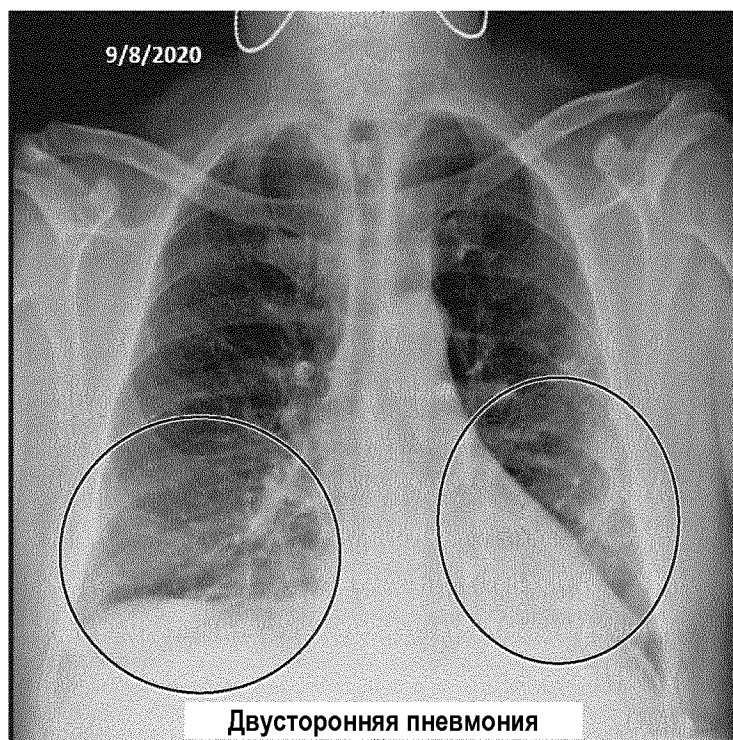


Фиг. 5a

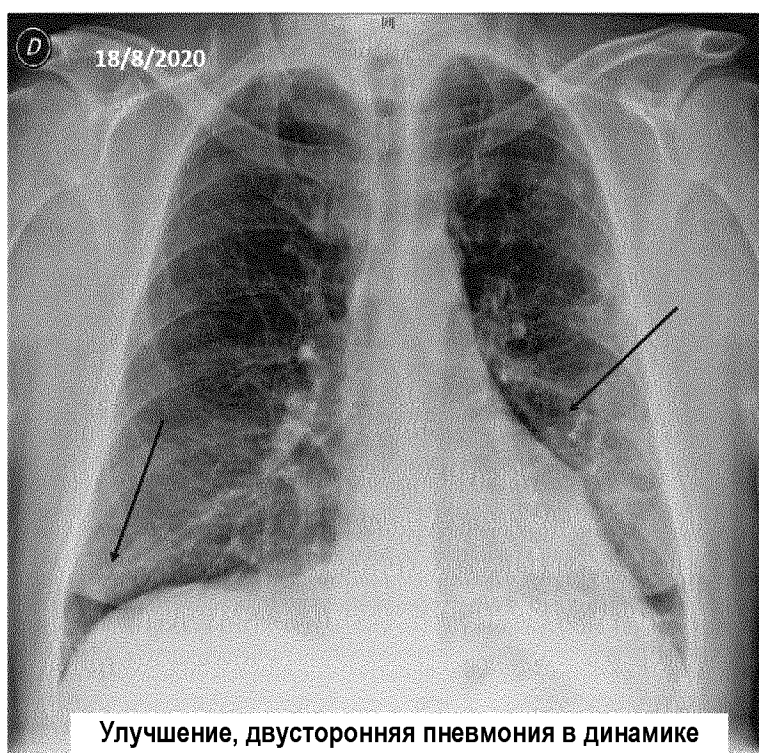


Фиг. 5b

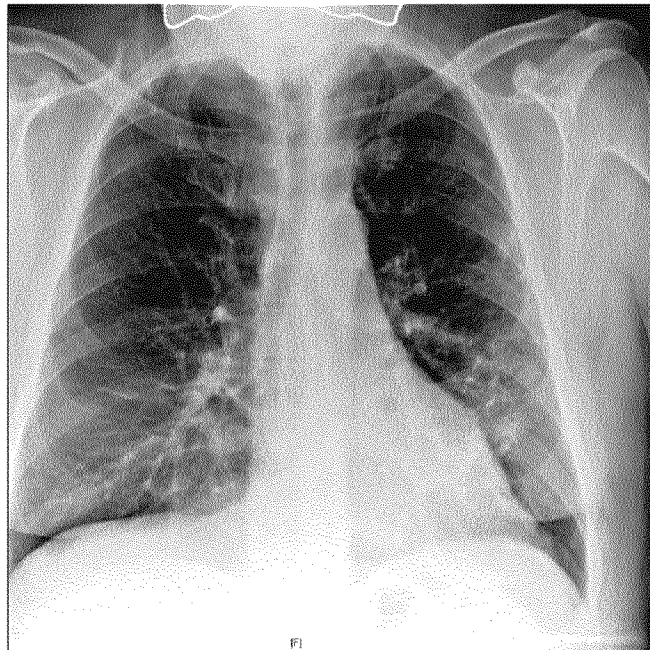
**Фиг. 5с****Фиг. 6а**



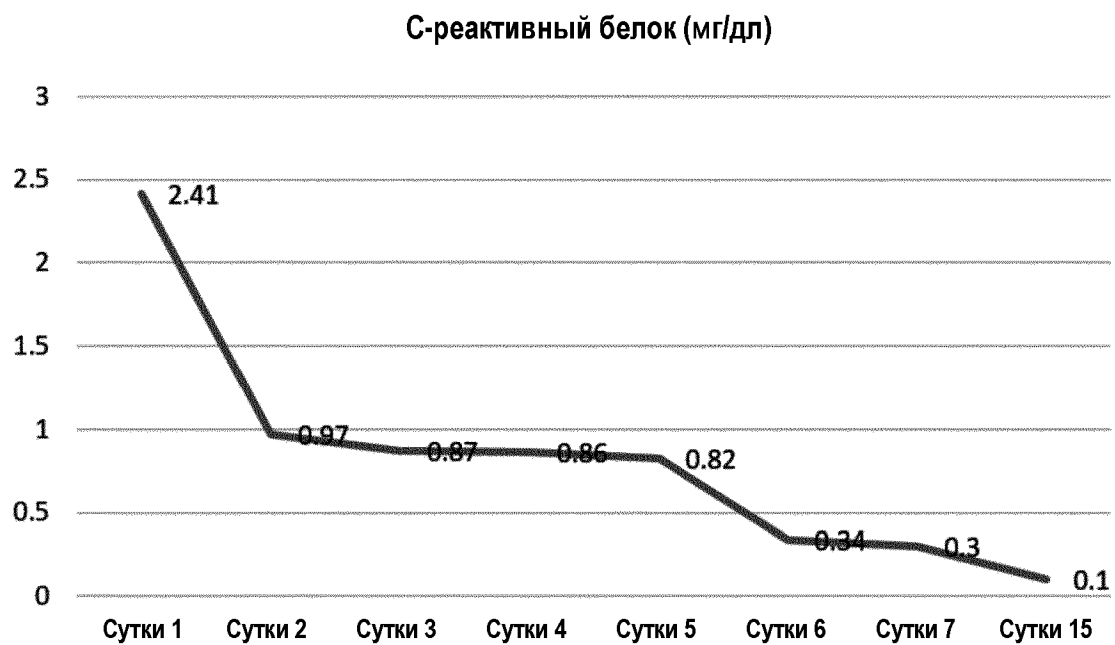
Фиг. 6b



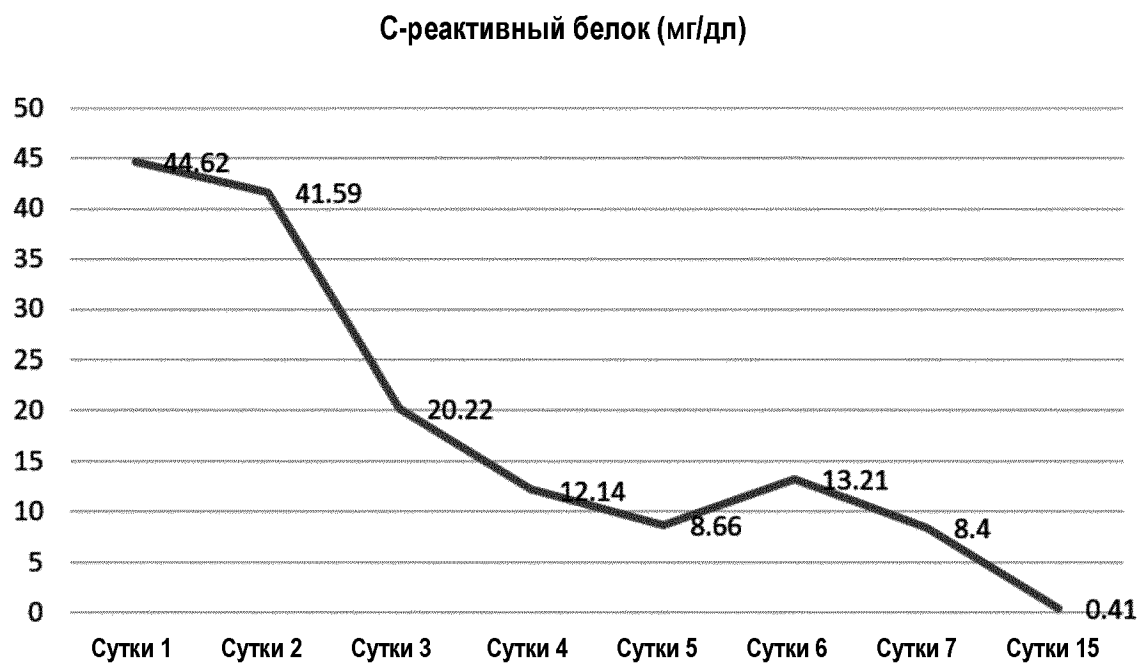
Фиг. 6с



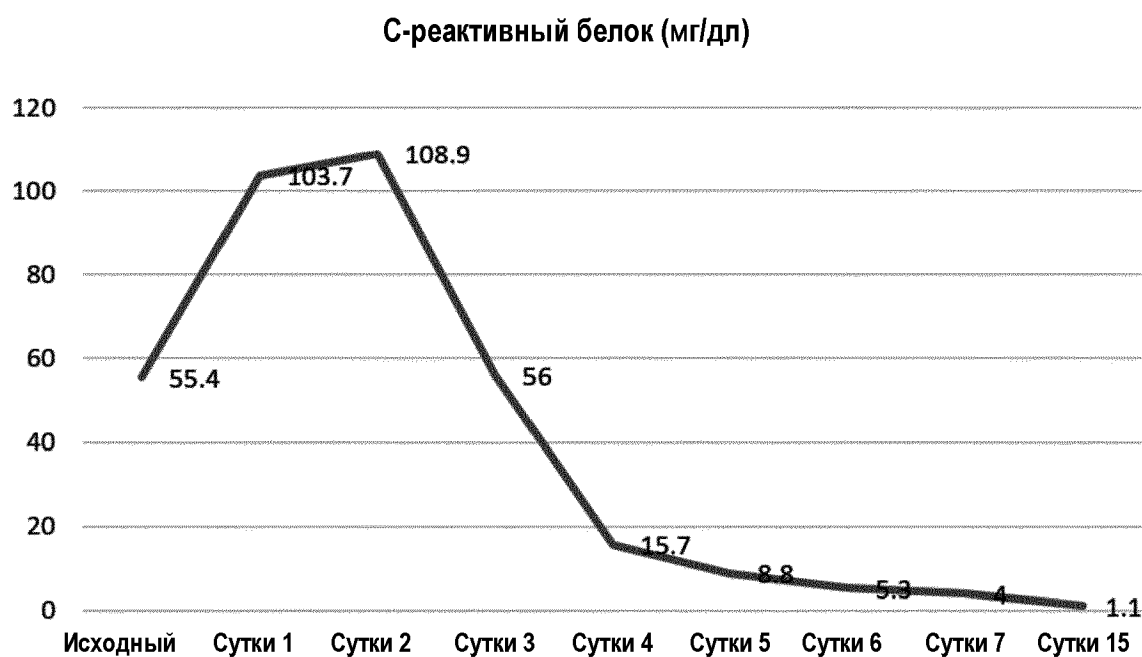
Фиг. 6d



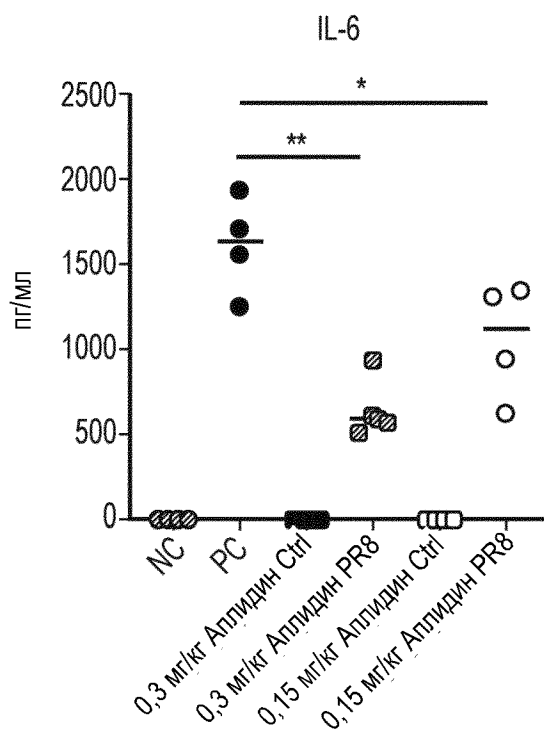
Фиг. 7a



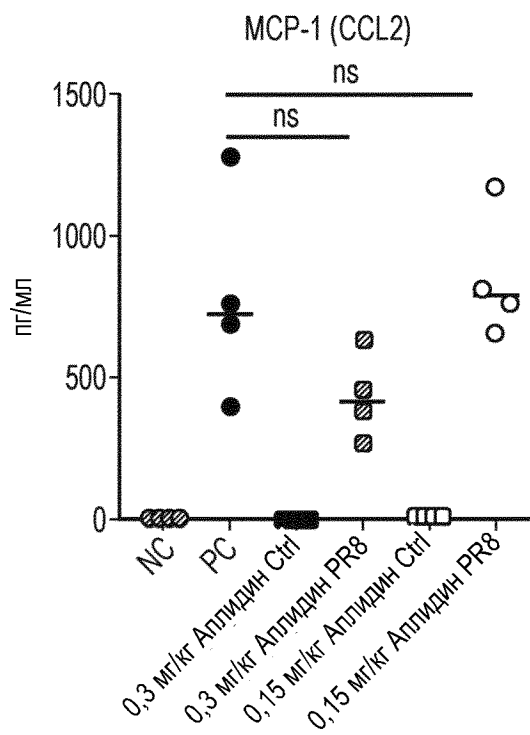
Фиг. 7b



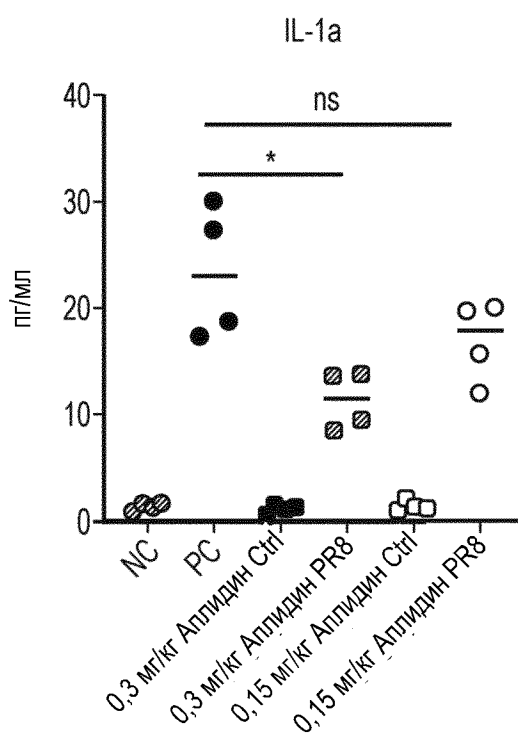
Фиг. 7с



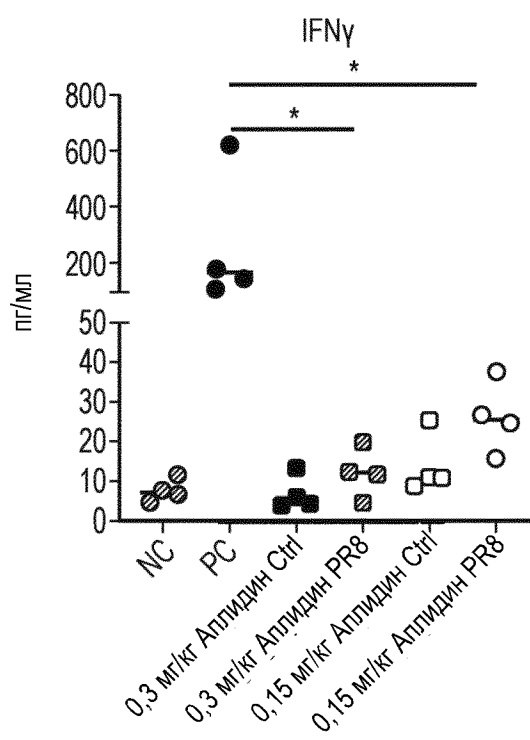
Фиг. 8a



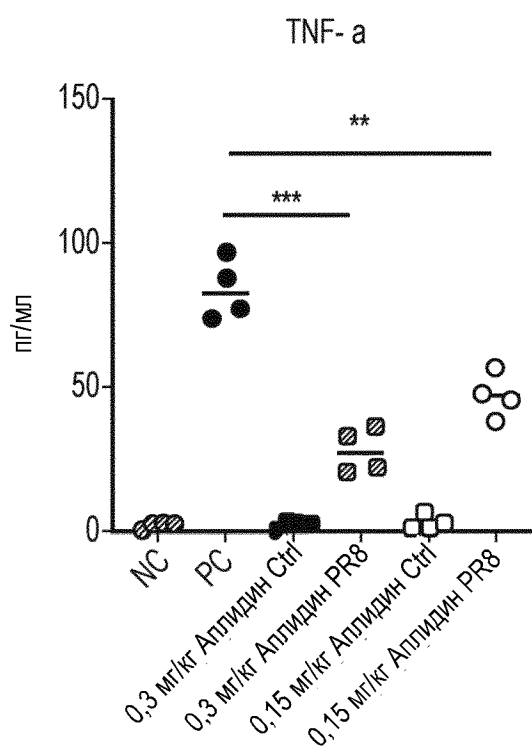
Фиг. 8b



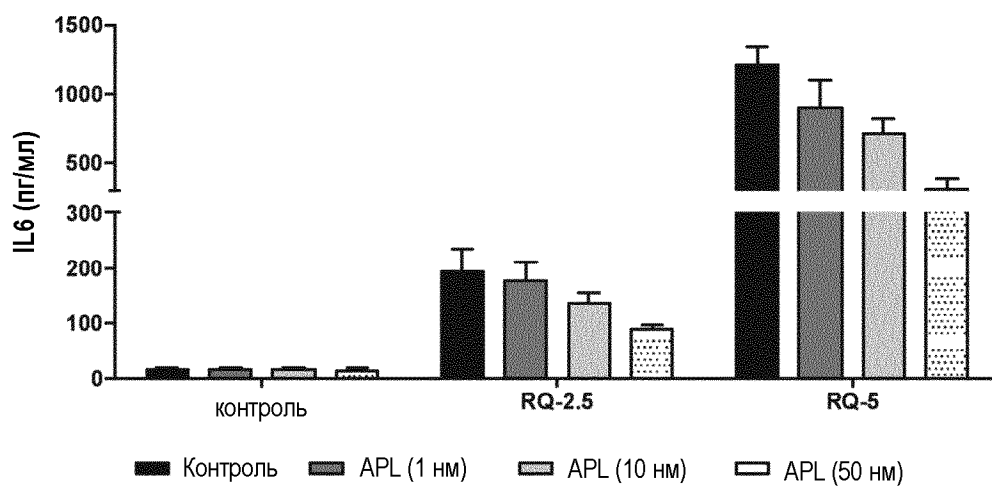
Фиг. 8c



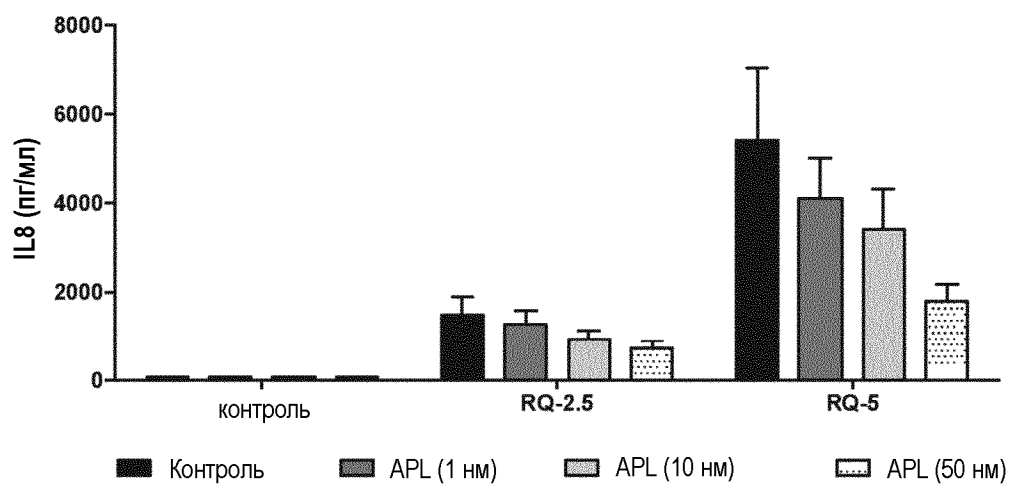
Фиг. 8d



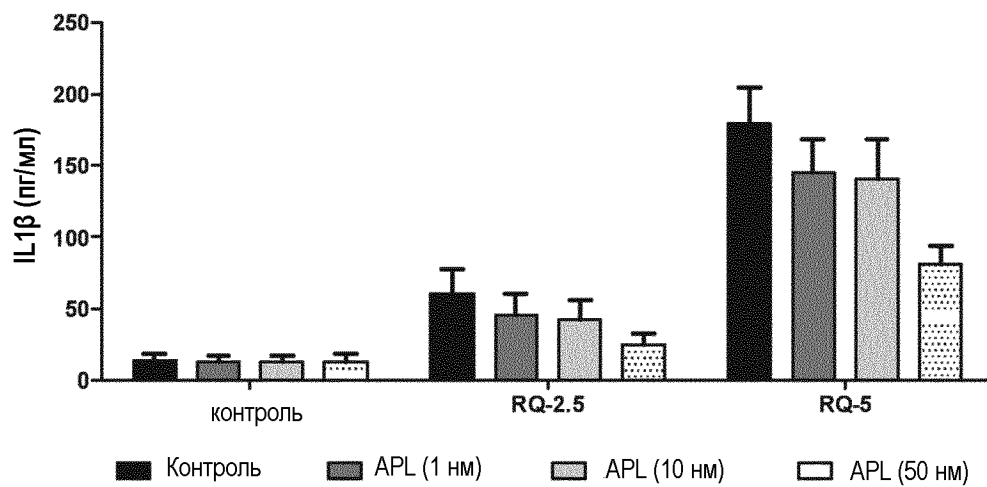
Фиг. 8е



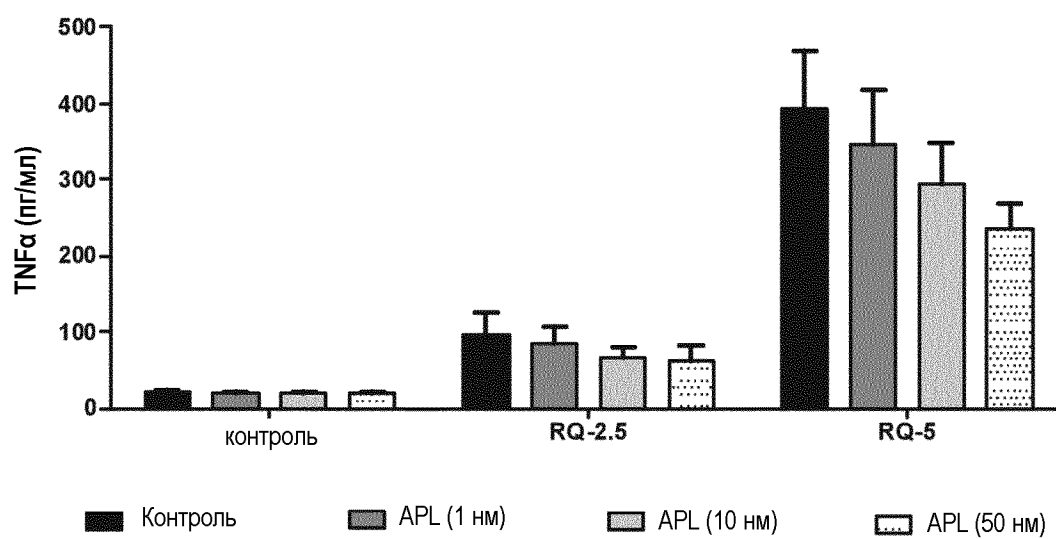
Фиг. 9а



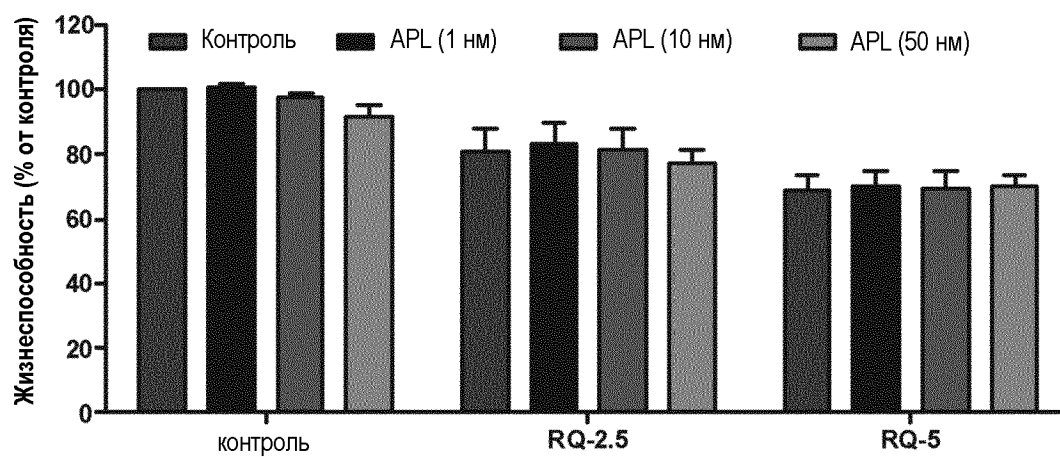
Фиг. 9b



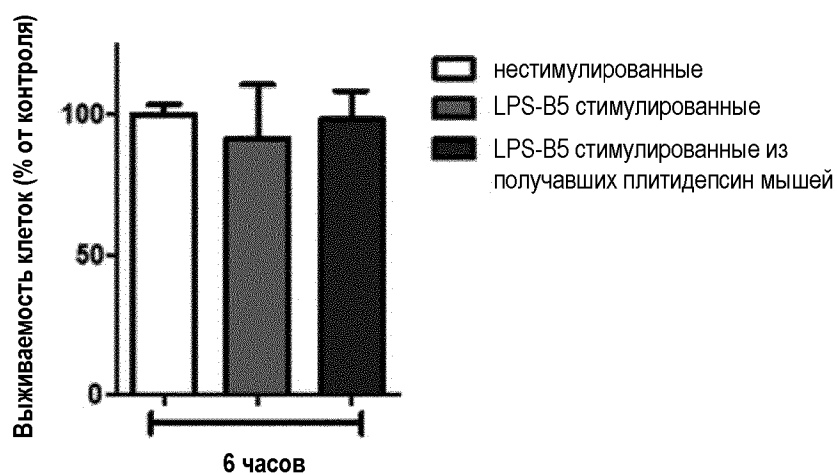
Фиг. 9с



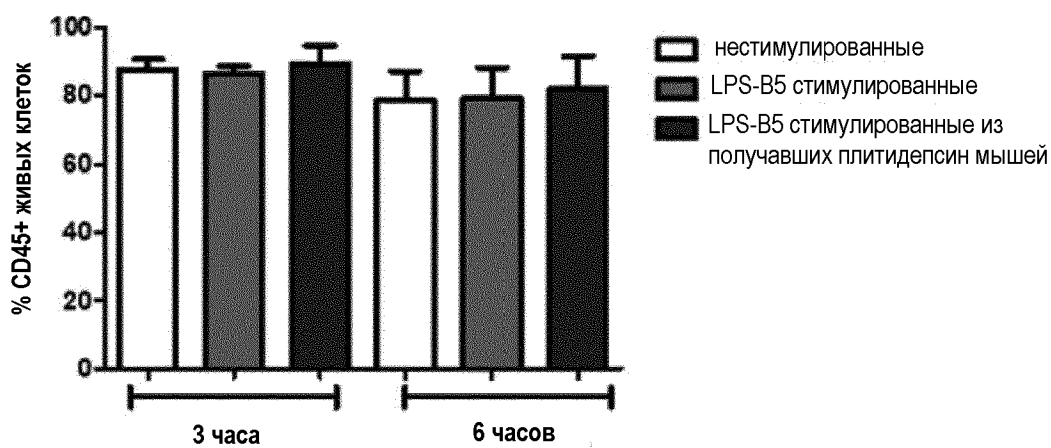
Фиг. 9d



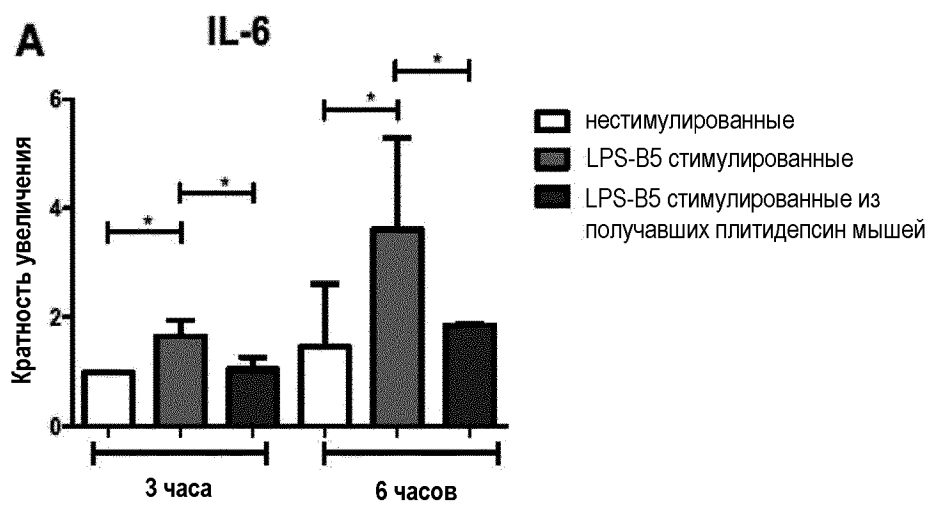
Фиг. 9е



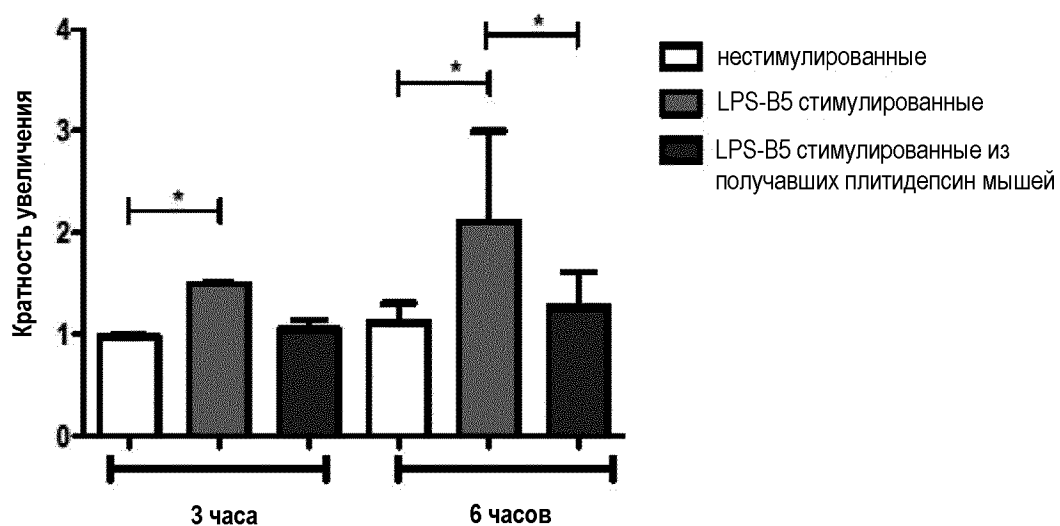
Фиг. 10а



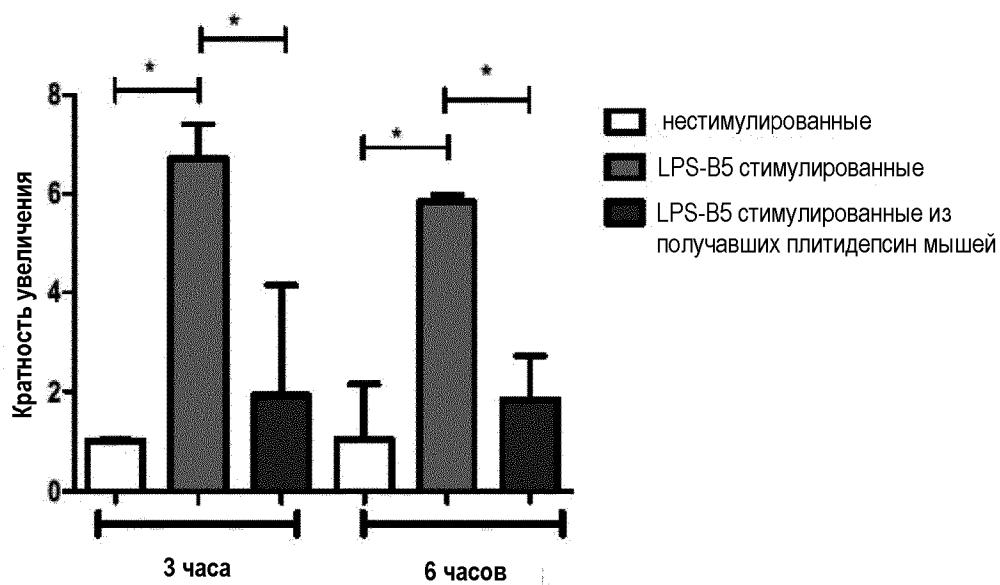
Фиг. 10b



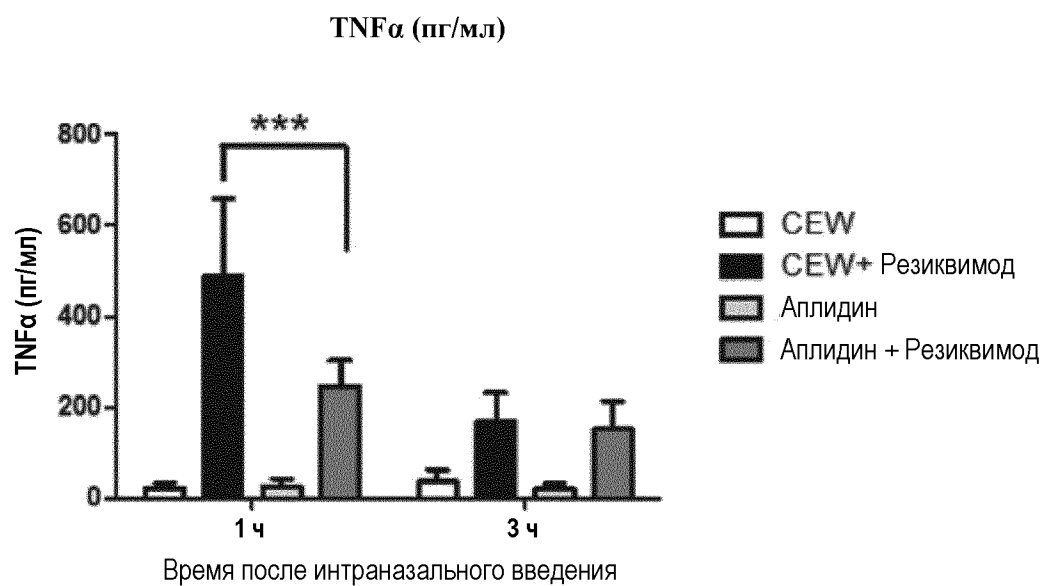
Фиг. 10с

IL-10

Фиг. 10d

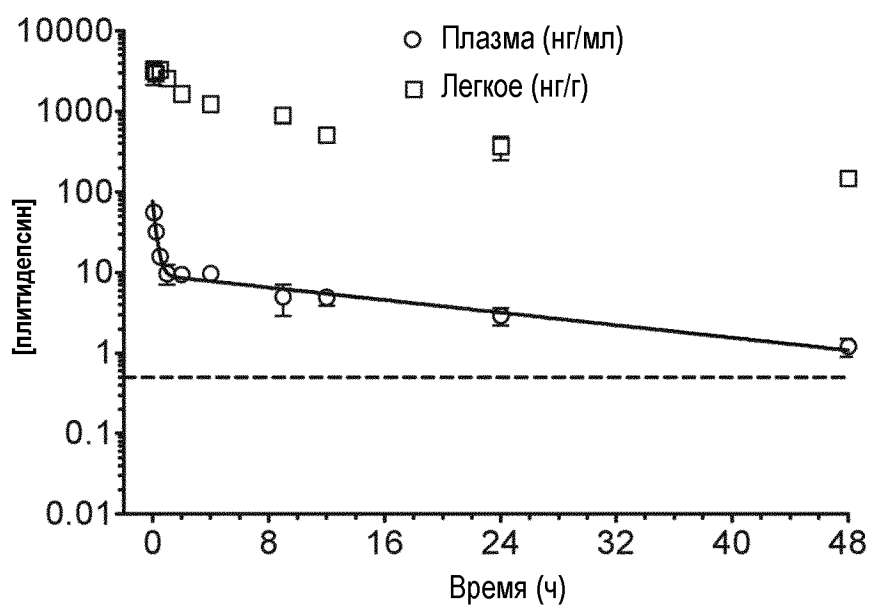
TNF α 

Фиг. 10е



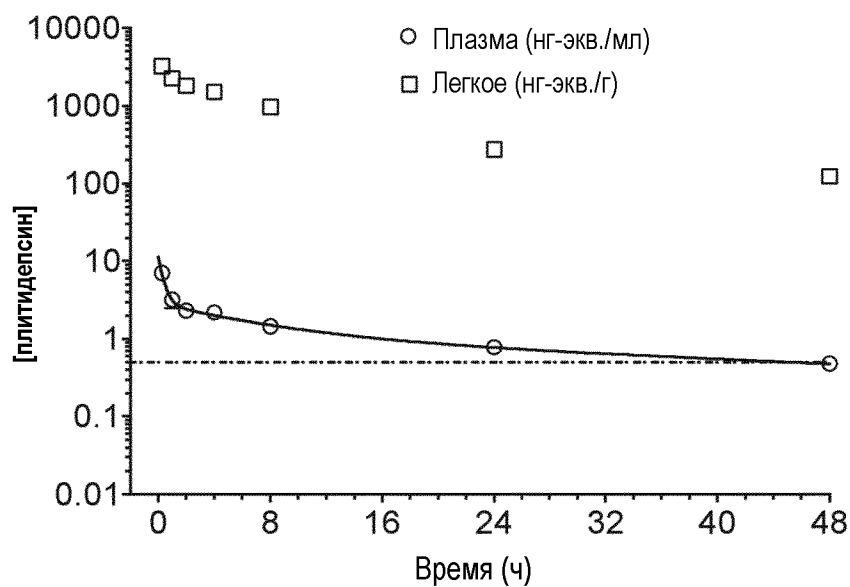
Фиг. 11

1 мг/кг, один болюс в/в (MTD)



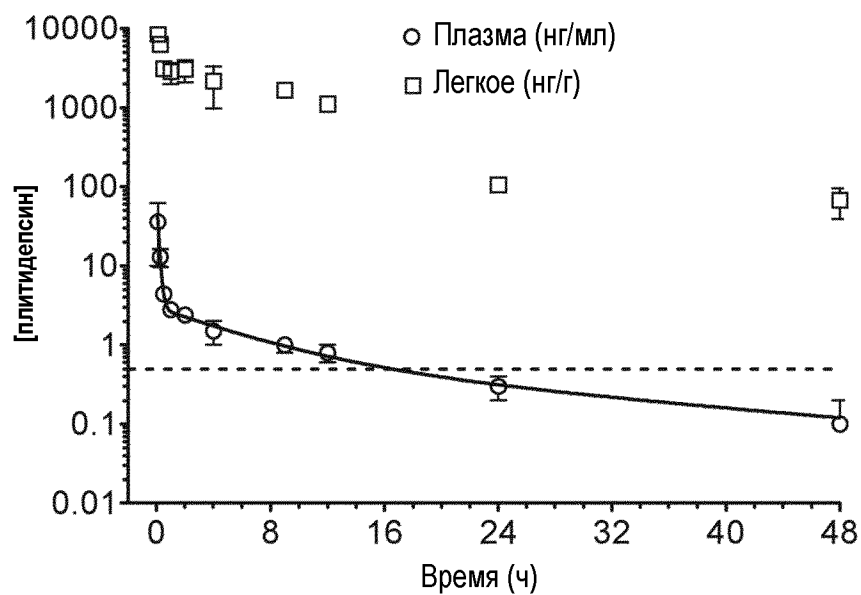
Фиг. 12а

0,2 мг/кг, один болюс в/в (MTD); $^{14}\text{C}_1$ -плитидепсин



Фиг. 12b

0,2 мг/кг, один болюс в/в



Фиг. 12c