

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **043307**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.05.12

(21) Номер заявки
202090068

(22) Дата подачи заявки
2018.07.23

(51) Int. Cl. **C07D 417/00** (2006.01)
C07D 419/00 (2006.01)
A61K 31/425 (2006.01)
A61K 31/44 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01)

(54) **СОЕДИНЕНИЯ, ВЛИЯЮЩИЕ НА СИНТЕЗ ПИГМЕНТА И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

(31) **62/535,540; 16/041,838**

(32) **2017.07.21; 2018.07.23**

(33) **US**

(43) **2020.05.12**

(86) **PCT/IB2018/055459**

(87) **WO 2019/016782 2019.01.24**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ВЕРСИТЕК ЛИМИТЕД (CN)

(72) Изобретатель:
**Као И Цун Ричард, Гао Пэн, Ли
Сюэчэнь, Лю Мин (CN)**

(74) Представитель:
Вахнин А.М. (RU)

(56) **US-A1-2006014807
CN-A-1897928
CN-A-103717574
EP-A1-0468054**

(57) Настоящее изобретение относится к соединениям и их композициям для лечения и/или предотвращения микробных инфекций и/или связанных с ними заболеваний или состояний. Композиция содержит фармацевтический носитель, вспомогательное вещество, наполнитель, растворитель и разбавитель. Настоящее применение включает в себя приготовление композиции, содержащей эффективное количество одного или нескольких соединений для предотвращения и/или лечения микробных инфекций и/или связанных с ними заболеваний или патологических состояний. В одном варианте осуществления изобретения указанные микробные инфекции представляют собой бактериальные инфекции. В частности, указанные бактериальные инфекции представляют собой стафилококковые инфекции.

B1**043307****043307****B1**

Настоящая заявка испрашивает приоритет предварительной заявки на патент США серийный номер 62/535540, поданной 21 июля 2017 года, и обычной заявки на патент США серийный номер 16/041838, поданной 23 июля 2018 года, раскрытие которых полностью включены в настоящую заявку путем ссылки.

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к соединениям и их производным, композиции, содержащей указанные соединения и/или производные, и их применению для лечения микробных инфекций и/или связанных с ними заболеваний или патологических состояний. Более конкретно, настоящие соединения, производные, содержащие их композиции, и способы предназначены для лечения бактериальных инфекций.

Уровень техники изобретения

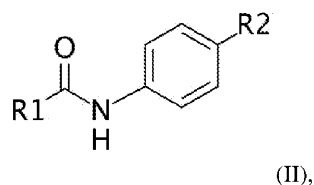
Staphylococcus aureus является основным патогеном человека среди населения и в больницах, вызывая различные инфекции, от безопасных инфекций до угрожающих жизни патологических состояний [18]. В связи с широким распространением метициллин-резистентного *S. aureus* (MRSA) в больницах и среди населения, лечение инфекций, связанных с *S. aureus*, становится все более трудным [19]. Доказано, что стафилоксантин является важным фактором, способствующим бактериальной инвазии [1]. Пять генов *sttOPQMN*, расположенных в опероне, отвечают за биосинтез пигмента. Транскрипция этого оперона управляется σ^B -зависимым промотором перед *crtO* и заканчивается терминатором после *crtN* [2]. Пигменты, придающие *S. aureus* золотистый цвет, также делают его устойчивым к воздействию активных форм кислорода (АФК) и нейтрофилов [3]. Пигментированные бактерии обладают повышенной устойчивостью к иммунной защите хозяина [4].

В мышинной модели подкожной инфекции животные, инфицированные штаммом *S. aureus* дикого типа, имели более высокую бактериальную нагрузку и большие видимые поражения, чем те животные, которые были инфицированы непигментированными бактериями [4]. Пониженная вирулентность бактериальных штаммов с дефектным синтезом каротиноидов была также показана на мышинной модели системной инфекции *S. aureus* [3]. Данные *in vitro* и *in vivo* позволяют предположить, что блокирование синтеза пигмента может снизить патогенность.

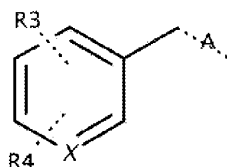
Было показано, что дегидроскваленсинтаза (*CrtM*) катализирует первую стадию пути биосинтеза и является мишенью для противоинфекционной терапии, основанной на нейтрализации фактора вирулентности. Было установлено, что дифениламин является ингибитором 4,4-диапофитоендесатуразы (*CrtN*) при высоком микромолярном уровне [5]. Было показано, что другой потенциальный ингибитор *CrtN*, нафтифин, одобренное Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных препаратов США (FDA) противогрибковое соединение, снижает бактериальную нагрузку у разных моделей инфекции у мышей [6]. Тем не менее, остается потребность в новых соединениях и применении этих соединений для приготовления композиции для лечения и/или предотвращения стафилококковых инфекций.

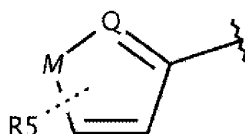
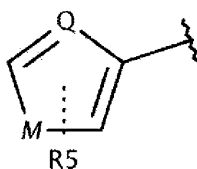
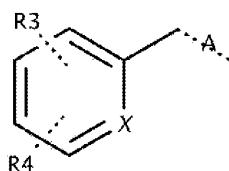
Сущность изобретения

Настоящее изобретение относится к соединениям и их применению для предотвращения и/или лечения микробных инфекций и/или связанных с ними заболеваний или патологических состояний. В первом аспекте настоящее изобретение относится к соединениям и/или их производным, которые могут быть представлены формулой (II):



где R1 выбран из





или любого четырех-, пяти-, шести-, семи-, восьми-, девяти-, десяти-, одиннадцати- или двенадцатичленного гетероцикла, циклоалкенила или циклоалкила,

где R₃ и R₄ могут быть независимо или совместно выбраны из группы: H; F; Cl; Br; I; OH; CN; (C₁₋₄) алкил, такой как метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, втор-бутил, изобутил, трет-бутил; (C₂₋₄) алкенил, такой как этенил, пропенил, бутенил, где двойная связь может быть расположена в любом положении в алкенильной углеродной цепи, и включая любые его алкенильные конформационные изомеры; алкинил; аралкил; алкарил; галогенированный алкил; гетероалкил; арил; гетероциклил; циклоалкил; циклоалкенил; циклоалкинил; гидроксиалкил; аминоалкил; amino; алкиламино; ариламино; диалкиламино; алкилариламино; диариламино; ациламино; гидроксил; тиол; тиаалкил; алкокси; алкилтио; алкоксиалкил; арилокси; арилалкокси; ацилокси; нитро; карбамоил; трифторметил; фенокси; бензилокси; фосфоновая кислота; фосфатный эфир; сульфоновая кислота (-SO₃H); сульфатный эфир; сульфонамид; алкарил; арилалкил; карбамат; amino; алкиламино; ариламино; диалкиламино; алкилариламино; диариламино; алкилтио; гетероалкил; алкилтрифенилфосфоний; гетероциклил; кетон (=O); простой эфир (-OR₁₀); и сложный эфир (-COOR₁₁ и -OC(=O)R₁₁);

или R₃ и R₄ могут быть связаны друг с другом с образованием четырех-, пяти- или шестичленного гетероцикла, циклоалкенила или циклоалкила;

R₅ может быть выбран из группы: H; F; Cl; Br; I; OH; CN; (C₁₋₄) алкил, такой как метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, втор-бутил, изобутил, трет-бутил; (C₂₋₄) алкенил, такой как этенил, пропенил, бутенил, где двойная связь может быть расположена в любом положении в алкенильной углеродной цепи, и включая любые его алкенильные конформационные изомеры; алкинил; аралкил; алкарил; галогенированный алкил; гетероалкил; арил; гетероциклил; циклоалкил; циклоалкенил; циклоалкинил; гидроксиалкил; аминоалкил; amino; алкиламино; ариламино; диалкиламино; алкилариламино; диариламино; ациламино; гидроксил; тиол; тиаалкил; алкокси; алкилтио; алкоксиалкил; арилокси; арилалкокси; ацилокси; нитро; карбамоил; трифторметил; фенокси; бензилокси; фосфоновая кислота; фосфатный эфир; сульфоновая кислота (-SO₃H); сульфатный эфир; сульфонамид; алкарил; арилалкил; карбамат; amino; алкиламино; ариламино; диалкиламино; алкилариламино; диариламино; алкилтио; гетероалкил; алкилтрифенилфосфоний; гетероциклил; кетон (=O); простой эфир (-OR₁₀); и сложный эфир (-COOR₁₁ и -OC(=O)R₁₁); и

где R₁₀ и R₁₁ могут быть независимо или совместно выбраны из группы, состоящей из: (C₁₋₄) алкила, такого как метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, втор-бутил, изобутил, трет-бутил; (C₂₋₄) алкенила, такого как этенил, пропенил, бутенил, где двойная связь может быть расположена в любом положении в алкенильной углеродной цепи, и включая любые алкенильные конформационные изомеры; и алкинила;

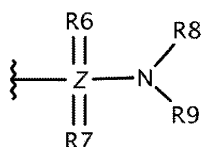
X выбран из N или C,

A представляет собой одинарную связь или двойную связь;

Q выбран из N или C,

M выбран из O или C, и

где R₂ выбран из:



где R₆ и R₇ могут быть независимо или совместно выбраны из О или отсутствовать;

R₈ и R₉ могут быть независимо или совместно выбраны из H; F; Cl; Br; I; OH; CN; (C₁₋₄) алкила, такого как метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, втор-бутил, изобутил, трет-бутил; (C₂₋₄) алкенила, такого как этенил, пропенил, бутенил, где двойная связь может быть расположена в любом положении в алкенильной углеродной цепи, и включая любые его алкенильные конформационные изомеры; алкинила; аралкила; алкарила; галогенированного алкила; гетероалкила; арила; гетероциклила; циклоалкила; циклоалкенила; циклоалкинила; гидроксиалкила; аминоалкила; amino; алкиламино; ариламино; диалкиламино; алкилариламино; диариламино; ациламино; гидроксила; тиола; тиаалкила; алкокси; алкилтио; алкоксиалкила; арилокси; арилалкокси; ацилокси; нитро; карбамоила; трифторметила; фенокси; бензилокси; фосфоновой кислоты; фосфатного эфира; сульфоновой кислоты (-SO₃H); сульфатного эфира; сульфонамида; алкарила; арилалкила; карбамата; amino; алкиламино; ариламино; диалкиламино; алкилариламино; диариламино; алкилтио; гетероалкила; алкилтрифенилфосфония; гетероциклила; кетона (=O); простого эфира (-OR₁₀); и сложного эфира (-COOR₁₁ и -OC(=O)R₁₁),

или R₈ и R₉ могут быть связаны друг с другом с образованием четырех-, пяти- или шестичленного гетероциклила, циклоалкенила или циклоалкила, и

где R₁₀ и R₁₁ могут быть независимо или совместно выбраны из группы, состоящей из: (C₁₋₄) алкила, такого как метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, втор-бутил, изобутил, трет-бутил; (C₂₋₄) алкенила, такого как этенил, пропенил, бутенил, где двойная связь может быть расположена в любом положении в алкенильной углеродной цепи, и включая любые алкенильные конформационные изомеры; и алкинила, и Z выбран из С или S.

В одном варианте осуществления изобретения настоящие соединения и/или их производные могут представлять собой антивирулентный агент для бактерий.

В другом варианте осуществления изобретения настоящие соединения и/или их производные эффективны в снижении вирулентности бактерий.

В другом варианте осуществления изобретения бактерии, для которых настоящие соединения и/или их производные эффективны в снижении их вирулентности, включают в себя *Staphylococci* sp.

В еще одном варианте осуществления изобретения бактерии, для которых настоящие соединения и/или их производные эффективны в снижении их вирулентности, включают в себя *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*).

В еще одном варианте осуществления изобретения бактерии, для которых настоящие соединения и/или их производные эффективны в снижении их вирулентности, включают в себя метициллинрезистентный *S. aureus* (MRSA).

В другом варианте осуществления изобретения указанное уменьшение вирулентности бактерий соединениями и/или их производными включает в себя ингибирование биосинтеза стафилоксантина в указанных бактериях и/или ингибирование или уменьшение продукции пигментов, которые устойчивы к антибактериальной иммунной защите хозяина.

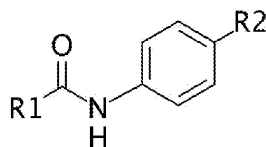
Также настоящее изобретение относится к композиции для предотвращения и/или лечения микробных инфекций и/или связанных с ними заболеваний или патологических состояний, содержащей эффективное количество соединений и/или их производных в соответствии с первым аспектом настоящего изобретения.

В одном варианте осуществления изобретения указанные микробные инфекции представляют собой бактериальные инфекции.

В другом варианте осуществления изобретения указанные микробные инфекции включают в себя стафилококковые инфекции.

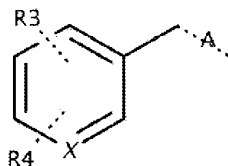
В другом варианте осуществления изобретения композиция дополнительно содержит фармацевтически приемлемый носитель, соль, сложный эфир, вспомогательное вещество, наполнитель, пролекарство, растворитель и разбавитель или любую их комбинацию.

Во втором аспекте настоящее изобретение относится к применению настоящих соединений для предотвращения и/или лечения микробных инфекций и/или связанных с ними заболеваний или патологических состояний, включающему в себя введение субъекту композиции, содержащей эффективное количество одного или нескольких соединений формулы (II):

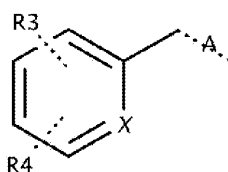


(II),

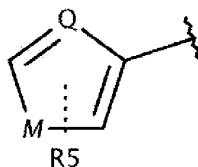
где R1 выбран из



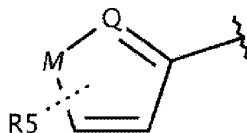
;



;



;



; или

любого четырех-, пяти-, шести-, семи-, восьми-, девяти-, десяти-, одиннадцати- или двенадцатичленного гетероцикла, циклоалкенила или циклоалкила,

где R₃ и R₄ могут быть независимо или совместно выбраны из группы: H; F; Cl; Br; I; OH; CN; (C₁₋₄) алкил, такой как метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, втор-бутил, изобутил, трет-бутил; (C₂₋₄) алкенил, такой как этенил, пропенил, бутенил, где двойная связь может быть расположена в любом положении в алкенильной углеродной цепи, и включая любые его алкенильные конформационные изомеры; алкинил; аралкил; алкарил; галогенированный алкил; гетероалкил; арил; гетероциклил; циклоалкил; циклоалкенил; циклоалкинил; гидроксиалкил; аминоалкил; амино; алкиламино; ариламино; диалкиламино; алкилариламино; диариламино; ациламино; гидроксил; тиол; тиаалкил; алкокси; алкилтио; алкоксиалкил; арилокси; арилалкокси; ацилокси; нитро; карбамоил; трифторметил; фенокси; бензилокси; фосфоновая кислота; фосфатный эфир; сульфоновая кислота (-SO₃H); сульфонатный эфир; сульфонамид; алкарил; арилалкил; карбамат; амино; алкиламино; ариламино; диалкиламино; алкилариламино; диариламино; алкилтио; гетероалкил; алкилтрифенилфосфоний; гетероциклил; кетон (=O); простой эфир (-OR₁₀); и сложный эфир (-COOR₁₁ и -OC(=O)R₁₁);

или R₃ и R₄ могут быть связаны друг с другом с образованием четырех-, пяти- или шестичленного гетероцикла, циклоалкенила или циклоалкила;

R₅ может быть выбран из группы: H; F; Cl; Br; I; OH; CN; (C₁₋₄) алкил, такой как метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, втор-бутил, изобутил, трет-бутил; (C₂₋₄) алкенил, такой как этенил, пропенил, бутенил, где двойная связь может быть расположена в любом положении в алкенильной углеродной цепи, и включая любые его алкенильные конформационные изомеры; алкинил; аралкил; алкарил; галогенированный алкил; гетероалкил; арил; гетероциклил; циклоалкил; циклоалкенил; циклоалкинил; гидроксиалкил; аминоалкил; амино; алкиламино; ариламино; диалкиламино; алкилариламино; диариламино; ациламино; гидроксил; тиол; тиаалкил; алкокси; алкилтио; алкоксиалкил; арилокси; арилалкокси; ацилокси; нитро; карбамоил; трифторметил; фенокси; бензилокси; фосфоновая кислота; фосфатный эфир; сульфоновая кислота (-SO₃H); сульфонатный эфир; сульфонамид; алкарил; арилалкил; карбамат; амино;

алкиламино; ариламино; диалкиламино; алкилариламино; диариламино; алкилтио; гетероалкил; алкилтрифенилфосфоний; гетероцикл; кетон ($=O$); простой эфир ($-OR_{10}$); и сложный эфир ($-COOR_{11}$ и $-OC(=O)R_{11}$); и

где R_{10} и R_{11} могут быть независимо или совместно выбраны из группы, состоящей из: (C_{1-4}) алкила, такого как метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, втор-бутил, изобутил, трет-бутил; (C_{2-4}) алкенила, такого как этенил, пропенил, бутенил, где двойная связь может быть расположена в любом положении в алкенильной углеродной цепи, и включая любые алкенильные конформационные изомеры; и алкинила;

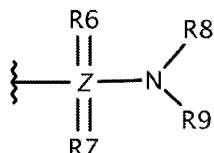
X выбран из N или C,

A представляет собой одинарную связь или двойную связь;

Q выбран из N или C,

M выбран из O или C, и

где R_2 выбран из



где R_6 и R_7 могут быть независимо или совместно выбраны из O или отсутствовать;

R_8 и R_9 могут быть независимо или совместно выбраны из H; F; Cl; Br; I; OH; CN; (C_{1-4}) алкила, такого как метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, втор-бутил, изобутил, трет-бутил; (C_{2-4}) алкенила, такого как этенил, пропенил, бутенил, где двойная связь может быть расположена в любом положении в алкенильной углеродной цепи, и включая любые его алкенильные конформационные изомеры; алкинила; аралкила; алкарила; галогенированного алкила; гетероалкила; арила; гетероциклила; циклоалкила; циклоалкенила; циклоалкинила; гидроксиалкила; аминоалкила; amino; алкиламино; ариламино; диалкиламино; алкилариламино; диариламино; ациламино; гидроксила; тиола; тиаалкила; алкокси; алкилтио; алкоксиалкила; арилокси; арилалкокси; ацилокси; нитро; карбамоила; трифторметила; фенокси; бензилокси; фосфоновой кислоты; фосфатного эфира; сульфоновой кислоты ($-SO_3H$); сульфатного эфира; сульфонамида; алкарила; арилалкила; карбамата; amino; алкиламино; ариламино; диалкиламино; алкилариламино; диариламино; алкилтио; гетероалкила; алкилтрифенилфосфония; гетероциклила; кетона ($=O$); простого эфира ($-OR_{10}$); и сложного эфира ($-COOR_{11}$ и $-OC(=O)R_{11}$),

или R_8 и R_9 могут быть связаны друг с другом с образованием четырех-, пяти- или шестичленного гетероциклила, циклоалкенила или циклоалкила, и

где R_{10} и R_{11} могут быть независимо или совместно выбраны из группы, состоящей из: (C_{1-4}) алкила, такого как метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, втор-бутил, изобутил, трет-бутил; (C_{2-4}) алкенила, такого как этенил, пропенил, бутенил, где двойная связь может быть расположена в любом положении в алкенильной углеродной цепи, и включая любые алкенильные конформационные изомеры; и алкинила, и

Z выбран из C или S.

В одном варианте осуществления изобретения микробные инфекции представляют собой бактериальную инфекцию.

В другом варианте осуществления изобретения микробные инфекции включают в себя стафилококковые инфекции.

В другом варианте осуществления изобретения микробные инфекции и/или связанные с ними заболевания или патологические состояния вызываются *Staphylococci* sp.

В еще одном варианте осуществления изобретения *Staphylococci* sp. включают в себя *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*).

В еще одном варианте осуществления изобретения *S. aureus* включает в себя метициллинрезистентный *S. aureus* (MRSA).

В другом варианте осуществления изобретения микробные инфекции и/или связанные с ними заболевания или патологические состояния включают в себя инфекции кожи и мягких тканей, костей и суставов, хирургической раны, имплантированных устройств, легких и сердечных клапанов.

В определенных вариантах осуществления изобретения настоящее применение дополнительно включает в себя уменьшение вирулентности бактерий, вызывающих микробные инфекции и/или связанные с ними заболевания или патологические состояния.

В некоторых других вариантах осуществления изобретения настоящее применение дополнительно включает в себя ингибирование биосинтеза стафилоксантина в указанных бактериях и/или ингибирование или уменьшение продукции пигментов, которые устойчивы к антибактериальной иммунной защите хозяина.

В другом варианте осуществления изобретения указанный субъект или хозяин для бактерий является млекопитающим.

В другом варианте осуществления изобретения указанный субъект или хозяин для бактерий является человеком.

Краткое описание фигур

В последующем подробном описании делается ссылка на прилагаемые фигуры, изображающие приведенные в качестве примера, неограничивающие и неисчерпывающие варианты осуществления изобретения. Для того чтобы вышеуказанные признаки настоящего изобретения могли быть более понятны, более подробное описание изобретения, кратко изложенное выше, может быть достигнуто со ссылкой на варианты осуществления, некоторые из которых проиллюстрированы на прилагаемых фигурах. Однако следует отметить, что фигуры иллюстрируют только типичные варианты осуществления настоящего изобретения и, следовательно, не должны рассматриваться как ограничивающие его объем, поскольку изобретение может допускать другие не менее эффективные варианты осуществления.

На фиг. 1A-D показано ингибирование пигмента *in vitro* соединением NP16: на фиг. 1A показано ингибирование пигментации *S. aureus* дикого типа (WT) с использованием возрастающих концентраций NP16; на фиг. 1B показано ингибирование пигмента NP16; IC₅₀ для образования пигмента составляет ~300 nM; на фиг. 1C показана химическая структура соединения NP16; на фиг. 1D показана кривая роста *S. aureus* штамма COL в присутствии различных концентраций NP16. Все данные представляют собой средние значения $\pm$ SD.

На фиг. 2A-D показано, что обработка NP16 приводит к повышенной чувствительности к окислению и уничтожению нейтрофилами: на фиг. 2A показана цитотоксическая активность соединения NP16 в отношении клеток MDCK; на фиг. 2B показана повышенная чувствительность *S. aureus* штамма COL, обработанного NP16, к уничтожению при помощи перекиси водорода; на фиг. 2C показана повышенная чувствительность *S. aureus* штамма COL, обработанного NP16, к уничтожению нейтрофилами; на фиг. 2D показан УФ-спектр каротиноидов, выделенных из разных штаммов, обработанных или не обработанных NP16. Все данные представляют собой средние значения $\pm$ SD (**P < 0,001; ****P < 0,0001). Значения P определяли при помощи программы GraphPad Prism с использованием непарного параметрического t-критерия с поправкой Уэлча.

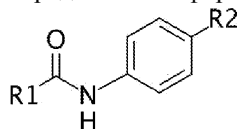
На фиг. 3A-F показано *in vivo* действие CrtN и ее ингибирование NP16. На фиг. 3A и B показаны бактерии, выделенные соответственно из печени и селезенки мышей, инфицированных штаммами COL дикого типа или COL- Δ crtN; на фиг. 3C и 3D показаны бактерии, выделенные соответственно из печени и селезенки мышей, инфицированных штаммом COL, с обработкой соединением NP16 или без нее; на фиг. 3E показаны бактерии, выделенные из почек мышей, инфицированных клиническим изолятом штамма AE052 или AE052- Δ crtN; на фиг. 3F показаны бактерии, выделенные из почек мышей, инфицированных штаммом AE052, с обработкой соединением NP16 или без нее. Все данные представляют собой средние значения $\pm$ SEM (*P < 0,05; **P < 0,01; ***P < 0,001). Значения P определяли при помощи программы GraphPad Prism с использованием непарного параметрического t-критерия с поправкой Уэлча.

На фиг. показана *in vivo* эффективность ингибиторов стафилоксантина из выбранных аналогов NP-16.

Подробное описание изобретения

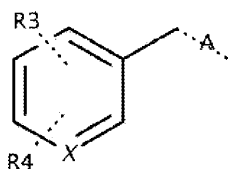
Следуя установленному способу скрининга для выявления агентов, которые уменьшают пигментацию *Staphylococcus aureus* [7], было идентифицировано, что настоящие соединения, называемые NP16 и его производные, блокируют продукцию пигмента в *S. aureus* путем воздействия на 4,4-диапофитоендесатуразу (CrtN). CrtN предлагается в качестве новой мишени для антивирулентной терапии у *S. aureus*. Стафилоксантин *S. aureus* вносит значительный вклад в патогенез, воздействуя на механизмы иммунного клиренса хозяина, но мало влияет на выживание бактерий *ex vivo*. Не ограничиваясь какой-либо теорией, предполагается, что агенты, блокирующие выработку стафилоксантина, могут препятствовать возникновению и поддержанию бактериальной инфекции, не оказывая избирательного давления на устойчивость к антимикробным препаратам.

NP16 и его производные могут быть представлены формулой (II):

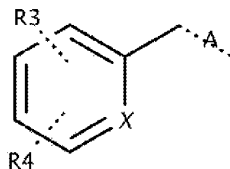


(II),

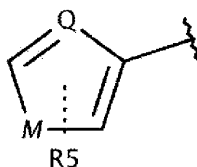
где R1 выбран из



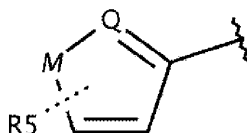
;



;



;



; или

любого четырех-, пяти-, шести-, семи-, восьми-, девяти-, десяти-, одиннадцати- или двенадцатичленного гетероцикла, циклоалкенила или циклоалкила,

где R₃ и R₄ могут быть независимо или совместно выбраны из группы: H; F; Cl; Br; I; OH; CN; (C₁₋₄) алкил, такой как метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, втор-бутил, изобутил, трет-бутил; (C₂₋₄) алкенил, такой как этенил, пропенил, бутенил, где двойная связь может быть расположена в любом положении в алкенильной углеродной цепи, и включая любые его алкенильные конформационные изомеры; алкинил; аралкил; алкарил; галогенированный алкил; гетероалкил; арил; гетероциклил; циклоалкил; циклоалкенил; циклоалкинил; гидроксиалкил; аминоалкил; амина; алкиламино; ариламино; диалкиламино; алкилариламино; диариламино; ациламино; гидроксил; тиол; тиаалкил; алкокси; алкилтио; алкоксиалкил; арилокси; арилалкокси; ацилокси; нитро; карбамоил; трифторметил; фенокси; бензилокси; фосфоновая кислота; фосфатный эфир; сульфоновая кислота (-SO₃H); сульфонатный эфир; сульфонамид; алкарил; арилалкил; карбамат; амина; алкиламино; ариламино; диалкиламино; алкилариламино; диариламино; алкилтио; гетероалкил; алкилтрифенилфосфоний; гетероциклил; кетон (=O); простой эфир (-OR₁₀); и сложный эфир (-COOR₁₁ и -OC(=O)R₁₁);

или R₃ и R₄ могут быть связаны друг с другом с образованием четырех-, пяти- или шестичленного гетероцикла, циклоалкенила или циклоалкила;

R₅ может быть выбран из группы: H; F; Cl; Br; I; OH; CN; (C₁₋₄) алкил, такой как метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, втор-бутил, изобутил, трет-бутил; (C₂₋₄) алкенил, такой как этенил, пропенил, бутенил, где двойная связь может быть расположена в любом положении в алкенильной углеродной цепи, и включая любые его алкенильные конформационные изомеры; алкинил; аралкил; алкарил; галогенированный алкил; гетероалкил; арил; гетероциклил; циклоалкил; циклоалкенил; циклоалкинил; гидроксиалкил; аминоалкил; амина; алкиламино; ариламино; диалкиламино; алкилариламино; диариламино; ациламино; гидроксил; тиол; тиаалкил; алкокси; алкилтио; алкоксиалкил; арилокси; арилалкокси; ацилокси; нитро; карбамоил; трифторметил; фенокси; бензилокси; фосфоновая кислота; фосфатный эфир; сульфоновая кислота (-SO₃H); сульфонатный эфир; сульфонамид; алкарил; арилалкил; карбамат; амина; алкиламино; ариламино; диалкиламино; алкилариламино; диариламино; алкилтио; гетероалкил; алкилтрифенилфосфоний; гетероциклил; кетон (=O); простой эфир (-OR₁₀); и сложный эфир (-COOR₁₁ и -OC(=O)R₁₁); и

где R₁₀ и R₁₁ могут быть независимо или совместно выбраны из группы, состоящей из: (C₁₋₄) алкила, такого как метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, втор-бутил, изобутил, трет-бутил; (C₂₋₄) алкенила, такого как этенил, пропенил, бутенил, где двойная связь может быть расположена в любом положении в алкенильной углеродной цепи, и включая любые алкенильные конформационные изомеры; и алкинила;

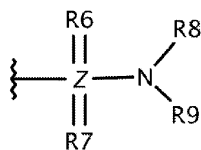
X выбран из N или C,

A представляет собой одинарную связь или двойную связь;

Q выбран из N или C,

M выбран из O или C, и

где R₂ выбран из:



где R₆ и R₇ могут быть независимо или совместно выбраны из O или отсутствовать;

R₈ и R₉ могут быть независимо или совместно выбраны из H; F; Cl; Br; I; OH; CN; (C₁₋₄) алкила, такого как метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, втор-бутил, изобутил, трет-бутил; (C₂₋₄) алкенила, такого как этенил, пропенил, бутенил, где двойная связь может быть расположена в любом положении в алкенильной углеродной цепи, и включая любые его алкенильные конформационные изомеры; алкинила; аралкила; алкарила; галогенированного алкила; гетероалкила; арила; гетероциклила; циклоалкила; циклоалкенила; циклоалкинила; гидроксиалкила; аминоалкила; amino; алкиламино; ариламино; диалкиламино; алкилариламино; диариламино; ациламино; гидроксила; тиола; тiaoалкила; алкокси; алкилтиo; алкоксиалкила; арилокси; арилалкокси; ацилокси; нитро; карбамоила; трифторметила; фенокси; бензилокси; фосфоновой кислоты; фосфатного эфира; сульфоновой кислоты (-SO₃H); сульфонатного эфира; сульфонамида; алкарила; арилалкила; карбамата; amino; алкиламино; ариламино; диалкиламино; алкилариламино; диариламино; алкилтиo; гетероалкила;

алкилтрифенилфосфония; гетероциклила; кетона (=O); простого эфира (-OR₁₀); и сложного эфира (-COOR₁₁ и -OC(=O)R₁₁),

или R₈ и R₉ могут быть связаны друг с другом с образованием четырех-, пяти- или шестичленного гетероциклила, циклоалкенила или циклоалкила, и

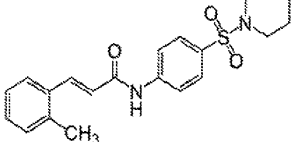
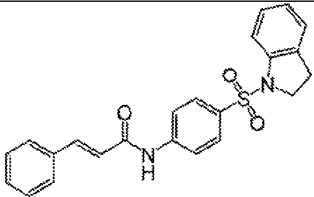
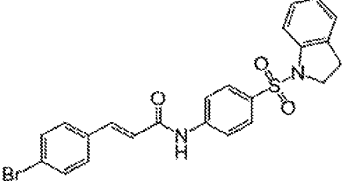
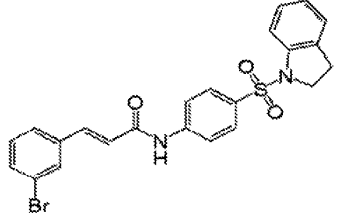
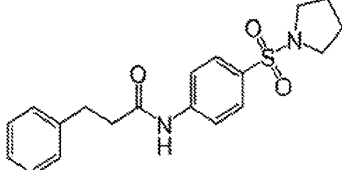
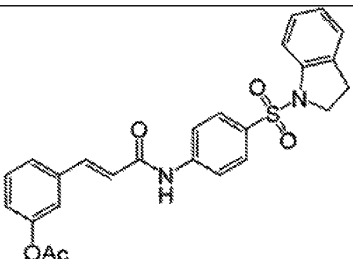
где R₁₀ и R₁₁ могут быть независимо или совместно выбраны из группы, состоящей из: (C₁₋₄) алкила, такого как метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, втор-бутил, изобутил, трет-бутил; (C₂₋₄) алкенила, такого как этенил, пропенил, бутенил, где двойная связь может быть расположена в любом положении в алкенильной углеродной цепи, и включая любые алкенильные конформационные изомеры; и алкинила, и Z выбран из C или S.

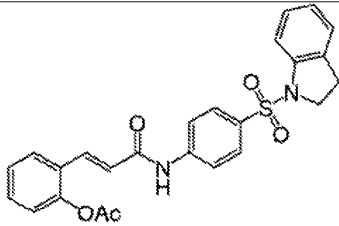
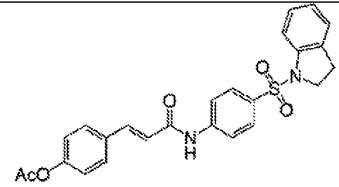
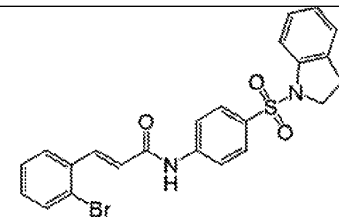
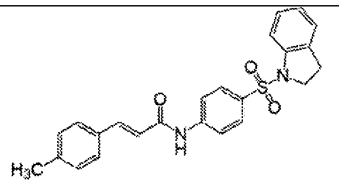
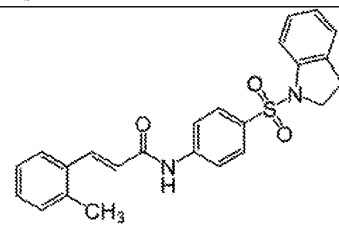
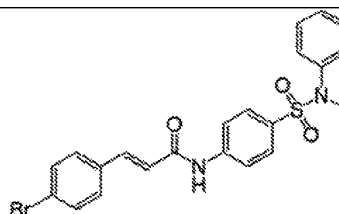
Соединения формулы (II) могут включать в себя, но без ограничений, те соединения, которые перечислены в табл. 1.

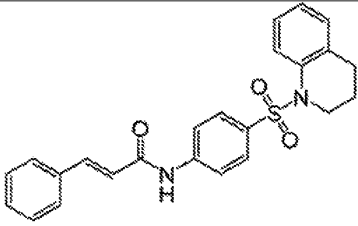
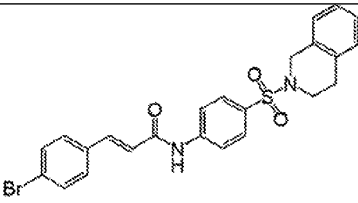
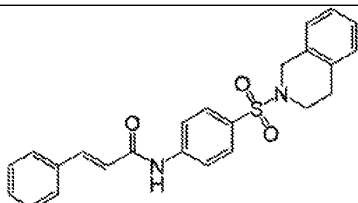
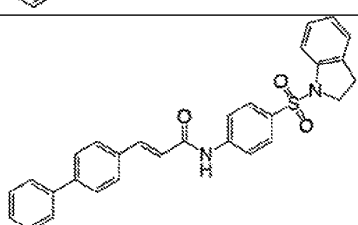
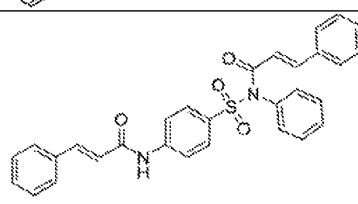
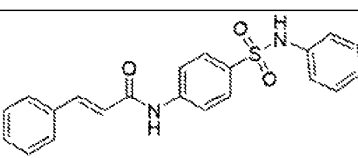
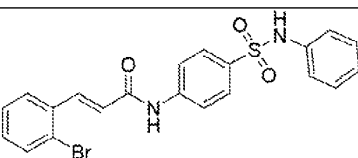
Таблица 1

Соединения, блокирующие синтез стафилоксантина

Название образца	Химическое наименование	Структура
NP16-XL-011	3-(4-ацетоксилфенил)-N-[4-(1-пиперидин-1-сульфонилфенил)]акриламид	
NP16-XL-012	3-(5-ацетоксилфенил)-N-[4-(1-пиперидин-1-сульфонил)фенил]акриламид	
NP16-XL-013	3-(6-ацетоксилфенил)-N-[4-(1-пиперидин-1-сульфонил)фенил]акриламид	
NP16-XL-014	3-(4-бромфенил)-N-[4-(1-пиперидин-1-сульфонил)фенил]акриламид	
NP16-XL-015	3-(5-бромфенил)-N-[4-(1-пиперидин-1-сульфонил)фенил]акриламид	
NP16-XL-016	3-(6-бромфенил)-N-[4-(1-пиперидин-1-сульфонил)фенил]акриламид	
NP16-XL-017	3-(4-метилфенил)-N-[4-(1-пиперидин-1-сульфонил)фенил]акриламид	

NP16-XL-018	3-(6-метилфенил)-N-[4-(1-пиперидин-1-сульфонил)фенил]акриламид	
NP16-XL-019	3-фенил-N-[4-(1-индол-1-сульфонил)фенил]акриламид	
NP16-XL-020	3-(4-бромфенил)-N-[4-(1-индол-1-сульфонил)фенил]акриламид	
NP16-XL-021	3-(5-бромфенил)-N-[4-(1-индол-1-сульфонил)фенил]акриламид	
NP16-XL-022	3-фенил-N-[4-(1-пирролидинилсульфонил)фенил] пропанамида	
NP16-XL-023	3-(5-ацетоксилфенил)-N-[4-(1-индол-1-сульфонил)фенил]акриламид	

NP16-XL-024	3-(6-ацетоксилфенил)-N-[4-(1-индол-1-сульфонил)фенил]акриламид	
NP16-XL-025	3-(4-ацетоксилфенил)-N-[4-(1-индол-1-сульфонил)фенил]акриламид	
NP16-XL-026	3-(6-бромфенил)-N-[4-(1-индол-1-сульфонил)фенил]акриламид	
NP16-XL-027	3-(4-метилфенил)-N-[4-(1-индол-1-сульфонил)фенил]акриламид	
NP16-XL-028	3-(6-метилфенил)-N-[4-(1-индол-1-сульфонил)фенил]акриламид	
NP16-XL-029	3-(4-бромфенил)-N-[4-(1,2,3,4-тетрагидрохинолин-1-сульфонил)фенил]акриламид	

NP16-XL-030	3-фенил-N-[4-(1,2,3,4-тетрагидрохиолин-1-сульфонил)фенил]акриламид	
NP16-XL-031	3-(4-бромфенил)-N-[4-(3,4-дигидро-1H-изохиолин-2-сульфонил)фенил]акриламид	
NP16-XL-032	3-фенил-N-[4-(3,4-дигидро-1H-изохиолин-2-сульфонил)фенил]акриламид	
NP16-XL-035	3-(4-фенилфенил)-N-[4-(1-индол-1-сульфонил)фенил]акриламид	
NP16-XL-036	3-фенил-N-[[4-(N-фенил-3-фенилпроп-2-енамидо)сульфонил]фенил]-акриламид	
NP16-XL-037	3-фенил-N-[(4-фенилсульфамоил)фенил]-акриламид	
NP16-XL-038	3-(6-бромфенил)-N-[(4-фенилсульфамоил)фенил]-акриламид	

NP16-XL-039	3-(6-бромфенил)-N-[(4-(N-фенил-3-6-бромфенилпроп-2-енамидо)сульфонил)фенил]-акриламид	
NP16-XL-040	3-(2,6-дифторфенил)-N-[(4-фенилсульфамоил)фенил]-акриламид	
NP16-XL-041	3-(6-фторфенил)-N-[(4-фенилсульфамоил)фенил]-акриламид	
NP16-XL-042	3-(пиридин-3-ил)-N-[(4-фенилсульфамоил)фенил]-акриламид	
NP16-XL-043	3-(6-цианофенил)-N-[(4-фенилсульфамоил)фенил]-акриламид	
NP16-XL-044	3-(пиридин-2-ил)-N-[(4-фенилсульфамоил)фенил]-акриламид	
NP16-XL-045	3-(2,6-дифторфенил)-N-[4-(3-пиперидин-1-сульфонил)фенил]акриламид	
NP16-XL-046	3-(пиридин-3-ил)-N-[4-(1-пиперидин-1-сульфонил)фенил]акриламид	

NP16-XL-047	3-(6-цианофенил)-N-[4-(1-пиперидин-1-сульфонил)фенил]акриламид	
NP16-XL-052	3-(6-бромфенил)-N-[4-(4-метил-1,4-пиперазин-1-сульфонил)фенил]акриламид	
NP16-XL-053	3-(2,6-дифторфенил)-N-[4-(4-метил-1,4-пиперазин-1-сульфонил)фенил]акриламид	
NP16-XL-054	3-(6-фторфенил)-N-[4-(4-метил-1,4-пиперазин-1-сульфонил)фенил]акриламид	
NP16-XL-055	3-(6-цианофенил)-N-[4-(4-метил-1,4-пиперазин-1-сульфонил)фенил]акриламид	
NP16-XL-056	3-(пиридин-3-ил)-N-[4-(4-метил-1,4-пиперазин-1-сульфонил)фенил]акриламид	
NP16-XL-057	4-(5-фенил-1,3-оксазол)-N-[4-(1-пиперидин-1-сульфонил)фенил]амид	
NP16-XL-058	3-(2,6-дибромфенил)-N-[4-(1-пиперидин-1-сульфонил)фенил]акриламид	
NP16-XL-059	4-[2-(4-цианофенил)-1,5-оксазол]-N-[4-(1-пиперидин-1-сульфонил)фенил]амид	
NP16-XL-060	4-[2-(тиофен-5-ил)-1,5-оксазол]-N-[4-(1-пиперидин-1-сульфонил)фенил]амид	

Одно или несколько соединений формулы (II) могут быть объединены и/или смешаны с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителем, солью, сложным эфиром, вспомогательным веществом, наполнителем, пролекарством, растворителем и разбавителем для получения композиции.

Используемый здесь термин "фармацевтически приемлемый" может означать одобрение регулирующего органа федерального правительства или правительства штата или внесение в список фармакопеи США или другой общепризнанной фармакопеи для применения у животных и/или людей.

Используемый здесь термин "носитель" может относиться к разбавителю, адъюванту, вспомогательному веществу и/или наполнителю, с которым вводят соединение и/или антибиотик. Такими фармацевтическими носителями могут быть стерильные жидкости, такие как вода и масла, включая масла нефтяного, животного, растительного или синтетического происхождения, такие как арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло, кунжутное масло и тому подобное.

Используемый здесь термин "фармацевтически приемлемая соль" может относиться к производным соединений, определенных в настоящем описании, где исходное соединение модифицируется путем получения его кислотных или основных солей.

Способ лечения и/или предотвращения микробной инфекции у субъекта может включать в себя без ограничений введение субъекту эффективного количества одного или нескольких соединений формулы (II).

Используемые здесь термины "лечение" или "лечить" могут относиться к прекращению или ингибированию или попытке прекращения или ингибирования развития или прогрессирования инфекции и/или вызыванию или попытке вызова уменьшения, подавления, регресса или ремиссии инфекции и/или ее симптома. Как должно быть понятно специалистам в данной области техники, различные клинические и научные методологии и анализы могут использоваться для оценки развития или прогрессирования инфекции, и аналогичным образом различные клинические и научные методологии и анализы могут использоваться для оценки снижения, регрессии или ремиссии инфекции или ее симптомов. Термин "лечение" относится как к терапевтическому лечению, так и к профилактическим или превентивным мерам. К числу тех, кто нуждается в лечении, относятся те, у кого уже есть инфекция, а также те, кто подвержен этой инфекции, или те, у кого инфекция должна быть предотвращена. По меньшей мере, в некоторых формах подлежащая лечению инфекция может включать в себя без ограничений инфекцию *Staphylococcus aureus*. В других формах подлежащая лечению инфекция представляет собой микробную инфекцию.

Введение может включать в себя, без ограничений введение пероральным путем, причем такое введение включает в себя введение в виде капсулы, таблетки, гранулы, спрея, сиропа или других таких форм; введение не оральным путем, причем такое введение включает в себя введение в виде водной суспензии, масляного препарата или тому подобного или в виде капель, суппозитория, крема, мази или тому подобного; введение путем инъекции, подкожной, внутривенной, внутримышечной, внутрикожной или тому подобной; а также местное введение; и введение посредством препаратов с контролируемым высвобождением, депо-препаратов и введение при помощи инфузионной помпы.

Для внутривенного введения соединения могут находиться в виде растворов в стерильном изотоническом водном буфере для приготовления композиции. При необходимости композиция также может включать в себя солибутилирующий агент. Композиция соединений может поставляться либо отдельно, либо в смеси в единичной лекарственной форме, например, в виде сухого лиофилизированного порошка или концентрированного раствора в герметически закрытой емкости, такой как ампула или саше, с указанием количества активного агента. Если соединение предполагается вводить при помощи инфузии, то его можно распределить по флаконам для инфузии, содержащим стерильную воду или физиологический раствор фармацевтического качества. Когда соединение вводят путем инъекции, можно использовать ампулу стерильной воды или физиологического раствора, чтобы ингредиенты можно было смешать перед инъекцией.

Используемый здесь термин "субъект" может относиться к животному. Как правило, термины "субъект" и "пациент" могут использоваться здесь взаимозаменяемо применительно к субъекту. Таким образом, термин "субъект" может включать в себя человека, которого лечат от микробной инфекции в качестве пациента.

Используемый здесь термин "животное" может относиться к мыши, крысе, собаке, кошке, кролику, свинье, обезьяне, шимпанзе и человеку.

Используемые здесь термины "эффективное количество" и "терапевтически эффективное количество" могут использоваться взаимозаменяемо, применительно к описанным соединениям, антибиотикам и фармацевтическим композициям, и могут означать количество, необходимое для достижения желаемого терапевтического результата. Например, эффективное количество представляет собой уровень, эффективный для лечения, излечения или ослабления симптомов инфекции, при которой вводят композицию и/или антибиотик или фармацевтическую композицию. Количества, эффективные для конкретной терапевтической цели, будут зависеть от множества факторов, включая подлежащую лечению инфекцию, и ее тяжесть и/или стадию развития/прогрессирования; биодоступность и активность конкретного используемого соединения и/или антибиотика или фармацевтической композиции; путь или способ введения и место введения; скорость выведения конкретной композиции из организма и другие фармакокинетические свойства; продолжительность лечения; режим введения; препараты, применяемые в сочетании или

вводимые одновременно с конкретной композицией; возраст, масса тела, пол, рацион питания, физиология и общее состояние здоровья получающего лечение субъекта; и подобные факторы, хорошо известные специалисту в данной области техники. Некоторое изменение в дозировке неизбежно происходит в зависимости от состояния получающего лечение субъекта, и врач или другое лицо, назначающее лечение, в любом случае определит подходящую дозировку для конкретного пациента. Кроме того, описанные терапевтические способы могут применяться не только для лечения субъекта, но также могут применяться к клеточным культурам, органам, тканям или отдельным клеткам *in vivo*, *ex vivo* или *in vitro*.

Используемый здесь термин "гидрокарбил" включает в себя ссылку на группу, состоящую исключительно из атомов водорода и углерода; такая группа может содержать алифатическую и/или ароматическую группу. Группа может содержать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 атомов углерода. Примеры гидрокарбильных групп включают в себя C_{1-6} алкил (например, C_1 , C_2 , C_3 или C_4 алкил, например, метил, этил, пропил, изопропил, н-бутил, втор-бутил или трет-бутил); C_{1-6} алкил, замещенный арилом (например, бензилом) или циклоалкилом (например, циклопропилметил); циклоалкилом (например, циклопропил, циклобутил, циклопентил или циклогексил); арил (например, фенил, нафтил или флуоренил) и тому подобное.

Используемый здесь термин "алкил" включает в себя ссылку на алкильную группу с прямой или разветвленной цепью, имеющую 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 атомов углерода. Примеры алкильных групп включают в себя " C_{1-6} алкил" и " C_{2-10} алкил". Используемый здесь термин " C_{1-6} алкил" включает в себя ссылку на алкильную группу с прямой или разветвленной цепью, имеющую 1, 2, 3, 4, 5 или 6 атомов углерода. Используемый здесь термин " C_{2-10} алкил" включает в себя ссылку на алкильную группу с прямой или разветвленной цепью, имеющую 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 атомов углерода. Этот термин включает в себя ссылку на такие группы, как метил, этил, пропил (н-пропил или изопропил), бутил (н-бутил, втор-бутил или трет-бутил), пентил, гексил и тому подобное. В частности, алкильная группа может иметь 1, 2, 3, 4, 5 или 6 атомов углерода.

Используемые здесь термины "алкенил" и " C_{2-6} алкенил" включают в себя ссылку на алкильную группу с прямой или разветвленной цепью, имеющую 2, 3, 4, 5 или 6 атомов углерода и имеющую, кроме того, по меньшей мере, одну двойную связь, или E или Z стереохимию, где это применимо. Этот термин включает в себя ссылки на такие группы, как этенил, 2-пропенил, 1-бутенил, 2-бутенил, 3-бутенил, 1-пентенил, 2-пентенил, 3-пентенил, 1-гексенил, 2-гексенил и 3-гексенил и тому подобное.

Используемые здесь термины "алкинил" и " C_{2-6} алкинил" включают в себя ссылку на алкильную группу с прямой или разветвленной цепью, имеющую 2, 3, 4, 5 или 6 атомов углерода и имеющую, кроме того, по меньшей мере, одну тройную связь. Этот термин включает в себя ссылки на такие группы, как этинил, 1-пропинил, 2-пропинил, 1-бутинил, 2-бутинил, 3-бутинил, 1-пентинил, 2-пентинил, 3-пентинил, 1-гексинил, 2-гексинил и 3-гексинил и тому подобное.

Используемые здесь термины "алкокси" и " C_{1-6} алкокси" включают в себя ссылку на -О-алкил, где алкил имеет прямую или разветвленную цепь и содержит 1, 2, 3, 4, 5 или 6 атомов углерода. В одном классе вариантов осуществления изобретения алкокси имеет 1, 2, 3 или 4 атома углерода. Этот термин включает в себя ссылку на такие группы, как метокси, этокси, пропокси, изопропокси, бutoкси, трет-бутокси, пентокси, гексокси и тому подобное.

Используемый здесь термин "циклоалкил" включает в себя ссылку на алициклическую группу, имеющую 3, 4, 5, 6, 7 или 8 атомов углерода. Группа может быть мостиковой или полициклической кольцевой системой. Чаще циклоалкильные группы являются моноциклическими. Этот термин включает в себя ссылку на такие группы, как циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил, норборнил, бицикло[2.2.2]октил и тому подобное.

Используемый здесь термин "арил" включает в себя ссылку на ароматическую кольцевую систему, содержащую 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 кольцевых атомов углерода. Арил часто представляет собой фенил, но может представлять собой полициклическую кольцевую систему, имеющую два или более колец, по меньшей мере, одно из которых является ароматическим. Этот термин включает в себя ссылку на такие группы, как фенил, нафтил, флуоренил, азуленил, инденил, антрил и тому подобное.

Термин "циклическая группа" означает кольцо или кольцевую систему, которая может быть ненасыщенной или частично ненасыщенной, но, как правило, насыщенной, обычно содержащей от 5 до 13 образующих кольцо атомов, например, 5- или 6-членное кольцо. Кольцо или кольцевая система могут быть замещены одной или несколькими гидрокарбильными группами. Циклическая группа включает в себя карбоциклические и гетероциклические группы.

Используемый здесь термин "карбоциклил" включает в себя ссылку на насыщенную (например, циклоалкильную) или ненасыщенную (например, арильную) кольцевую группу, имеющую 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 атомов углерода в кольце. В частности, карбоциклил включает в себя 3-10-членное кольцо или кольцевую систему и, в частности, 5- или 6-членные кольца, которые могут быть насыщенными или ненасыщенными. Кольцо или кольцевая система могут быть замещены одной или несколькими гидрокарбильными группами. Карбоциклическая группа выбирается, например, из циклопропила, циклобутила, циклопентила, циклогексила, норборнила, бицикло[2.2.2]октила, фенила, нафтила, флуоренила, азуленила, инденила, антрила и тому подобного.

Используемый здесь термин "гетероцикл" включает в себя ссылку на насыщенную (например, гетероциклоалкил) или ненасыщенную (например, гетероарил) гетероциклическую кольцевую группу, имеющую от 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 кольцевых атомов, по меньшей мере, один из которых выбран из азота, кислорода, фосфора, кремния и серы. В частности, гетероцикл включает в себя 3-10-членное кольцо или кольцевую систему и более конкретно 5- или 6-членное кольцо, которое может быть насыщенным или ненасыщенным. Кольцо или кольцевая система могут быть замещены одной или несколькими гидрокарбильными группами.

Гетероциклическая группа, например, выбрана из оксиранила, азирина, 1,2-оксатиоланила, имидазола, тиенила, фурила, тетрагидрофурила, пиранила, тиопиранила, тиантренила, изобензофуранила, бензофуранила, хроменила, 2Н-пиррола, пиррола, пирролина, пирролидинила, пирролизидинила, имидазола, имидазолидинила, бензимидазола, пиразола, пиразина, пирозолидинила, тиазола, изотиазола, дитиазола, оксазола, изоксазола, пирида, пиразина, пиримидина, пиперидила, пиперазина, пиридазина, морфолина, тиоморфолина, в частности тиоморфолина, индолизина, изоиндола, 3Н-индола, индола, бензимидазола, кумарина, индазола, триазола, тетразола, пурина, 4Н-хинолина, изохинолина, хинола, тетрагидрохинола, тетрагидроизохинола, декагидрохинола, октагидроизохинола, бензофуранила, дибензофуранила, бензотиофенила, дибензотиофенила, фталина, нафтиридина, хиноксалина, хиназолина, циннолина, птеридина, карбазола, β -карболина, фенантридина, акридина, перимидина, фенантролина, фуразина, феназина, фенотиазина, феноксина, хроменила, изохромина, хромалина и тому подобного.

Используемый здесь термин "гетероциклоалкил" включает в себя ссылку на насыщенную гетероциклическую группу, имеющую 3, 4, 5, 6 или 7 кольцевых атомов углерода и 1, 2, 3, 4 или 5 кольцевых гетероатомов, выбранных из азота, кислорода, фосфора и серы. Группа может представлять собой полициклическую кольцевую систему, но чаще она является моноциклической. Этот термин включает в себя ссылки на такие группы, как азетидинил, пирролидинил, тетрагидрофуранил, пиперидинил, оксиранил, пирозолидинил, имидазол, индолизидинил, пиперазинил, тиазолидинил, морфолинил, тиоморфолинил, хинозидинил и тому подобное. Кольцо или кольцевая система могут быть замещены одной или несколькими гидрокарбильными группами.

Используемый здесь термин "гетероарил" включает в себя ссылку на ароматическую гетероциклическую кольцевую систему, имеющую 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 кольцевых атомов, по меньшей мере, один из которых выбран из азота, кислорода и серы. Группа может представлять собой полициклическую кольцевую систему, имеющую два или более колец, по меньшей мере, одно из которых является ароматическим, но чаще является моноциклическим. Кольцо или кольцевая система могут быть замещены одной или несколькими гидрокарбильными группами. Этот термин включает в себя ссылки на такие группы, как пиримидинил, фуранил, бензо[b]тиофенил, тиофенил, пирролил, имидазол, пирролидинил, пиридинил, бензо[b]фуранил, пиразинил, пуридинил, индолил, бензимидазол, хинолинил, тринитазинил, фенотиазинил, фенотиазинил, 2Н-хроменил, оксазол, изоксазол, тиазол, изоиндолил, индазол, пуридинил, изохинолин, хиназолин, птеридинил и тому подобное.

Используемый здесь термин "галоген" включает в себя ссылку на F, Cl, Br или I.

Используемый здесь термин "галогенсодержащая группа" включает в себя ссылку на группу, содержащую от 1 до 30 многовалентных атомов, выбранных из углерода, азота, кислорода и серы, причем эта группа включает в себя, по меньшей мере, один галоген. Группа может представлять собой гидрокарбил, например, C₁₋₆алкил или C₁₋₆алкокси, или карбоцикл, например, арил.

Используемый здесь термин "замещенный" в отношении группы означает, что один или несколько, особенно вплоть до 5, более предпочтительно 1, 2 или 3, атомов водорода в указанном фрагменте заменены независимо друг от друга соответствующим количеством описанных заместителей. Используемый здесь термин "необязательно замещенный" означает замещенный или незамещенный. Разумеется, будет понятно, что заместители находятся только в тех положениях, где они химически возможны, и специалист в данной области техники способен решить (экспериментально или теоретически) без излишних усилий, возможна ли конкретная замена.

Используемый здесь термин "энантиомер" означает один из двух стереоизомеров, которые являются зеркальным отображением друг друга.

Используемый здесь термин "рацемат" означает смесь равных количеств энантиомеров хиральной молекулы.

Используемый здесь термин "диастереомер" означает один из класса стереоизомеров, которые не являются энантиомерами, но имеют разные конфигурации в одном или нескольких эквивалентных хиральных центрах. Примерами диастереомеров являются эпимеры, которые отличаются конфигурацией только одного хирального центра.

Используемый здесь термин "стереоизомер" означает один из класса изомерных молекул, которые имеют одинаковую молекулярную формулу и последовательность связанных атомов, но разные трехмерные ориентации их атомов в пространстве.

Используемый здесь термин "пролекарство" относится к лекарственному средству, которое вводят в виде неактивного (или менее чем полностью активного) химического производного, которое впослед-

ствии превращается в организме в активный фармакологический агент, часто посредством нормальных метаболических процессов.

Используемый здесь термин "независимо" относится к двум или более группам, каждая из которых выбрана из списка атомов или групп, что означает, что группы могут быть одинаковыми или разными. Таким образом, идентичность каждой группы не зависит от идентичности одной или нескольких других групп.

Используемый здесь термин "совместно" относится к двум или более группам, одинаково выбранным из списка атомов или групп. Другими словами, идентичность каждой группы, следовательно, зависит от идентичностей одной или нескольких других групп, которые упоминаются как "совместно" выбранные из списка атомов или групп.

Примеры

Описанные здесь примеры и варианты осуществления изобретения предназначены только для иллюстративных целей, и различные модификации или изменения в свете этих примеров могут быть сделаны специалистами в данной области техники и включены в сущность и сферу применения данной заявки.

Кроме того, любые элементы или ограничения любого изобретения или варианта его осуществления, раскрытого в данной заявке, могут быть объединены с любыми и/или всеми другими элементами или ограничениями (индивидуально или в любой комбинации) или любым другим изобретением или вариантом его осуществления, раскрытым в данной заявке, и предполагается, что все такие комбинации находятся в объеме настоящего изобретения, не ограничивая его.

Бактерии, мыши и химические реагенты.

Штаммы *S. aureus* и *E. coli* перечислены в табл. 2. Мыши линии BALB/c были приобретены у компании Charles River Laboratories. Бактерии *S. aureus* размножали в жидкой среде Terrific broth (TB) или на агаре TB (Life Technologies; или в бульоне с сердечно-мозговой вытяжкой (BHI) или на агаре BHI (Oxoid). Если не указано иное, все эксперименты проводили с бактериями, полученными из защищенной от света 36-48 ч культуры *S. aureus* в стационарной фазе, точке, в которой фенотипы пигментации были легко различимы.

Таблица 2

Штаммы		
Штаммы	Описание	Источник
<i>E. coli</i>		
Rosetta (DE3)	Штамм-хозяин для экспрессии генов	Лабораторный источник
<i>S. aureus</i>		
RN4220	Промежуточный хозяин при клонировании	Лабораторный источник
COL	Лабораторный штамм	Лабораторный источник
AE052	Клинический изолят	[8]
COL-ΔcrtN	COL с заменой гена crtN кассетой ermC	Это исследование
AE052-ΔcrtN	AE052 с заменой гена crtN кассетой ermC	Это исследование
USA300	CA-MRSA, USA300 FPR3757, ATCC BAA-1556	ATCC

Испытания минимальной ингибирующей концентрации (МИК).

МИК определяли путем инокуляции 5×10^4 клеток *S. aureus* в 100 мкл среды BHI в 96-луночных планшетах с серийным разведением антибиотиков. МИК определяли как минимальную концентрацию, приводящую к плотности клеток менее 0,05 ед. ОП при длине волны 620 нм, что соответствовало отсутствию видимого роста после инкубации в течение 18 часов при температуре 37°C. Оценка аналогов NP-16 в синтезе стафилоксантина Исследования ингибирования пигмента *in vitro* проводили с помощью *S. aureus* штамма USA300, культивируемого в BHI в присутствии или без ингибирующих соединений при температуре 37°C и 250 об/мин в течение 36-48 ч. Бактерии дважды промывали ФСБ до очистки стафилоксантина метанолом. ОП экстрактов измеряли при длине волны 450 нм с использованием спектрофотометра DTX880 для считывания нескольких планшетов (Beckman). Диапазон тестируемых концентраций для соединений, составлял от 300 нМ до 700 нМ, а к образцам контрольных групп добавляли равные объемы ДМСО.

Оценка цитотоксичности других аналогов NP-16 в клетках Raw 264.7.

Цитотоксичность NP-16 и некоторых его аналогов в клетках Raw 264.7 также оценивали с помощью МТТ (3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолий бромид) анализа в соответствии с инструкция-

ми производителя. Для контроля токсичности использовали 1% ДСН, чтобы гарантировать, что анализ МТТ работал правильно. Самая высокая концентрация используемых аналогов NP-16 составляла 500 мкМ из-за ограничений растворимости. Программу SigmaPlot 11.0 (SPSS, IL) использовали для построения графика. Эксперименты проводились трижды и повторялись дважды.

Цитотоксичность NP-16 и некоторых его аналогов проверяли на клетках Raw 264.7, и клеточная резистентность для каждого соединения указана в табл. 3. Наряду с тестированием влияния аналогов NP-16 на продуцирование стафилоксантина *in vitro*, изучали, как соединения могут оказывать ингибирующие действие на синтез стафилоксантина. Стафилоксантин из культивированных в течение ночи бактерий экстрагировали метанолом и количественно определяли с помощью спектрофотометрии. Результаты представлены в относительном соотношении с NP-16 как в виде коэффициента ингибирования, так и в виде TC50 (медианная токсическая концентрация) в табл. 3 (названия образцов соответствуют тем, которые приведены в табл. 1).

Таблица 3

Название образца	TC50 для клеток Raw 264.7	Относительное соотношение с NP-16 на основе коэффициента ингибирования
NP16	>200	1
NP16-XL-010	>200	1,43
NP16-XL-011	75	1,31
NP16-XL-012	50	1,16
NP16-XL-013	37,5	0,28
NP16-XL-014	>200	0,74
NP16-XL-015	>200	1,18
NP16-XL-016	>200	2,71
NP16-XL-017	>200	0,09
NP16-XL-018	>200	2,48
NP16-XL-019	>200	1,7
NP16-XL-020	>200	0,17
NP16-XL-021	>200	0,76
NP16-XL-022	>200	-0,08
NP16-XL-023	18,7	1,34
NP16-XL-024	170	0,43
NP16-XL-025	170	1,92
NP16-XL-026	>200	2,67
NP16-XL-027	>200	0,79
NP16-XL-028	>200	2,31
NP16-XL-029	>200	0,53
NP16-XL-030	>200	1,26
NP16-XL-031	37,5	0,23
NP16-XL-032	190	1,17
NP16-XL-035	50	-0,38
NP16-XL-036	>200	3,04
NP16-XL-037	>200	3,02
NP16-XL-038	>200	3,23
NP16-XL-039	>200	3,23
NP16-XL-040	>200	2,51
NP16-XL-041	>200	3,17
NP16-XL-042	>200	1,44
NP16-XL-043	>200	3,23
NP16-XL-044	200	2,47
NP16-XL-045	200	0,88
NP16-XL-046	>200	-0,05
NP16-XL-047	>200	3,18
NP16-XL-048	>200	0,23
NP16-XL-049	50	0,21
NP16-XL-050	100	-0,03
NP16-XL-051	150	-0,16
NP16-XL-052	>200	3,18
NP16-XL-053	>200	1,26
NP16-XL-054	>200	2,86
NP16-XL-055	>200	3,19
NP16-XL-056	>200	0
NP16-XL-057		0,14
NP16-XL-058		0,16
NP16-XL-059		0,06
NP16-XL-060		0,06

Экспрессия crtN, очистка и ферментативный анализ.

CrtN с меткой гистидин-мальтозосвязывающего белка (MBP) сверхэкспрессировали в клетках *E. coli* штамма Rosetta (DE3). 10 мл ночной культуры переносили в 1 л среды LB с добавлением 100 мкг/мл ампицилина. Индукцию проводили 1 mM IPTG в течение 12 часов при температуре 16°C при ОП 0,6 при длине волны 600 нм. Клеточный лизат загружали на колонку с Ni-NTA и элюировали CrtN, используя

линейный градиент 75 мл 0-0,4 М имидазола в 50 мМ натрий-фосфатном буфере с 400 мМ хлорида натрия, pH 6,6. Собранные фракции анализировали с помощью ДСН-ПААГ для подтверждения пика для MBP-CrtN. Фракции целевого пика концентрировали, и буфер заменяли на загрузочный буфер без имидазола с использованием колонки PD-10 (GE Healthcare). Собранный раствор обрабатывали протеазой TEV при температуре 4°C в течение ночи. Образец белка наносили на мальтозную колонку, и фильтрат собирали как нативный белок CrtN. Для ферментного анализа 10 мкг очищенного CrtN инкубировали с 100 мкл 4,4'-диапофитоеновых липосом (содержащих 5 нмоль 4,4'-диапофитоена), 150 мкл FAD и буфера II (20 мМ фосфатный буфер, pH 8,0, 100 мМ NaCl) в общем объеме 660 мкл при температуре 37°C в течение 2 ч (стандартный анализ). Реакцию останавливали добавлением 1 объема $\text{CHCl}_3\text{:MeOH}$ (2:1, об./об.). После перемешивания образец центрифугировали при 16000 g в течение 10 мин. Органическую фазу высушивали для ЖХ/МС анализа.

Выделение каротиноидов.

Субстрат (4,4'-диапофитоен) и продукт (4,4'-диапонеироспорен) экстрагировали из штаммов COL-ΔcrtN и COL-ΔcrtOP. Каротиноиды экстрагировали из осадка клеток, используя 300 мл метанола на литр осадка культивируемых бактерий, пока все видимые пигменты не были удалены. После центрифугирования (4°C и 8000 g) окрашенные супернатанты объединяли и концентрировали до 50 мл с использованием центробежного испарителя EZ-2 Plus (Genevac Inc., Gardiner, NY, USA). Образец смешивали с 100 мл EtOAc и 200 мл NaCl (2,5 M). Образец экстракта в верхней органической фазе собирали, промывали тем же объемом дистиллированной воды и сушили с использованием испарителя EZ-2 Plus. Высушенные образцы были готовы к выделению на силикаге или хранились при температуре -70°C до момента анализа. Для структурного определения каротиноиды идентифицировали с использованием комбинации времен удерживания ВЭЖХ, УФ-видимого поглощения и спектров массовой фрагментации. Спектры массовой фрагментации контролировали с использованием режимов как отрицательных, так и положительных ионов в диапазоне масс 200-1000 m/z на системе ЖХ/МС Varian 1200L, снабженной интерфейсом химической ионизации при атмосферном давлении.

Анализ чувствительности к пероксиду водорода.

S. aureus выращивали в среде BHI с NP16 (40 мкМ) или без него. Через 2 дня бактерии дважды промывали в ФСБ, разбавляли до концентрации 1×10^7 КОЕ на 100 мкл реакционной смеси в 96-луночном планшете. Перексид водорода (H_2O_2) в ФСБ добавляли до конечной концентрации 440 мМ и планшеты инкубировали в течение 1 часа при температуре 37°C при встряхивании. Реакцию останавливали добавлением 1000 Ед/мл экзогенной каталазы (Sigma-Aldrich, Сент-Луис, Миссури), и жизнеспособность бактерий оценивали путем разведения в чашках на чашках с агаром BHI.

Бактерицидная активность полиморфноядерных лейкоцитов.

Уничтожение *S. aureus* полиморфноядерными лейкоцитами человека (ПМЛ) определяли, как описано ранее [9], с некоторыми модификациями. В кратком изложении, ПМЛ (10^6) смешивали с $\sim 10^7$ опсонизированными бактериями *S. aureus* M3 = 10 в 24-луночных планшетах для тканевых культур. После центрифугирования при 380 g в течение 8 мин планшеты инкубировали при температуре 37°C в течение до 1,5 ч. ПМЛ лизировали при помощи сапонины (20 мин на льду) и высевали на чашки BHIА. Процент выживаемости рассчитывали по нормализации с нулевым временем. Статистические данные получали с t-критерием Стьюдента (GraphPad Prism).

Мышиная модель внутрибрюшинной инфекции.

Самкам мышей линии Balb/c в возрасте от шести до восьми недель внутривенно (в.в.) вводили $1 \beta 10^7$ КОЕ ранней стационарной фазы *S. aureus* USA300 или изогенного мутанта *S. aureus* USA300-ΔcrtN. Для исследования лечения мышей случайным образом распределяли по группам в начале эксперимента и внутрибрюшинно вводили или 17,25 мг/кг выбранных аналогов NP-16, или носитель (5% ДМСО с 5% Твин-80) в качестве контроля, дважды в день. NP16, NP16-XL-026 и NP16-XL-043 вводили внутрибрюшинным путем в дозе 17,25 мг/кг. Восстановление бактерий в почке сравнивали с контролем-носителем через 7 дней после медикаментозного лечения.

При использовании внутривенной инфекции *S. aureus* штамма USA300, дополненного изогенными нокаутами -ΔcrtN, количество бактерий в почках у мышей, умерщвленных на 7-й день после заражения, свидетельствовало о том, NP16-XL-026 и NP16-XL-043 демонстрируют сходный с NP-16 ингибирующий эффект (фиг. 4).

Для других подтипов *S. aureus* самкам мышей линии BALB/c в возрасте от восьми до десяти недель внутрибрюшинно (в.б.) вводили 4×10^8 КОЕ ранней стационарной фазы *S. aureus* штамма COL. Через 3 дня животных умерщвляли, печень и селезенку выделяли, гомогенизировали в ФСБ и высевали для подсчета жизнеспособных бактерий. Для исследования лечения мышей случайным образом распределяли по двум группам в начале эксперимента и внутрибрюшинно вводили 0,35 мг NP16 или ФСБ с 5% Твин-80 в качестве контроля два раза в день, начиная с дня -1 до дня 2 (всего восемь доз для каждого вещества). Внутрибрюшинное заражение 4×10^8 КОЕ ранней стационарной фазы *S. aureus* штамма COL выполняли в день 0. Мышей умерщвляли в день 3 для подсчета бактериальных КОЕ в гомогенатах печени и селезенки.

Для клинического изолята *S. aureus* штамма AE052 все операции были аналогичны тем, которые

использовались для штамма COL, за исключением того, что в модели инфекции использовали 10^8 КОЕ бактерий ранней стационарной фазы, и для мониторинга бактериальной нагрузки брали почки. Статистические данные получали с использованием t-критерия Стьюдента (GraphPad Prism).

Соединение NP16 уменьшает продуцирование пигмента.

Соединение NP16 (структура, показанная на фиг. 1С) обладало сильной активностью в отношении образования пигмента *S. aureus* *in vitro*, как показано на фиг. 1А, со значениями IC_{50} в диапазоне от 100 до 300 нМ (фиг. 1В). В биосинтезе стафилоксантина продукт CrtN, 4,4'-диапонеироспорен, представляет собой желтоватое соединение, тогда как продукты до катализа CrtM бесцветны. Таким образом, лечение NP16 предлагается для воздействия на CrtM или CrtN или другие регуляторы, которые влияют на экспрессию кластера crtOPQMN, такие как sigB или ispA [10]. Минимальная ингибирующая концентрация (MIC) NP16 для USA300 был больше, чем 500 мкМ (фиг. 1D).

Функции пяти кодируемых ферментов были охарактеризованы анализом продукта гена с делеционной мутацией. Во-первых, при биосинтезе стафилоксантина две молекулы фарнезилдифосфата конденсируются "голова к голове" с образованием дегидрооквалена (4,4'-диапонеироспороена), этот процесс катализируется дегидроокваленсиной CrtM. Во-вторых, дегидрооквален дегидрируется дегидрооквалендесатурой CrtN с образованием желтого промежуточного соединения 4,4'-диапонеироспороена. В-третьих, окисление концевой метильной группы 4,4'-диапонеироспороена катализируется оксидазой CrtP со смешанной функцией с образованием 4,4'-диапонеироспороеновой кислоты. Затем гликозил-4,4'-диапонеироспороенат образуется путем этерификации глюкозы в положении C1" 4,4'-диапонеироспороеновой кислоты с помощью CrtQ, обладающей гликозилтрансферазной активностью. Наконец, глюкоза в положении C6" этерифицируется карбоксильной группой 12-метилтетрадекановой кислоты с помощью ацилтрансферазы CrtO с образованием стафилоксантина. Стафилоксантин был идентифицирован как β -D-глюкопиранозил 1-O-(4,4'-диапонеироспорен-4-оат)-6-O-(12-метилтетрадеканоат).

Ингибирование CrtN NP16 приводит к уничтожению бактерий H_2O_2 и нейтрофилами.

Чтобы исследовать биологическую активность CrtN, посредством аллельной замены был создан изогенный мутант crtN в штамме COL. Мутация приводила к потере желтого пигмента. Соединение NP16 не влияло на рост клеток MDCK (фиг. 2А). Уменьшение продукции пигмента было обнаружено у *S. aureus*, выращенного в присутствии этого соединения NP16 (фиг. 1А). Блокирование образования пигмента *S. aureus* привело к увеличению чувствительности патогена к уничтожению пероксидом водорода. Для непигментированного штамма RN6390 чувствительность была сходной независимо от обработки NP16 (фиг. 2В). Кроме того, в качестве штамма, продуцирующего каротиноиды (фиг. 2D), COL выживал значительно лучше, чем RN6390 и COL, обработанные NP16, в нейтрофилах человека (фиг. 2С).

Исследования на животных.

Используя модель системной инфекции *S. aureus*, фермент CrtM из *S. aureus* был идентифицирован как мишень для антиинфекционной терапии, основанной на нейтрализации фактора вирулентности [3]. Аналогичная модель была применена для определения, является ли crtN также существенным для инфекций у мышей. Потеря стафилоксантина снижала потенциал инвазивного заболевания, поскольку мыши, инокулированные изогенным мутантом *S. aureus* COL- Δ crtN, имели более низкую численность бактериальной популяции из печени и селезенки по сравнению с 4×10^8 КОЕ для дикого типа *S. aureus* (введенного путем внутрибрюшинной инъекции), что приводило к устойчивой инфекции (фиг. 3а и 3б). Поскольку штамм COL является штаммом с низкой вирулентностью, бактерии не обнаруживались в почках с 1 по 3 день.

Этими тестами также исследовали другой высоковирулентный клинический изолят *S. aureus* AE052, и его изогенный мутант, в котором отсутствует фермент CrtN. По сравнению со штаммом дикого типа мутантный штамм в почке был выведен хозяином через 72 ч после заражения (фиг. 3Е).

При том же внутрибрюшинном заражении, показанном на фиг. 3а, 3б и 3е, одну группу мышей (n=14) обрабатывали 0,35 мг NP16 два раза в день (дни -1, 0, 1 и 2) и мыши второй группы (n=12) получали носитель в качестве контроля. После умерщвления мышей через 72 ч количество бактерий *S. aureus* штамма COL в печени и селезенке мышей, обработанных соединением NP16, было значительно ниже, чем в контрольной группе ($P < 0,01$) (фиг. 3с и 3д). В случае инфекций AE052 количество бактерий в почках мышей (n=10 для обеих групп), получавших NP16, было значительно ниже, чем в контрольной группе ($P < 0,001$), причем у 6 из 10 ниже порога обнаружения, по сравнению только с 2 из 10 в контрольной группе (фиг. 3F). Этот результат указывает на 98% уменьшение выживания бактерий в группах лечения, инфицированных штаммом COL или AE052.

Обсуждение.

Установлено, что NP-16 является ингибитором CrtN и может оказывать антивирулентное действие на *S. aureus*. CrtM и CrtN являются ключевыми ферментами в биосинтезе стафилоксантина [11]. Хотя стафилоксантин играет важную роль в устойчивости *S. aureus* к защите хозяина, он служит основой в качестве потенциальной мишени для рационального дизайна лекарственного средства для использования против *S. aureus*. Предполагается, что получено новое противоинфекционное лекарственное средство без

прямых бактерицидных свойств, нацеленное только на механизмы, которые делают патогены чувствительными к нормальному иммунному клиренсу хозяина. Поскольку существует 30% идентичности последовательностей между SQS человека и бактериальным CrtM, и они имеют общие структурные особенности. Присутствие такого гомолога препятствовало использованию CrtM в качестве лекарственной мишени, что дополнительно подтверждается исследованием, сфокусированным на улучшении специфичности BPH652 против CrtM [12]. По сравнению с CrtM, CrtN не имеет гомологичного фермента в пути биосинтеза холестерина человека, что делает его привлекательной лекарственной мишенью.

Недавно предложенный ингибитор CrtN, нафтифин, представляет собой местно вводимое противогрибковое соединение [13], которое, как было показано, подавляет хемотаксис, хемокинез, хемиллюминесценцию и продукцию супероксид-аниона полиморфноядерных лейкоцитов при высоких концентрациях [14]. Эффекты нафтифина нестабильны в разных органах (от отсутствия эффекта до снижения бактериальной нагрузки на почти 4 log) и не совпадают с эффектом мутанта CrtN (всегда снижается бактериальная нагрузка максимум от 0,2 до 2 log). Считается, что это указывает на то, что CrtN не должен быть основной мишенью нафтифина [6].

АФК используются фагоцитами для уничтожения бактерий. Они генерируются никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФН) оксидазой [15]. Бактериальные каротиноиды, экспрессируемые *S. aureus*, могут выполнять защитную функцию от этих защитных молекул [4, 16]. Существующие данные подтверждают, что пигмент-дефицитный штамм *S. aureus* был более чувствителен к окислителям, перекиси водорода и атомарному кислороду *in vitro* по сравнению со штаммом *S. aureus* дикого типа [1]. Использование системы анализа внутрибактериального ингибирования показало, что изогенный мутант crtN, который имел нарушение синтеза каротиноидов, был более чувствительным к действию очищенных нейтрофилов человека. Это подтвердило важность CrtN во внутриклеточной выживаемости *S. aureus*.

Ингибиторы CrtN без непосредственных бактерицидных свойств должны обладать теоретическими преимуществами, заключающимися в том, что они не оказывают прямого селективного давления на патоген или нормальную флору в сторону развития лекарственной устойчивости. Предлагаемый здесь подход, а также другие основанные на факторах вирулентности концепции [3, 17] для высокоспецифичной антистафилококковой терапии, основан главным образом на нормальном врожденном иммунном ответе хозяина для выведения от патогенов. Такие стратегии гораздо больше подходят для клинического лечения и профилактического применения с ограниченным риском развития лекарственно-устойчивого патогена в отличие от случая, наблюдаемого с антибиотиками.

Следует понимать, что описанные здесь примеры и варианты осуществления предназначены только для иллюстративных целей и что различные модификации или изменения в их свете могут быть сделаны специалистами в данной области техники и должны быть включены в сущность и сферу применения данной заявки.

Все патенты, патентные заявки, предварительные патентные заявки и публикации, упомянутые или цитируемые в настоящем описании, полностью включены в него путем ссылки, включая все фигуры и таблицы, в той степени, в которой они не противоречат явным идеям настоящего описания.

Следует понимать, что многочисленные конкретные детали, взаимосвязи и способы изложены для обеспечения полного понимания изобретения. Однако специалист в соответствующей области техники легко поймет, что изобретение может быть осуществлено на практике без одной или нескольких конкретных деталей или реализовано с использованием других способов, протоколов, реагентов, клеточных линий и животных. Настоящее изобретение не ограничено иллюстрированным порядком действий или событий, поскольку некоторые действия могут происходить в разных порядках и/или одновременно с другими действиями или событиями. Кроме того, не все проиллюстрированные действия, этапы или события требуются для реализации методологии в соответствии с настоящим изобретением. Многие из методик и процедур, описанных здесь или на которые здесь дается ссылка, хорошо поняты и обычно применяются с использованием обычной методологии специалистами в данной области техники.

Если не указано иное, то предполагается, что все используемые здесь специальные термины, обозначения и другие научные термины или терминология имеют значения, обычно понятные специалистам в области техники, к которой относится настоящее изобретение. В некоторых случаях термины с общепринятыми значениями определены здесь для ясности и/или для удобства ссылки, и включение таких определений в данное описание не обязательно должно истолковываться как представляющее существенную разницу по сравнению с тем, что обычно понимается в данной области техники. Далее будет понятно, что термины, такие как те, которые определены в обычно используемых словарях, следует интерпретировать как имеющие значение, которое соответствует их значению в контексте соответствующей области техники и/или как иным образом определено здесь.

Ссылки.

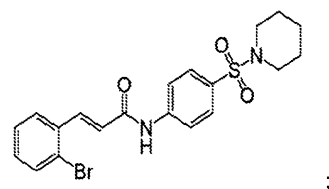
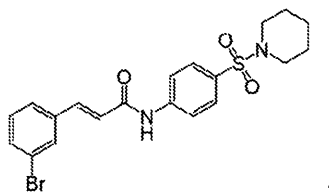
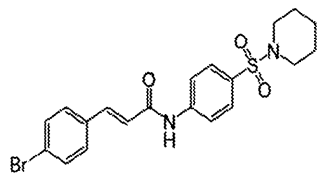
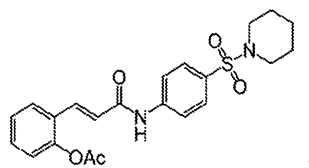
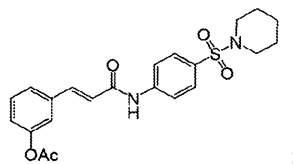
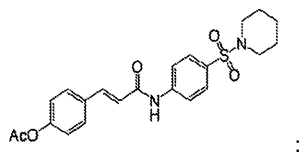
Следующие источники информации полностью включены в настоящее изобретение путем ссылки.

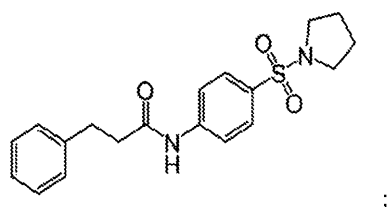
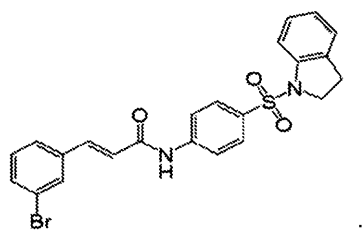
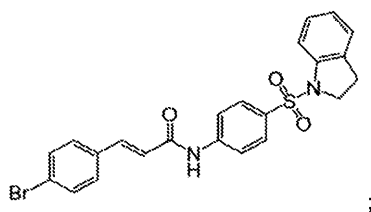
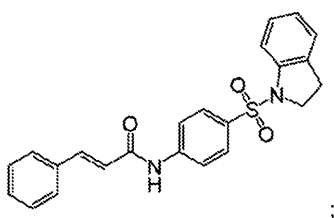
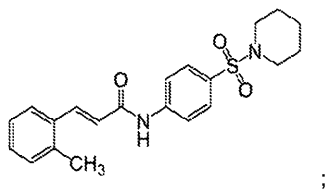
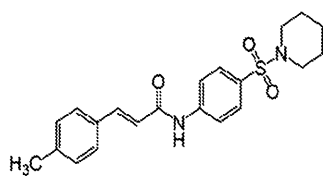
1. Clauditz, A., et al., Staphyloxanthin plays a role in the fitness of *Staphylococcus aureus* and its ability to cope with oxidative stress. *Infect Immun*, 2006. 74(8): p. 4950-3.
2. Pelz, A., et al., Structure and biosynthesis of staphyloxanthin from *Staphylococcus aureus*. *J Biol Chem*, 2005. 280(37): p. 32493-8.
3. Liu, C.I., et al., A cholesterol biosynthesis inhibitor blocks *Staphylococcus aureus* virulence. *Science*, 2008. 319(5868): p. 1391-4.
4. Liu, G.Y., et al., *Staphylococcus aureus* golden pigment impairs neutrophil killing and promotes virulence through its antioxidant activity. *J Exp Med*, 2005. 202(2): p. 209-15.
5. Raisig, A. and G. Sandmann, 4,4'-diapophytoene desaturase: catalytic properties of an enzyme from the C(30) carotenoid pathway of *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol*, 1999. 181(19): p. 6184-7.
6. Chen, F., et al., Small-molecule targeting of a diapophytoene desaturase inhibits *S. aureus* virulence. *Nat Chem Biol*, 2016.
7. Sakai, K., et al., Search method for inhibitors of Staphyloxanthin production by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Biol Pharm Bull*, 2012. 35(1): p. 48-53.
8. Ho, P.L., et al., Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin and soft tissue infections in Hong Kong. *Hong Kong Med J*, 2009. 15 Suppl 9: p. 9-11.
9. Kobayashi, S.D., et al., Bacterial pathogens modulate an apoptosis differentiation program in human neutrophils. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003. 100(19): p. 10948-53.
10. Lan, L., et al., Golden pigment production and virulence gene expression are affected by metabolisms in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol*, 2010. 192(12): p. 3068-77.
11. Ku, B., et al., Preparation, characterization, and optimization of an in vitro C30 carotenoid pathway. *Appl Environ Microbiol*, 2005. 71(11): p. 6578-83.
12. Song, Y., et al., Phosphonosulfonates are potent, selective inhibitors of dehydrosqualene synthase and staphyloxanthin biosynthesis in *Staphylococcus aureus*. *J Med Chem*, 2009. 52(4): p. 976-88.

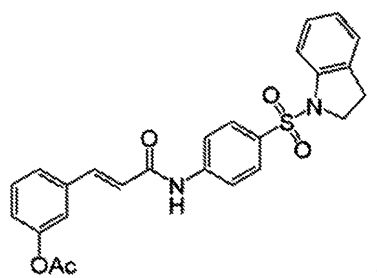
13. Favre, B. and N.S. Ryder, Characterization of squalene epoxidase activity from the dermatophyte *Trichophyton rubrum* and its inhibition by terbinafine and other antimycotic agents. *Antimicrob Agents Chemother*, 1996. 40(2): p. 443-7.
14. Vago, T., et al., Effects of naftifine and terbinafine, two allylamine antifungal drugs, on selected functions of human polymorphonuclear leukocytes. *Antimicrob Agents Chemother*, 1994. 38(11): p. 2605-11.
15. Fang, F.C., Antimicrobial reactive oxygen and nitrogen species: concepts and controversies. *Nat Rev Microbiol*, 2004. 2(10): p. 820-32.
16. Liu, G.Y., et al., Sword and shield: linked group B streptococcal beta-hemolysin/cytolysin and carotenoid pigment function to subvert host phagocyte defense. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004. 101(40): p. 14491-6.
17. Sully, E.K., et al., Selective chemical inhibition of agr quorum sensing in *Staphylococcus aureus* promotes host defense with minimal impact on resistance. *PLoS Pathog*, 2014. 10(6): p. e1004174.
18. Crossley, K.B., *Staphylococci in human disease*. 2nd ed. 2010, Chichester, West Sussex; Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell. xii, 623 p., 10 p. of plates.
19. Blot, S.I., et al., Outcome and attributable mortality in critically 111 patients with bacteremia involving methicillin-susceptible and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Arch Intern Med*, 2002. 162(19): p. 2229-35.
20. Peng Gao, Julian Davies and Richard Yi Tsun Kao, «Dehydrosqualene desaturase as a novel target for antimicrobial therapeutics in *Staphylococcus aureus*», *mBio*, 8:e01224-17, (2017).

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

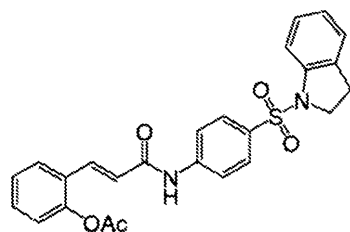
1. Соединение, выбранное из следующих структур:



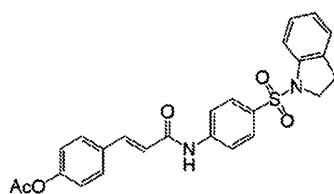




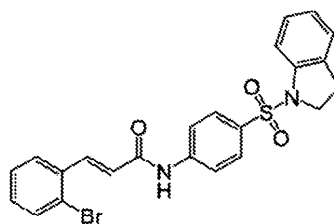
;



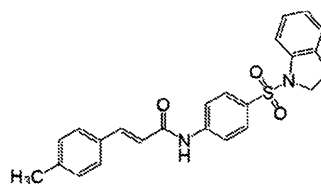
;



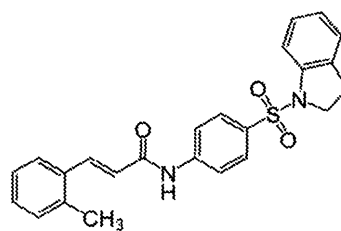
;



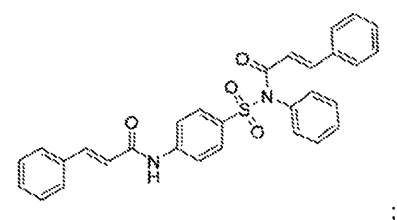
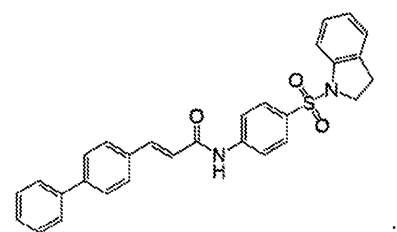
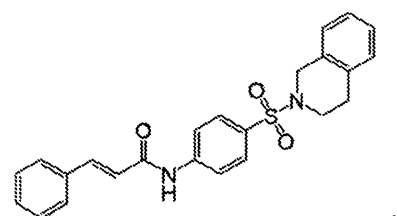
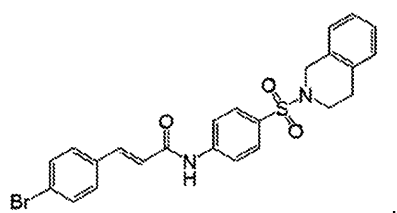
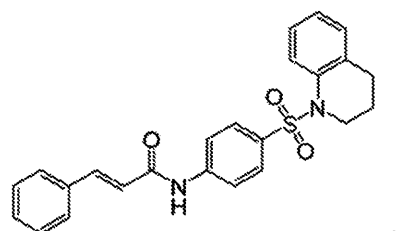
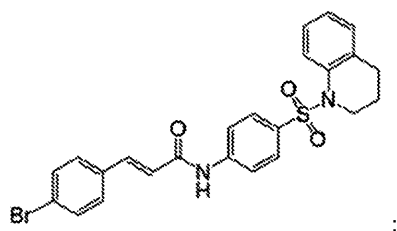
;

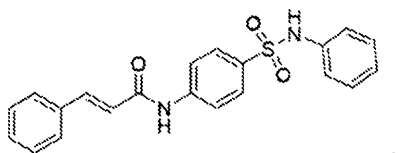


;

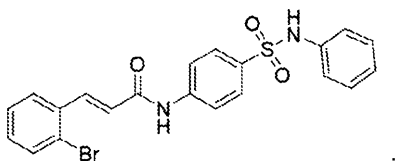


;

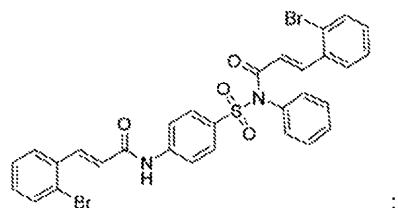




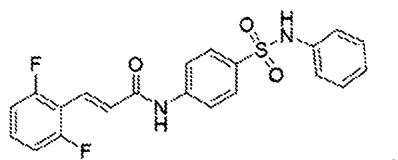
;



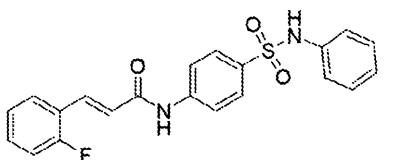
;



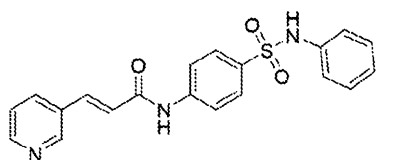
;



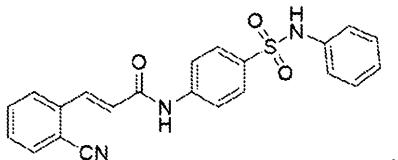
;



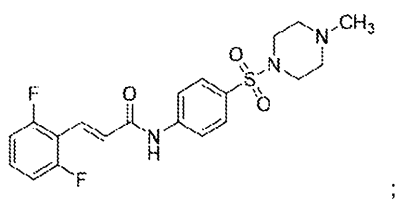
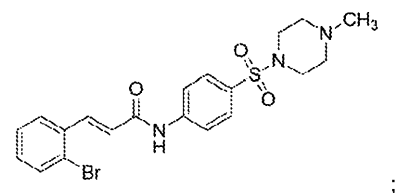
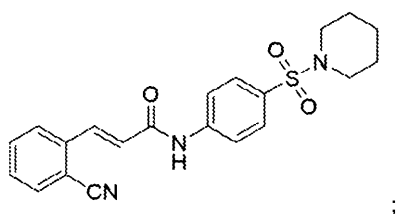
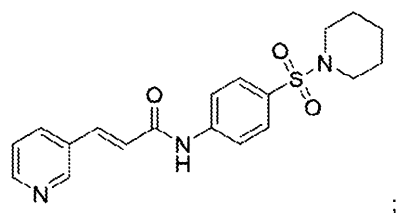
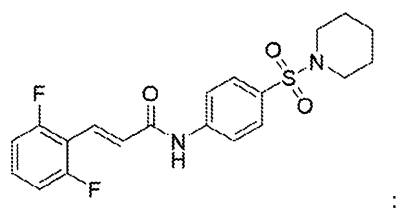
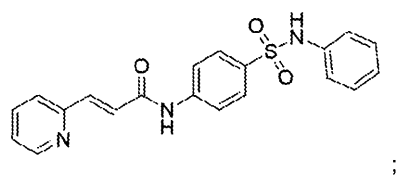
;

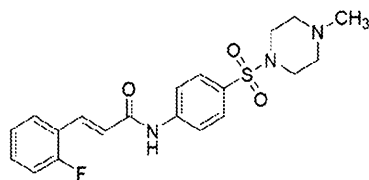


;

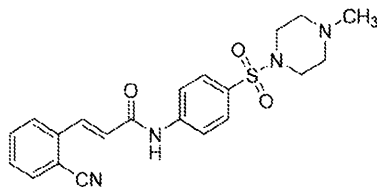


;

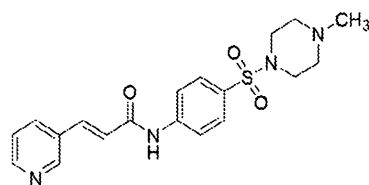




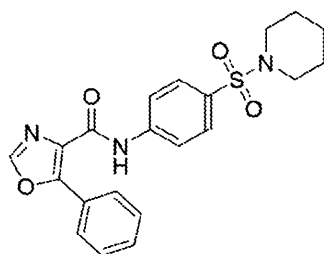
;



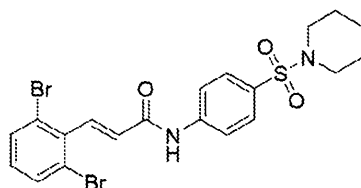
;



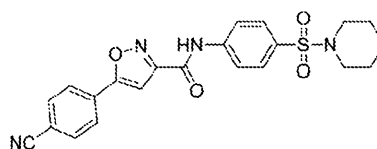
;



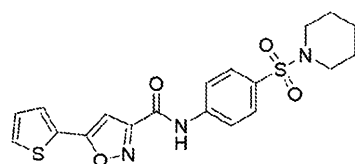
;



;



; и



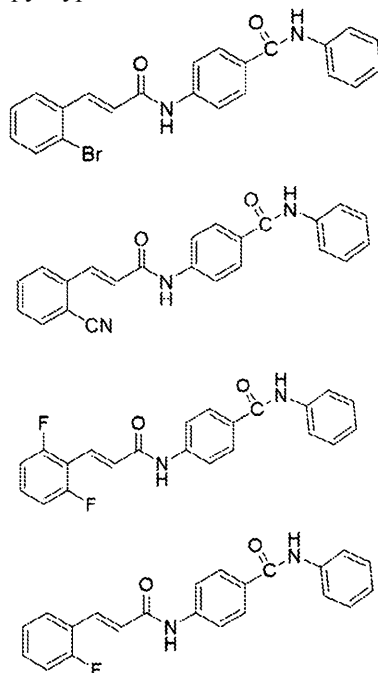
2. Композиция для лечения и/или предотвращения микробных инфекций и/или связанных с ними заболеваний или состояний, содержащая соединение по п.1, фармацевтический носитель, вспомогательное вещество, наполнитель, растворитель и разбавитель,

3. Композиция по п.2, где микробные инфекции включают в себя стафилококковую инфекцию.

4. Композиция по п.2, где композиция снижает выработку пигмента у *Staphylococcus aureus*.

5. Композиция по п.2, где микробные инфекции и/или связанные с ними заболевания или патологические состояния включают в себя инфекции кожи и мягких тканей, костей и суставов, хирургической раны, имплантированных устройств, легких и сердечных клапанов.

6. Соединение, выбранное из структуры:

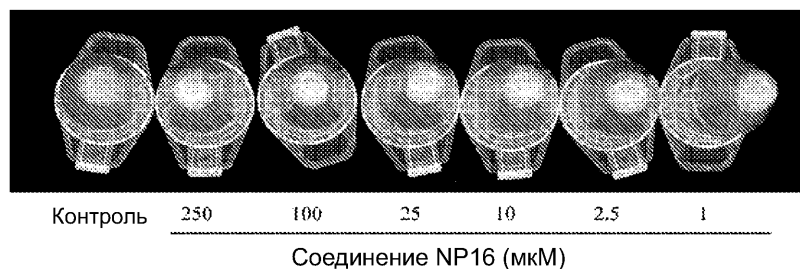


7. Композиция для лечения и/или предотвращения микробных инфекций и/или связанных с ними заболеваний или состояний, содержащая соединение по п.6, фармацевтический носитель, вспомогательное вещество, наполнитель, растворитель и разбавитель,

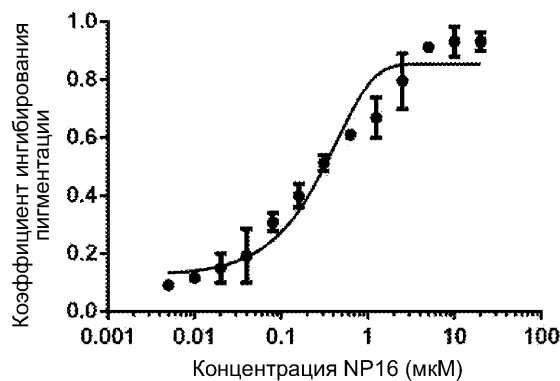
8. Композиция по п.7, где микробные инфекции включают в себя стафилококковую инфекцию.

9. Композиция по п.7, где композиция снижает выработку пигмента у *Staphylococcus aureus*.

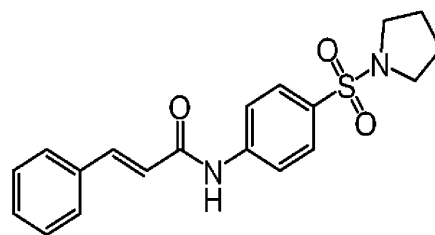
10. Композиция по п.7, где микробные инфекции и/или связанные с ними заболевания или патологические состояния включают в себя инфекции кожи и мягких тканей, костей и суставов, хирургической раны, имплантированных устройств, легких и сердечных клапанов.



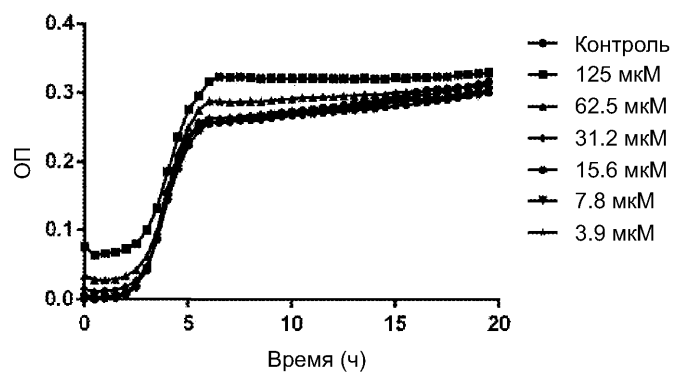
Фиг. 1А



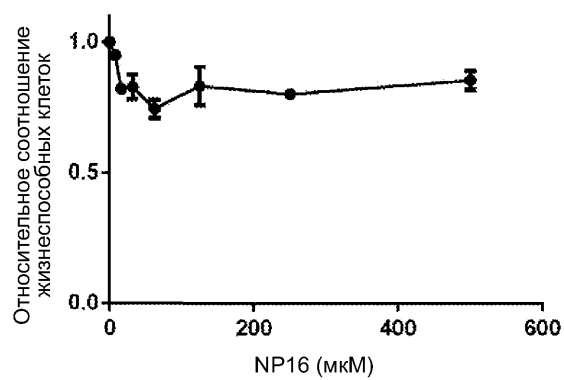
Фиг. 1В



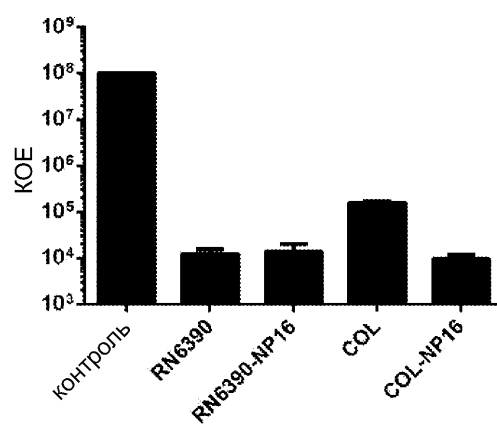
Фиг. 1С



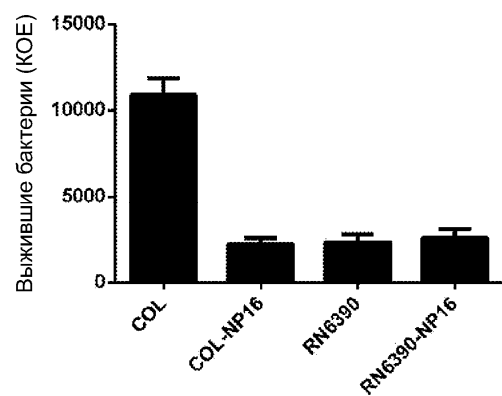
Фиг. 1D



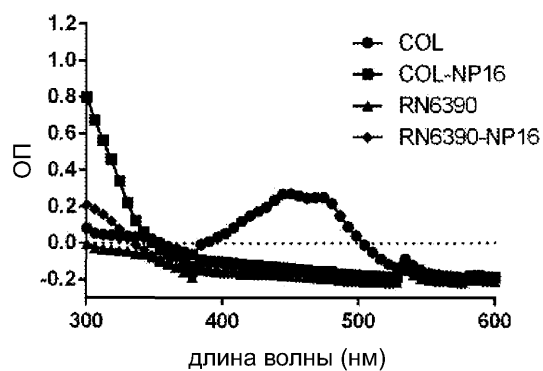
Фиг. 2А



Фиг. 2В

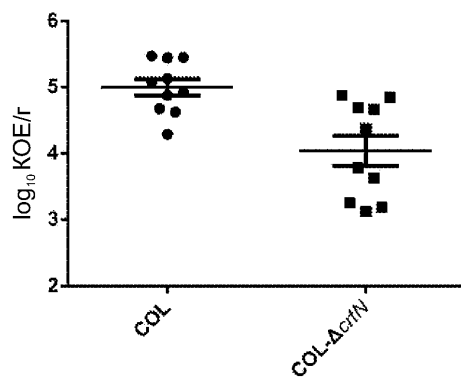


Фиг. 2С



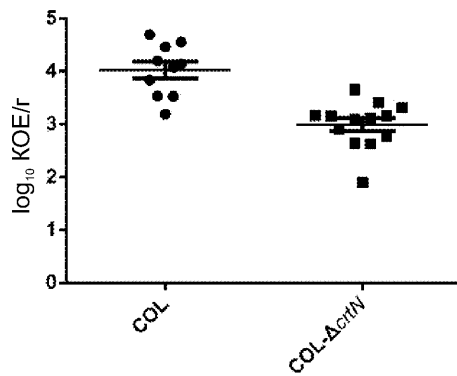
Фиг. 2D

Печень



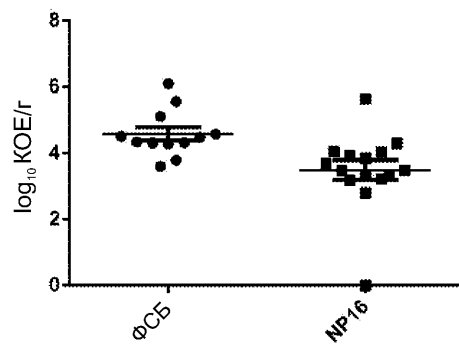
Фиг. 3А

Селезёнка



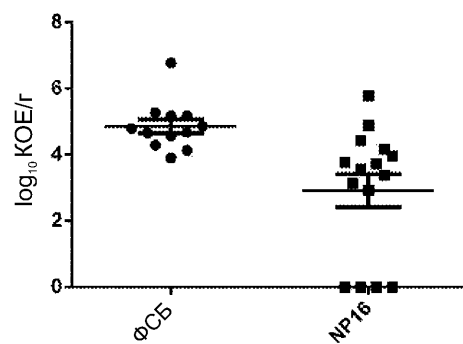
Фиг. 3В

Печень



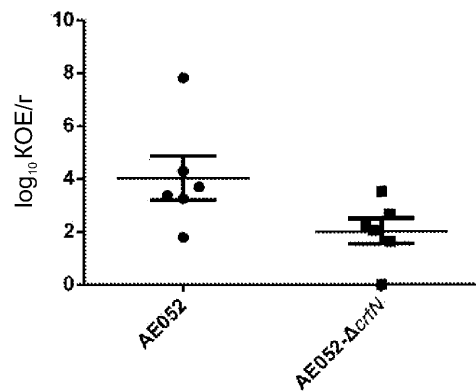
Фиг. 3С

Селезёнка



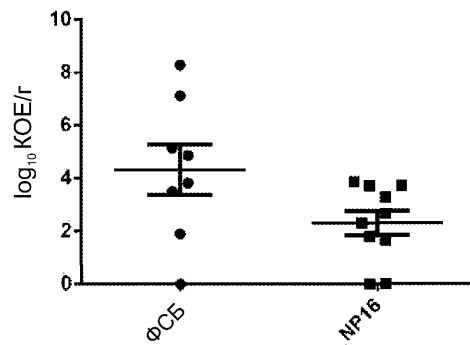
Фиг. 3D

Почка

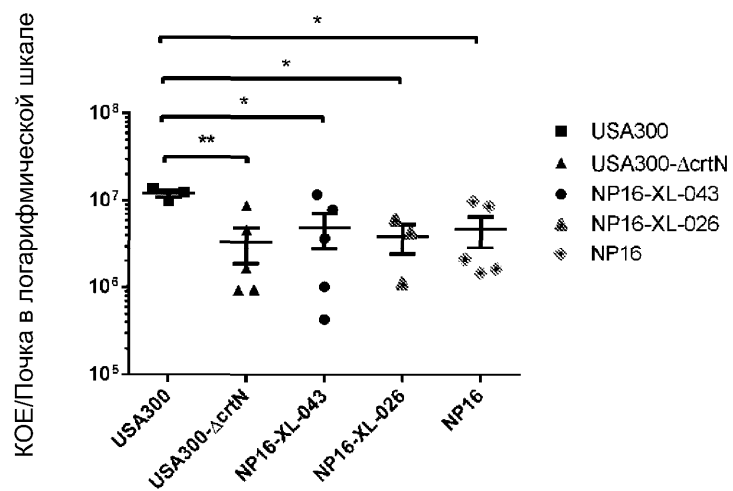


Фиг. 3Е

Почка



Фиг. 3F



Фиг. 4

