

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202292254 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.01.23

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

(22) Дата подачи заявки
2021.03.02

(54) СОЕДИНЕНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ ПРИ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЯХ

(31) 20382152.5; 20382192.1; 20382266.3;
20382339.8; 20382816.5; 20382815.7;
21382059.0

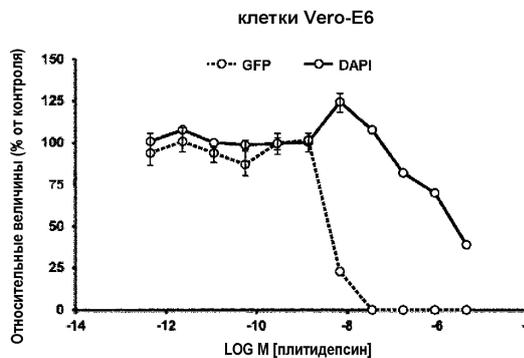
(72) Изобретатель:
Авилес Марин Пабло, Лосада
Гонсалес Алехандро, Фернандес
Соуса-Фаро Хосе Мария, Фудио
Муньос Сальвадор (ES)

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

(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)

(33) EP
(86) PCT/EP2021/055147
(87) WO 2021/175831 2021.09.10
(88) 2021.10.14
(71) Заявитель:
ФАРМА МАР, С.А. (ES)

(57) Изобретение относится к применению соединений в лечении вирусной инфекции, где вирус выбран из семейства Orthomyxoviridae или где вирус представляет собой вирус Западного Нила.



A1

202292254

202292254

A1

СОЕДИНЕНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ ПРИ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЯХ

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к лечению вирусных инфекций семейства *Orthomyxoviridae* или где вирус представляет собой вирус Западного Нила.

ПРЕДШЕСТВУЮЩИЙ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Лечение вирусных инфекций важно не только для снижения тяжести заболевания, но и для предотвращения заболевания и сведения к минимуму передачи вируса. Например, ряд вирусов вызывают пожизненные инфекции, которые можно эффективно контролировать или управлять с помощью лечения. Почти все вирусы способны вызывать осложнения у уязвимых пациентов, такие как вирусемия, пневмония и сепсис, но некоторые вирусы могут вызывать тяжелые инфекции, которые, если их не лечить, у любого человека могут привести к повреждению органов, отказу органов и даже смерти. Эти симптомы возникают из-за самого вируса, но также могут быть вызваны чрезмерным иммунным ответом. Некоторые вирусы находятся в латентном состоянии и не вызывают симптоматического заболевания сразу после заражения. Хотя латентные вирусы могут привести к непреднамеренному распространению вируса среди других людей, они также могут реактивироваться через несколько лет после первоначального заражения, вызывая тяжелые симптомы, которые часто приводят к летальному исходу и которых можно было бы избежать при более раннем лечении.

Вирус Западного Нила (WNV) в последнее время, в частности, привлек значительное внимание, поскольку число новых инфекций, зарегистрированных в эндемичных районах, увеличивается. Например, за последние десять лет примерно 40000 человек были инфицированы WNV в США, из которых примерно у 20% развились нейроинвазивные заболевания (т.е. энцефалит и менингит) с летальностью 12%.

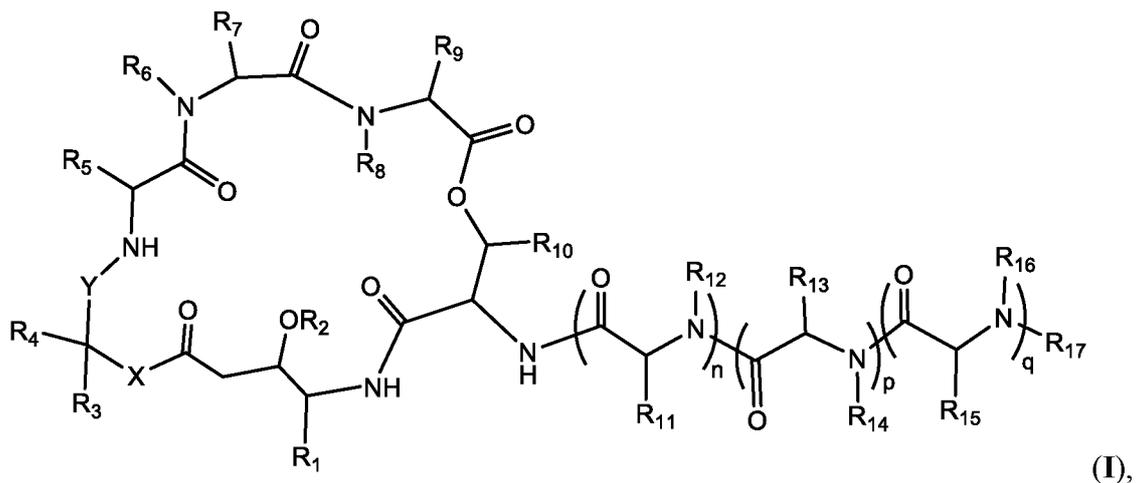
Вирусы гриппа вызывают распространенное заболевание, известное как «грипп», которое особенно распространено среди населения в зимние месяцы. У большинства людей, инфицированных гриппом, развивается легкое респираторное заболевание, но бремя болезни увеличивается с возрастом, а лица с ослабленной иммунной системой подвержены риску развития более тяжелого заболевания. Сообщается, что уровень смертности от гриппа в США составляет от 0,1 до 0,5%, но уровень смертности варьирует в зависимости от конкретного штамма гриппа и страны. По оценкам

Всемирной Организации Здравоохранения, сезонные эпидемии гриппа ежегодно вызывают 3–5 миллионов случаев тяжелого заболевания и 291000–646000 смертей во всем мире. Из-за способности вирусов гриппа подвергаться генетическому сдвигу определенные штаммы гриппа могут иметь значительно более высокие показатели смертности и способны вызывать пандемии. Следует отметить, что с 1900 года произошло четыре пандемии гриппа (испанка H1N1, азиатский грипп H2N2, гонконгский грипп H3N2, свиной грипп H1N1).

Таким образом, существует необходимость в предложении нового лечения в отношении вирусных инфекций, таких как вирус Западного Нила и грипп. Настоящее изобретение направлено на удовлетворение этой потребности.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

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



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 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, CORa, COORa, 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 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 вирусной инфекции, где вирус выбран из семейства *Orthomyxoviridae* или где вирус представляет собой вирус Западного Нила. В одном воплощении вирус выбран из семейства *Orthomyxoviridae*. В другом воплощении вирус представляет собой вирус Западного Нила.

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

В одном конкретном аспекте соединение общей формулы I представляет собой дидемнин В или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер.

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

В другом аспекте настоящее изобретение относится к применению соединения, как определено здесь, в изготовлении лекарственного средства для лечения вирусной инфекции, где вирус выбран из семейства *Orthomyxoviridae* или где вирус представляет собой вирус Западного Нила.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения вирусной инфекции у любого млекопитающего, предпочтительно человека, где способ включает

введение нуждающемуся в этом индивидууму терапевтически эффективного количества соединения, как определено здесь, и где вирус выбран из семейства *Orthomyxoviridae* или где вирус представляет собой вирус Западного Нила.

В другом аспекте изобретения предложен набор, содержащий соединение, как определено здесь, вместе с инструкциями по лечению вирусной инфекции, где вирус выбран из семейства *Orthomyxoviridae* или где вирус представляет собой вирус Западного Нила.

Следующие воплощения применимы ко всем аспектам настоящего изобретения.

В одном воплощении вирус *Orthomyxoviridae* выбран из вируса гриппа А, вируса гриппа В, вируса гриппа С, тогатовируса, кваранджавируса и изавируса. В другом воплощении вирус *Orthomyxoviridae* представляет собой вирус гриппа А, предпочтительно выбранный из H1N1, H1N2 и H3N2. В другом воплощении вирус *Orthomyxoviridae* представляет собой вирус гриппа В, предпочтительно выбранный из линий Yamagata или Victoria.

В одном воплощении вирус Западного Нила выбран из линии 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8. Предпочтительно вирус относится к линии 1 или 2 (WNV-1 или WNV-2). В одном воплощении вирус Западного Нила представляет собой вирус Западного Нила-NY99.

R₃ и R₄ могут быть независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C₁-C₆алкила. R₃ может представлять собой изопропил, а R₄ может представлять собой водород. R₃ и R₄ могут представлять собой метил (это соединение также называют соединением общей формулы II).

R₁₁ может быть выбран из водорода и замещенного или незамещенного C₁-C₆алкила. R₁₁ может представлять собой метил или изобутил. R₁₁ может представлять собой метил, и n равен 1 (это соединение также называют соединением общей формулы III).

R₁, R₅, R₉ и R₁₅ могут быть независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C₁-C₆алкила. R₁ может быть выбран из *втор*-бутила и изопропила, R₅ может представлять собой изобутил, R₉ может представлять собой *пара*-метоксибензил, и R₁₅ может быть выбран из метила и бензила.

R₈, R₁₀, R₁₂ и R₁₆ могут быть независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C₁-C₆алкила. R₈, R₁₀ и R₁₂ могут представлять собой метил, и R₁₆ 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, и 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, и R_{13} может быть выбран из водорода, метила, изопропила, изобутила и 3-амино-3-оксопропила.

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

R_2 может быть выбран из водорода, замещенного или незамещенного C_1 - C_6 алкила и COR_a , где R_a может представлять собой замещенный или незамещенный C_1 - C_6 алкил. R_2 может представлять собой водород.

R_{17} может быть выбран из водорода, COR_a , $COOR_a$, $CONHR_b$, $(C=S)NHR_b$ и SO_2R_c , где каждый R_a , R_b и R_c может быть независимо выбран из замещенного или незамещенного C_1 - C_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. R_{17} может быть выбран из водорода, COO бензила, CO бензо[b]тиофен-2-ила, группы SO_2 (*пара*-метилфенил), $COCOCH_3$ и $COOC(CH_3)_3$.

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

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

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

Вирусная инфекция может представлять собой легкую инфекцию; и/или умеренную инфекцию; и/или тяжелую инфекцию.

Применение может включать применение для лечения пациента с признаками и симптомами вирусной инфекции в течение вплоть до 4 недель; и/или от 4 недель до 12 недель; и/или более 12 недель.

Применение может включать применение для профилактики, купирования или лечения персистирующих симптомов вирусной инфекции.

Применение может снижать инфекционность пациентов; в том числе, когда пациент бессимптомен или еще малосимптомен, но имеет высокую вирусную нагрузку. Применение может уменьшать возникновение суперконтагаторов (бессимптомные или малосимптомные пациенты с высокой вирусной нагрузкой (например ТС менее 25)). Настоящее изобретение обеспечивает быстрое и значительное снижение вирусной нагрузки. Снижение вирусной нагрузки может снизить инфекционность пациентов. Это особенно полезно для пациентов, которые бессимптомны или еще малосимптомны, но имеют высокую вирусную нагрузку (например ТС менее 25). Такие пациенты могут являться суперконтагаторами или суперраспространителями. Введение соединений по настоящему изобретению при обнаружении инфекции может снизить вирусную нагрузку и, следовательно, снизить инфекционность пациента.

Лечение может приводить к снижению вирусной нагрузки. Это может быть выражено в виде значения порогового цикла репликации (C_t), превышающего 30 (C_t более 30), на 6-е сутки после введения. Лечение может снижать вирусную нагрузку по сравнению с исходным уровнем. Это может быть выражено в виде снижения процента пациентов, нуждающихся в госпитализации после введения. Это может быть выражено в виде снижения процента пациентов, которым требуется инвазивная искусственная вентиляция легких и/или госпитализация в отделение интенсивной терапии после введения. Это может быть выражено в виде уменьшения числа пациентов, у которых развиваются последствия, связанные с персистирующим заболеванием. Это может быть выражено в виде увеличения процента пациентов с нормализацией аналитических показателей, выбранных в качестве критериев неблагоприятного прогноза (включая, например, лимфопению, ЛДГ (лактатдегидрогеназа), D-димер или ПЦР). Это может быть выражено в виде увеличения процента пациентов с нормализацией клинических критериев (исчезновение симптомов), включая, например: головную боль, лихорадку, кашель, утомляемость, одышку (затруднение дыхания), артромиалгию или диарею.

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

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

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

Соединение может быть введено в общей дозе 1-50 мг, 1-40 мг, 1-30 мг, 1-20 мг, 1-15 мг, 3-15 мг, 3-12 мг, 4-12 мг, 4-10 мг или 4,5-10 мг; 4 мг, 4,5 мг, 5 мг, 5,5 мг, 6 мг, 6,5 мг, 7 мг, 7,5 мг, 8 мг, 8,5 мг, 9 мг, 9,5 мг или 10 мг; предпочтительно 4,5 мг, 5 мг, 6 мг, 7,5 мг, 8 мг, 9 мг или 10 мг; более предпочтительно 4,5-7,5 мг/сутки. Общая доза может быть разделена на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 суток, предпочтительно на 3 или 5 суток; наиболее предпочтительно на 3 суток.

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

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

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

Схема однократного дозирования может быть использована со всеми видами терапии, указанными в настоящем изобретении. Комбинированное применение с кортикостероидами (включая последующее введение кортикостероидов) может быть использовано в воплощениях по схеме однократного дозирования. Многодневная схема

приема может быть использована со всеми видами терапии, указанными в настоящем изобретении.

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

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

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

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

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

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

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

Схема приема согласно настоящему изобретению может представлять собой:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ондансетрон 8 мг внутривенно (или эквивалент);

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

ранитидин 50 мг в/в (или эквивалент).

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

При введении однократной дозы за 20-30 минут до инфузии плитидепсина пациенты могут получить следующие профилактические препараты:

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

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

ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Изобретение дополнительно описано в следующих неограничивающих графических материалах.

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 означает резиквимод в концентрации 10 мкг/мл. LPS-B5 означает липополисахарид *Escherichia coli* 055:B5 (LPS-B5) в концентрации 10 мкг/мл. Poly I:C означает полиинозиново-полицитидиловую кислоту 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 плитидепсин отрицательно регулирует секрецию цитокинов, запускаемую TLR. Трансактивация NF-κB в ответ на активацию Toll-подобных рецепторов приводит к усилению секреции провоспалительных цитокинов: IL-1 (a), IL-6 (b), IL-8 (c) и TNF-α (d). Культуры подвергали воздействию PLD в концентрации 100 нМ или DMSO (диметилсульфоксид) в течение 6 часов. Через 6 часов после обработки секретиремые 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 липополисахаридом (LPS) мышей.

На **Фиг. 5** 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.

На **Фиг. 6** показан воспалительный профиль в ЖБАЛ (жидкость бронхоальвеолярного лаважа) мышей, инфицированных вирусом гриппа, при лечении (PR8) PLD или без него (PC).

На **Фиг. 7** показан титр вируса гриппа в легких мышей при лечении PLD или без него. Противовирусную активность PLD подсчитывали с помощью количественной ПЦР, измеряя уровень мРНК вирусного NP (нуклеопротеина) (NP-PR8).

На **Фиг. 8** показано количественное измерение уровня инфильтрации иммунных клеток, в частности АМ (альвеолярных макрофагов), в ЖБАЛ мышей, инфицированных гриппом, получавших (PR8) PLD или без него (PC).

На **Фиг. 9** показана эффективность инфицирования WNV-GFP (вирус Западного Нила-зеленый флуоресцентный белок) клеток VeroE6. Кривые зависимости доза-эффект плитидепсина для эффективности инфицирования (GFP; зеленая линия) и биомассы клеток (DAPI; синяя линия). Данные представлены в виде среднего значения и SEM (стандартная ошибка среднего) двух независимых экспериментов, проведенных с четырьмя биологическими повторами (n=8).

На **Фиг. 10** показана эффективность инфицирования WNV-GFP клеток Huh-7. Кривые зависимости доза-эффект плитидепсина для эффективности инфицирования (GFP; зеленая линия) и биомассы клеток (DAPI; синяя линия). Данные представлены в виде среднего значения и SEM двух независимых экспериментов, проведенных с четырьмя биологическими повторами (n=8).

На **Фиг. 11** показано влияние плитидепсина на внеклеточные инфекционные титры WNV. Клетки Vero-E6 (a) или Huh-7 (b) инокулировали WNV/NY99 при MOI

(множественность заражения) 0,01. Через сорок восемь часов супернатанты клеток собирали для определения внеклеточных инфекционных титров с помощью конечного разведения и иммунофлуоресцентной микроскопии. Данные выражены в инфекционных единицах на объем супернатанта (бляшкообразующие единицы (БОЕ)/мл) в логарифмической шкале и представлены в виде среднего значения и SEM (N=4). Статистическую значимость тестировали с использованием однофакторного дисперсионного анализа ANOVA и апостериорного критерия Даннета (*р менее 0,05).

На **Фиг. 12** показано влияние плитидепсина на внутриклеточные уровни РНК WNV. Клетки Vero-E6 (a) или Huh-7 (b) инокулировали WNV/NY99 при MOI 0,01. Через сорок восемь часов суммарную клеточную РНК подвергали количественной ПЦР с обратной транскриптазой. Данные выражены в виде количества копий генома/60 нг суммарной РНК, нормализованное в логарифмической шкале с использованием 28S РНК в качестве конститутивного гена, и представлены в виде среднего значения и SEM (N=4). Статистическую значимость тестировали с использованием однофакторного ANOVA и апостериорного критерия Даннета (*р менее 0,05). n.d. означает не обнаружено (менее 1000 копий/реакция).

На **Фиг. 13** показано влияние предварительной обработки плитидепсином (APL) в концентрации 1 нМ, 10 нМ и 50 нМ на секрецию провоспалительных цитокинов IL6 (a), IL8 (b), IL1 β (c) и TNF- α (d). В (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. 14** показано влияние обработки плитидепсином на продукцию провоспалительных цитокинов, IL-6 (c), IL-10 (d) и TNF- α (e), опосредованную LPS-B5, в клетках CD45⁺, выделенных из жидкости бронхоальвеолярного лаважа (ЖБАЛ). В (a) показан процент живых клеток CD45⁺ в контроле, клеток, обработанных LPS-B5, и клеток, обработанных LPS-B5 и PLD. В (b) показана выживаемость клеток в виде процента от контроля в клетках, обработанных LPS-B5, и клетках, обработанных LPS-B5 и PLD.

На **Фиг. 15** показано влияние обработки плитидепсином на продукцию провоспалительных цитокинов TNF- α , опосредованную резиквимодом.

На **Фиг. 16 и 17** показаны профили общей концентрации в плазме в зависимости от времени, предсказанные для режимов дозирования и введения согласно настоящему изобретению.

На **Фиг. 18** показаны профили общей концентрации в плазме в зависимости от времени, предсказанные для дополнительных схем дозирования и введения согласно настоящему изобретению.

На **Фиг. 19** показаны профили общей концентрации против концентрации в плазме для однократной дозы плитидепсина 7,5 мг и 1,5, 2,0 и 2,5 мг на 1-3 сутки с использованием 1,5-часовой инфузии.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

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 используют ряд общих терминов и фраз, которые следует интерпретировать следующим образом.

Термин «лечение», используемый здесь, если не оговорено особо, означает регрессию, ослабление, облегчение или подавление прогрессирующего 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.

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

некоторой степени одного или более симптомов, связанных с вирусной инфекцией. Это может включать воспаление, связанное с вирусной инфекцией.

«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). Пациенту может потребоваться госпитализация для лечения инфекции.

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

Вирус Западного Нила (WNV) является важным быстрораспространяющимся нейротропным вирусом, ответственным за все более тяжелые вспышки энцефалита у людей и лошадей во всем мире. WNV кодируется геномом положительно-смысловой одноцепочечной РНК (оцРНК) размером приблизительно 11 тысяч пар нуклеотидов. Геном транслируется как один полипротеин, и последующее расщепление этого полипротеина вирусными протеазами и протеазами хозяина дает 10 вирусных белков. Патогенез WNV состоит из трех фаз: ранней фазы начальной инфекции и распространения (ранняя фаза), периферической амплификации вируса (фаза диссеминации во внутренние органы) и нейроинвазии (фаза поражения центральной нервной системы (ЦНС)).

Ранняя фаза после подкожного инфицирования определяется репликацией WNV в кератиноцитах и резидентных DC (дендритных клетках) кожи с последующей амплификацией вируса в дренирующих лимфатических узлах, что приводит к вирусемии и распространению во внутренние органы. Специфические клетки-мишени для инфицирования WNV четко не определены, но считается, что это подмножества DC, макрофагов и, возможно, нейтрофилов. Инвазия WNV в ткани ЦНС (например в головной и спинной мозг) составляет третью фазу инфекции. WNV может проникать в мозг посредством комбинации механизмов, которые облегчают вирусную нейроинвазию, таких как прямое инфицирование с нарушением гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) или без него и/или транспорт вируса по периферическим нейронам.

Основным отличительным признаком патогенеза WNV является нейровоспаление, вызванное чрезмерным врожденным и приобретенным иммунным ответом. Аккумуляция воспалительных моноцитов в головном мозге и их дифференцировка в макрофаги и микроглию также может усугубить нейровоспаление и повреждение ЦНС, что продемонстрировано на мышинной модели нелетальной инфекции WNV. Распознавание нуклеиновой кислоты WNV в моноцитах/микроглии с помощью TLR может привести к продукции TNF- α , что приводит к потере тесных контактов, позволяя WNV и иммунным клеткам проникать в периваскулярное пространство головного мозга у мышей. Таким образом, активация клеток моноцитарно-макрофагальной системы с помощью WNV, по-видимому, приводит к важным нейропатологическим последствиям, а чрезмерные врожденные ответы могут вызывать воспаление, изменяя проницаемость гематоэнцефалического барьера и позволяя вирусу проникать в ЦНС. Действительно, лечение инфицированных нейрональных клеток антителами, блокирующими TNF- α и другие провоспалительные медиаторы, приводит к значительному снижению WNV-опосредованной гибели нейронов, что свидетельствует о том, что такие медиаторы играют важную роль в патогенезе инфекции WNV в ЦНС.

Семейство *Orthomyxoviridae* представляет собой семейство РНК-вирусов с отрицательным смыслом и содержит важные патогены как человека, так и животных. В семейство входят семь родов, включая вирус гриппа А, вирус гриппа В, вирус гриппа С, тогатовирус, каранджавирус и изавирус.

Существует четыре класса вирусов гриппа: А, В, С и D, причем вирусы гриппа А и В, в частности, вызывают зимние эпидемии гриппа, являющиеся причиной приблизительно от 300 до 650 тысяч смертей в год. Вирусы гриппа А имеют особое клиническое значение, поскольку они были причиной ряда пандемий гриппа, когда многие страны пострадали от крупных вспышек. Вирусы гриппа А представляют собой одноцепочечные сегментированные РНК-вирусы с отрицательным смыслом, которые делятся на подтипы на основе двух белков на поверхности вируса: гемагглютинина (H) и нейраминидазы (N). Существует 18 различных подтипов гемагглютинина и 11 различных подтипов нейраминидазы (от H1 до H18 и от N1 до N11, соответственно), поэтому существует множество подтипов вируса гриппа, которые могут циркулировать в популяции в любой момент времени, вызывая заболевание, известное как грипп. Однако, в одном воплощении изобретение относится к вирусам гриппа человека и, в

частности, к подтипам H1N1, H1N2 и H3N2 гриппа А и линиям Victoria и Yamagata гриппа В.

Грипп характеризуется заболеванием от легкой до тяжелой степени, симптомы которого включают высокую температуру, насморк, боль в горле, боль в мышцах и суставах, головную боль, кашель и усталость, хотя у детей, инфицированных вирусом, также могут возникать рвота и диарея. Эти симптомы обычно появляются через один-четыре суток после заражения и, как правило, проходят сами по себе, однако в некоторых случаях, особенно у людей с более слабой иммунной системой, могут возникать такие осложнения, как пневмония и сепсис.

Тяжелая инфекция гриппа связана со значительными патологическими изменениями в легочных тканях, связанными с повышенными уровнями воспалительных цитокинов и хемокинов. Этот чрезмерный иммунный ответ, известный как цитокиновый шторм, связан с высокими уровнями провоспалительных цитокинов и обширным повреждением тканей. Фактически, термин «цитокиновый шторм» впервые был использован при описании иммунного ответа на ассоциированную с гриппом энцефалопатию. Считается, что инфицирование гриппом эпителиальных клеток в дыхательных путях приводит к волне выработки воспалительных цитокинов из этих клеток, приводя в действие различные гены, регулируемые интерфероном, которые затем вызывают дальнейшую выработку цитокинов за счет активации клеток врожденной иммунной системы, таких как макрофаги, нейтрофилы и дендритные клетки, которые в тяжелых случаях могут вызывать повреждение тканей и хроническое воспаление. Именно эта положительная обратная связь воспаления может привести к осложнениям, связанным с гриппозной инфекцией, и в конечном итоге может привести к смерти наиболее тяжело пораженных пациентов.

В соединениях по настоящему изобретению 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 фенантрил и замещенный или незамещенный антрил.

Подходящие гетероциклические группы включают гетероароматические и гетероалициклические группы, содержащие от 1 до 3 отдельных или конденсированных колец и от 5 до приблизительно 18 атомов в кольце. Предпочтительно гетероароматические и гетероалициклические группы содержат от 5 до приблизительно 10 атомов в кольце, наиболее предпочтительно 5, 6 или 7 атомов в кольце. Подходящие гетероароматические группы в соединениях по настоящему изобретению содержат один, два или три гетероатома, выбранные из атомов N, O или S, и включают, например, кумаринил, включая 8-кумаринил, хинолил, включая 8-хинолил, изохинолил, пиридил, пиразинил, пиразолил, включая пиразол-3-ил, пиразол-4-ил и пиразол-5-ил, пиримидинил, фуранил, включая фуран-2-ил, фуран-3-ил, фуран-4-ил и фуран-5-ил, пирролил, тиенил, тиазолил, включая тиазол-2-ил, тиазол-4-ил и тиазол-5-ил,

изотиазолил, тиadiaзолил, включая тиadiaзол-4-ил и тиadiaзол-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, тиadiaзолил, 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-а]пиридинил, включая имидазо[1,2-а]пиридин-2-ил, и имидазо[1,2-а]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, diaзепинил, тиазепинил, 1,2,3,6-тетрагидропиридил, 2-пирролинил, 3-пирролинил, дигидропирролил, индолинил, 2H-пиранил, 4H-пиранил, диоксанил, 1,3-диоксоланил, пиразолинил, дитианил, дитиоланил, дигидропиранил, дигидротиенил, дигидрофуранил, пиразолидинил, имидазолинил, имидазолидинил, 3-азабицикло[3.1.0]гексил, 3-азабицикло[4.1.0]гептил, 3H-индолил и хинолизинил.

В вышеупомянутых группах один или более чем один атом водорода может быть замещен одной или более чем одной подходящей группой, такой как OR', =O, SR', SOR', 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 C₁-C₁₂алкенил, замещенный или незамещенный C₁-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 C₁-C₁₂алкенила, замещенного или незамещенного C₁-C₁₂алкинила, замещенного или незамещенного арила и замещенной или незамещенной гетероциклической группы. Когда такие группы сами замещены, заместители могут быть выбраны из приведенного выше перечня. Когда замещающая

группа заканчивается двойной связью (например $=O$ и $=NR'$), она заменяет 2 атома водорода по одному и тому же атому углерода.

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

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

Подразумевается, 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, подразумевается, 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 R₁, R₅, R₉, R₁₁ и R₁₅ независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C₁-C₆алкила. Более предпочтительные R₁, R₅, R₉, R₁₁ и R₁₅ 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', 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 перечня. Наиболее предпочтительными группами R₁, R₅, R₉, R₁₁ и R₁₅ являются водород, метил, *n*-пропил, изопропил, изобутил, *втор*-бутил, 4-аминобутил, 3-амино-3-оксопропил, бензил, *пара*-метоксибензил, *пара*-гидроксибензил и циклогексилметил. В частности, особенно предпочтительный R₁ выбран из *втор*-бутила и изопропила, причем наиболее предпочтительным является *втор*-бутил. Особенно предпочтительный R₅ выбран из изобутила и 4-аминобутила, причем наиболее предпочтительным является изобутил. Особенно предпочтительным R₁₁ является метил и изобутил. Особенно предпочтительный R₉ выбран из *пара*-метоксибензила, *пара*-гидроксибензила и циклогексилметила, причем наиболее предпочтительным является *пара*-метоксибензил. Особенно предпочтительный R₁₅ выбран из метила, *n*-пропила и бензила, причем наиболее предпочтительными являются метил и бензил.

В соединениях общей формулы III особенно предпочтительные R₁, R₅, R₉ и R₁₅ независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C₁-C₆алкила. Более предпочтительные R₁, R₅, R₉ и R₁₅ 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', 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 перечня. Наиболее предпочтительными группами R₁, R₅, R₉ и R₁₅ являются водород, метил, *n*-пропил, изопропил, изобутил, *втор*-бутил, 4-аминобутил, 3-амино-3-оксопропил, бензил, *пара*-метоксибензил, *пара*-гидроксибензил и циклогексилметил. В частности, особенно предпочтительный R₁ выбран из *втор*-бутила и изопропила, причем наиболее предпочтительным является *втор*-бутил. Особенно предпочтительный R₅ выбран из изобутила и 4-аминобутила, причем наиболее предпочтительным является изобутил. Особенно предпочтительный R₉ выбран из *пара*-метоксибензила, *пара*-гидроксибензила и циклогексилметила, причем наиболее предпочтительным является *пара*-метоксибензил. Особенно предпочтительный R₁₅ выбран из метила, *n*-пропила и бензила, причем наиболее предпочтительными являются метил и бензил.

В соединениях общей формулы I, II и III особенно предпочтительные R₈, R₁₀, R₁₂ и R₁₆ независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C₁-C₆алкила. Более предпочтительные R₈, R₁₀, R₁₂ и R₁₆ независимо выбраны из водорода, метила, этила, *n*-пропила, изопропила и бутила, включая *n*-бутил, *трет*-бутил, изобутил и *втор*-бутил, и еще более предпочтительно они независимо выбраны из водорода и метила. В частности, особенно предпочтительными R₈, R₁₀ и R₁₂ является метил, а особенно предпочтительным R₁₆ является водород.

В соединениях общей формулы I и III особенно предпочтительные R₃ и R₄ независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C₁-C₆алкила. Более предпочтительные R₃ и R₄ 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', 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

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 перечня. Наиболее предпочтительными группами R_3 и R_4 являются водород, метил, изопропил и *втор*-бутил. В частности, особенно предпочтительным R_3 является метил и изопропил, а особенно предпочтительным R_4 является метил или водород.

В одном воплощении соединений общей формулы **I**, **II** и **III** особенно предпочтительные R_6 и R_7 независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1 - C_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, когда 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 R₁₃ и R₁₄ независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C₁-C₆алкила. Более предпочтительный R₁₃ 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 перечня. 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-оксопропила, а наиболее предпочтительным R₁₄ является водород.

В другом воплощении соединений общей формулы I, II и III особенно предпочтительно, когда 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 R_2 выбран из водорода, замещенного или незамещенного C_1 - C_6 алкила и COR_a , где R_a представляет собой замещенный или незамещенный C_1 - C_6 алкил, и еще более предпочтительным R_a является метил, этил, *n*-пропил, изопропил и бутил, включая *n*-бутил, *трет*-бутил, *втор*-бутил и изобутил. Более предпочтительно R_2 представляет собой водород.

В соединениях общей формулы **I**, **II** и **III** особенно предпочтительный R_{17} выбран из водорода, COR_a , $COOR_a$, $CONHR_b$, $(C=S)NHR_b$ и SO_2R_c , где каждый R_a , R_b и R_c предпочтительно и независимо выбран из замещенного или незамещенного C_1 - C_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' , $COOR'$, $OCOR'$, $OCONHR'$, $OCONR'R'$, $CONHR'$, $CONR'R'$, замещенный или незамещенный C_1 - C_{12} алкил, замещенный или незамещенный C_2 - C_{12} алкенил, замещенный или незамещенный C_2 - C_{12} алкинил, замещенный или незамещенный арил и замещенная или незамещенная гетероциклическая группа, где каждая из групп R' независимо выбрана из группы, состоящей из водорода, OH , NO_2 , NH_2 , SH , CN , галогена, COH , 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 перечня. 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 (*пара*-метилфенил), $COCOCH_3$ и $COOC(CH_3)_3$ являются даже более предпочтительными.

В другом воплощении соединений общей формулы **I**, **II** и **III** особенно предпочтительно, когда Y представляет собой CO. В другом воплощении особенно предпочтительно, когда Y представляет собой -COCH(CH₃)CO-.

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

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

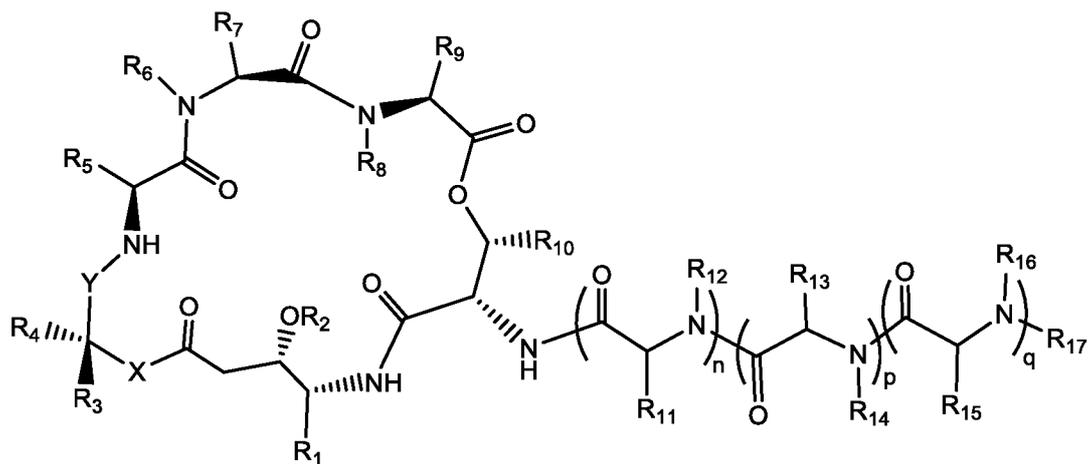
В другом воплощении соединений общей формулы **III** особенно предпочтительно, когда p и q равны 0. В другом воплощении особенно предпочтительно, когда p равен 1, а q равен 0. В другом воплощении особенно предпочтительно, когда p и q равны 1. В другом воплощении особенно предпочтительно, когда p равен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

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

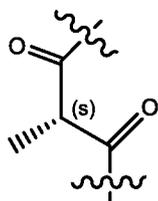
В настоящем описании и определениях, когда в соединениях по изобретению присутствует несколько групп R_a, R_b и R_c, и если это прямо не указано, следует понимать, что каждая из них может независимо отличаться в рамках данного определения, то есть R_a необязательно одновременно представляет одну и ту 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 R₁₅ и две группы R₁₆. Таким образом, разъясняется, что каждая группа R₁₅ и каждая группа R₁₆ в данном соединении могут быть независимо выбраны из различных вариантов, описанных выше для таких групп.

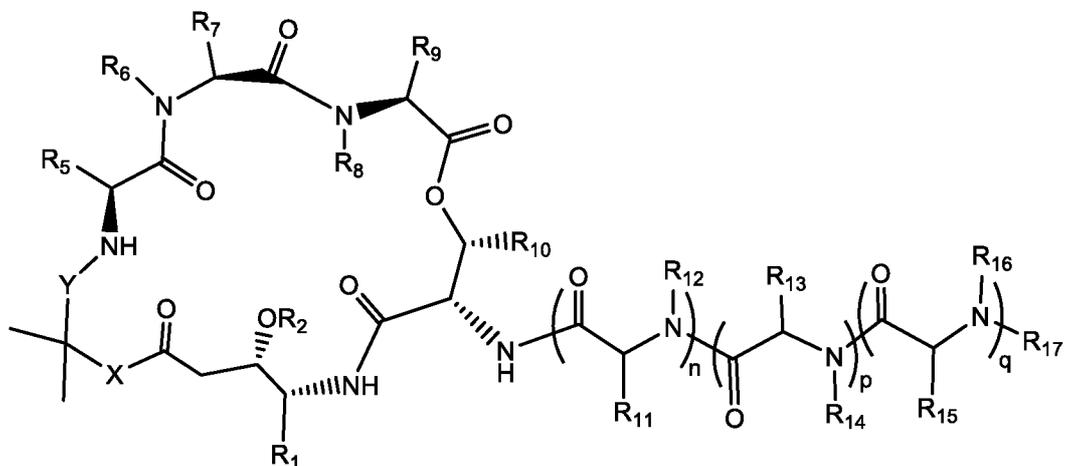
Особенно предпочтительная стереохимическая формула для соединений общей формулы **I** представляет собой



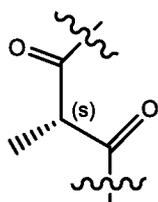
где X, Y, n, p, q и R₁-R₁₇ являются такими, как определено выше, и когда Y представляет собой -COCH(CH₃)CO-, он имеет следующую стереохимическую формулу:



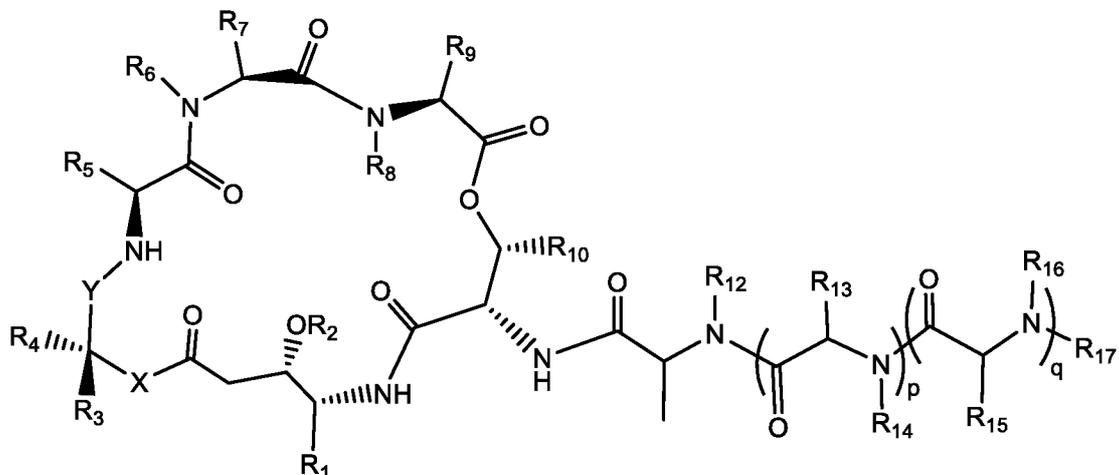
Особенно предпочтительная стереохимическая формула для соединений общей формулы II представляет собой



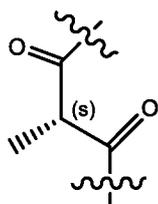
где X, Y, n, p, q, R₁, R₂ и R₅-R₁₇ являются такими, как определено выше, и когда Y представляет собой -COCH(CH₃)CO-, он имеет следующую стереохимическую формулу:



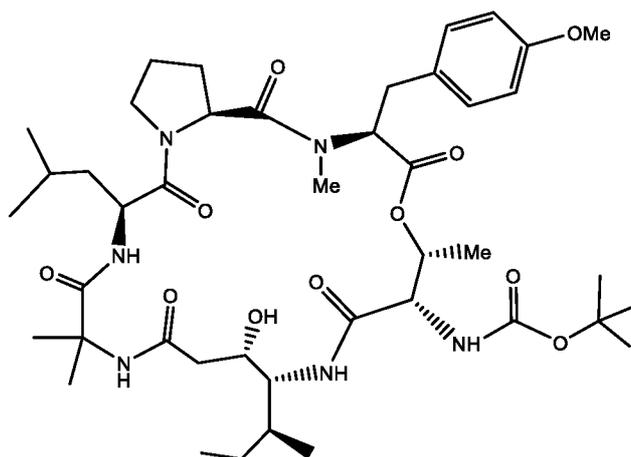
Особенно предпочтительная стереохимическая формула для соединений общей формулы **III** представляет собой

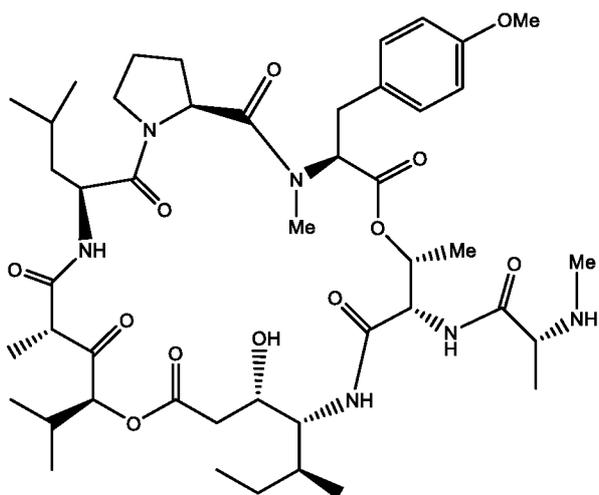
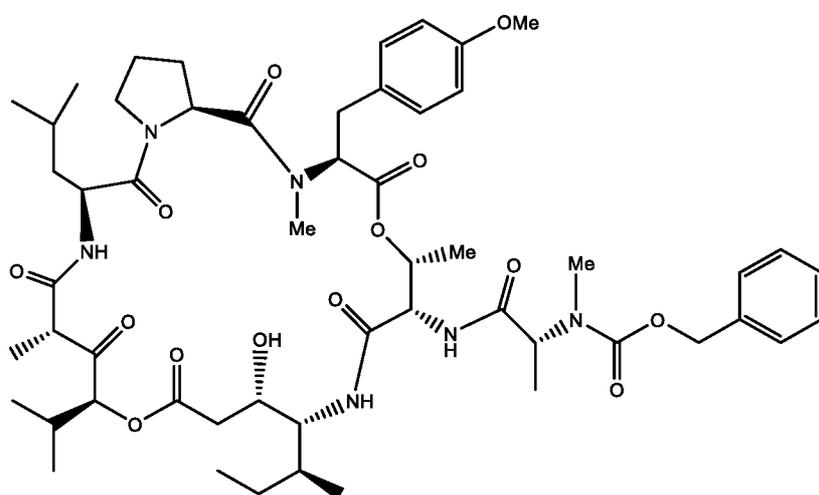
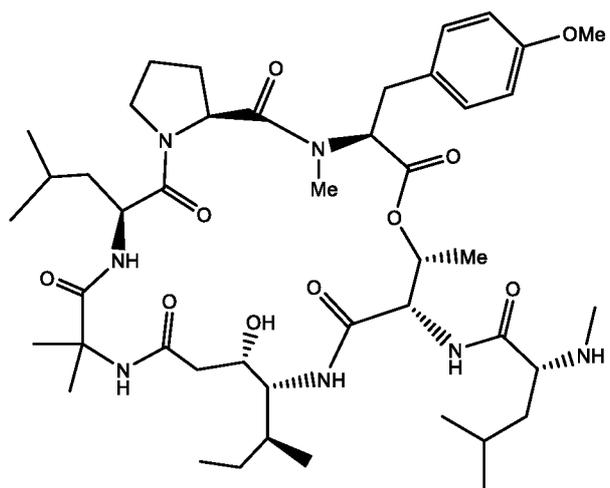


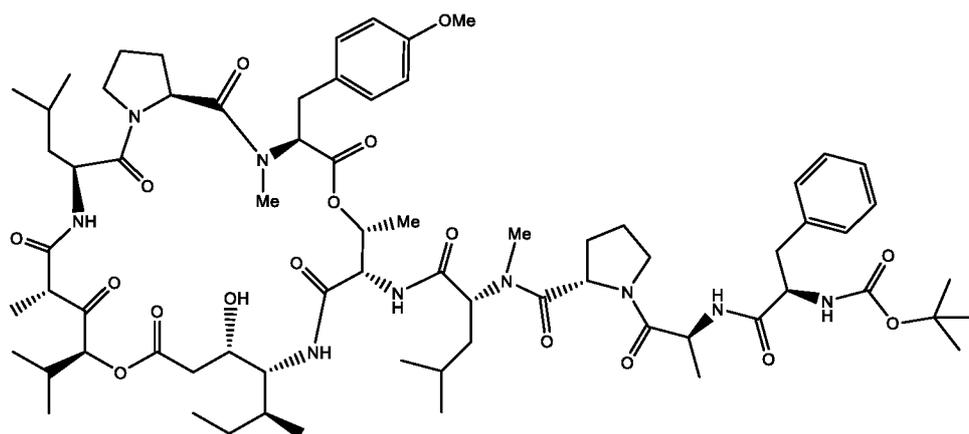
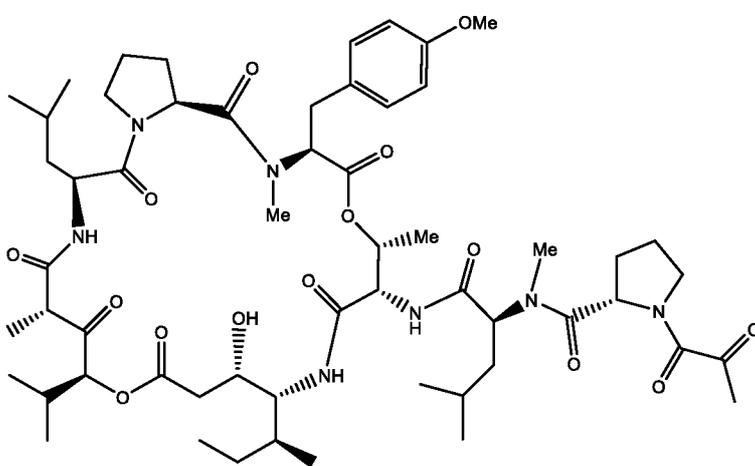
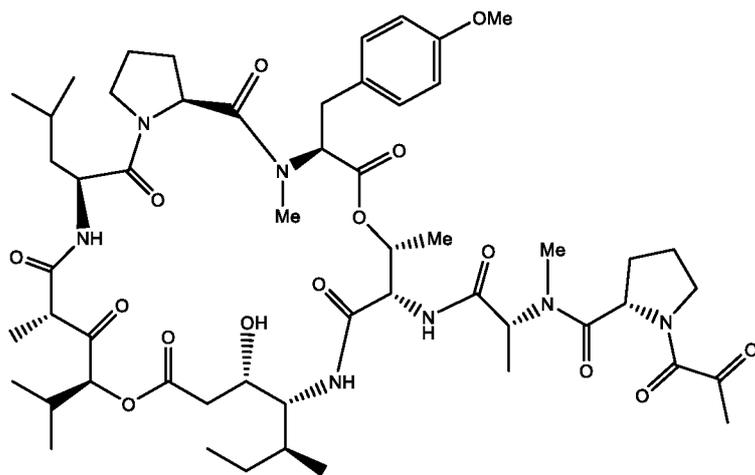
где X, Y, p, q, R₁-R₁₀ и R₁₂-R₁₇ являются такими, как определено выше, и когда Y представляет собой -COCH(CH₃)CO-, он имеет следующую стереохимическую формулу:

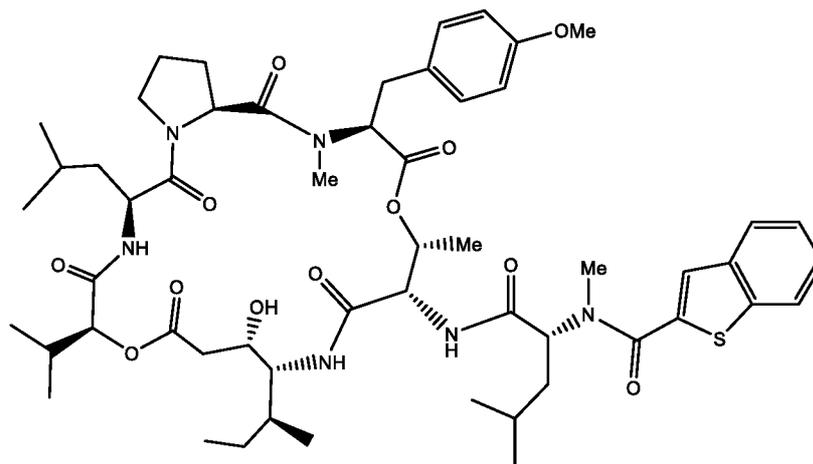


Особенно предпочтительными соединениями по изобретению являются следующие:

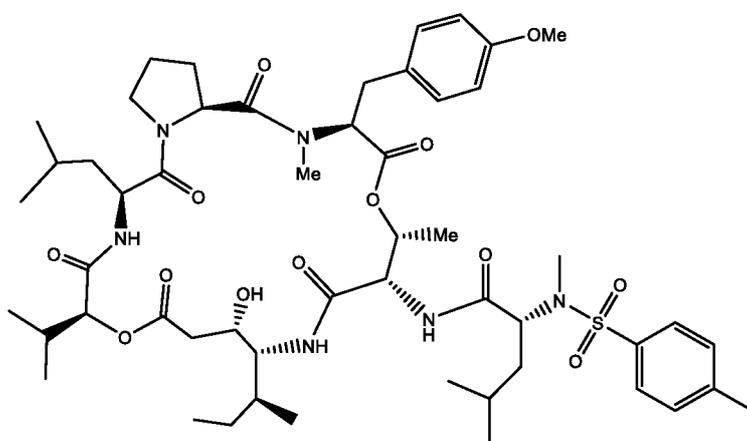








И

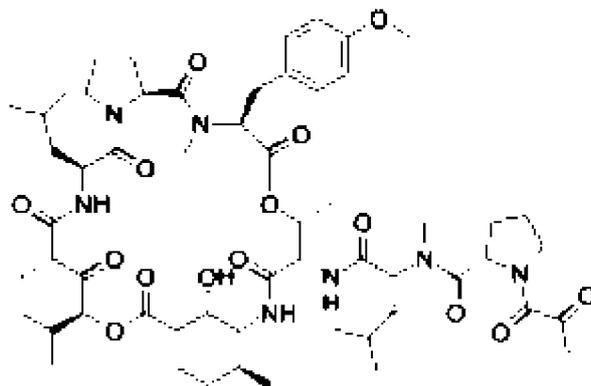


или их фармацевтически приемлемые соли или стереоизомеры.

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

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

Химическим названием плитидепсина является (-)-(3S,6R,7S,10R,11S,15S,17S,20S,25aS)-11-гидрокси-3-(4-метоксибензил)-2,6,17-триметил-15-(1-метилэтил)-7-[[[(2R)-4-метил-2-[метил[[[(2S)-1-(2-оксопропаноил)-пирролидин-2-ил]карбонил]амино]пентаноил]амино]-10-[(1S)-1-метилпропил]-20-(2-метилпропил)-тетрадекагидро-15H-пирроло[2,1-f]-[1,15,4,7,10,20]диоксатетразациклотрикозин-1,4,8,13,16,18,21(17H)-гептон, соответствующий молекулярной формуле C₅₇H₈₇N₇O₁₅. Он имеет относительную молекулярную массу 1110,34 г/моль и следующую структуру:



Плителидепсин представляет собой циклический депсипептид, первоначально выделенный из средиземноморского морского оболочника (*Aplidium albicans*), и в настоящее время его производят полностью посредством химического синтеза. Он лицензирован и продается в Австралии под торговым наименованием плителидепсин для лечения множественной миеломы.

Согласно настоящему изобретению предложено применение соединения по настоящему изобретению в лечении вирусной инфекции, где вирус выбран из семейства *Orthomyxoviridae* или где вирус представляет собой вирус Западного Нила.

В одном аспекте изобретения предложено соединение по настоящему изобретению для применения в лечении вирусной инфекции, где вирус выбран из семейства *Orthomyxoviridae* или где вирус представляет собой вирус Западного Нила.

В другом аспекте изобретения предложено применение соединения по настоящему изобретению в изготовлении лекарственного средства для лечения вирусной инфекции, где вирус выбран из семейства *Orthomyxoviridae* или где вирус представляет собой вирус Западного Нила.

В другом аспекте изобретения предложен способ лечения вирусной инфекции, где вирус выбран из семейства *Orthomyxoviridae* или где вирус представляет собой вирус Западного Нила, включающий введение нуждающемуся в этом индивидууму терапевтически эффективного количества соединения по настоящему изобретению.

Инфекция может также характеризоваться избыточной или повышенной продукцией или секрецией одного или более провоспалительных цитокинов, и предпочтительно по меньшей мере одного из IL-12, IL-10, IL-1, IL-6, IL-8, CCL-2 и TNF- α , и более предпочтительно по меньшей мере одного из IL-1, IL-6, IL-8 и TNF- α .

В другом воплощении соединение по изобретению может быть дополнительно введено в комбинации с (другим) противовирусным средством. Противовирусное

средство может быть введено одновременно, последовательно или отдельно с введением соединения по изобретению. В этом примере соединение по изобретению может быть использовано в качестве противовоспалительного средства для лечения воспаления или гипервоспаления, связанных с вирусной инфекцией или являющихся ее следствием.

В другом аспекте изобретения предложено соединение, как определено здесь, для применения в лечении расстройства, вызванного вирусом, выбранным из семейства *Orthomyxoviridae* или где вирус представляет собой вирус Западного Нила, где расстройство выбрано из пневмонии и иммунопатологии, в частности гиперцитокинемии (синдром цитокинового шторма) и сепсиса. В другом аспекте изобретения предложено применение соединения, как определено здесь, в изготовлении лекарственного средства для лечения расстройства, вызванного вирусом, выбранным из семейства *Orthomyxoviridae* или где вирус представляет собой вирус Западного Нила, где расстройство выбрано из пневмонии и иммунопатологии, в частности гиперцитокинемии (синдром цитокинового шторма) и сепсиса. В другом аспекте изобретения предложен способ лечения расстройства, вызванного вирусом, выбранным из семейства *Orthomyxoviridae* или где вирус представляет собой вирус Западного Нила, где расстройство выбрано из пневмонии и иммунопатологии, в частности гиперцитокинемии (синдром цитокинового шторма) и сепсиса, включающий введение нуждающемуся в этом индивидууму терапевтически эффективного количества соединения, как определено здесь. В особенно предпочтительном воплощении расстройство представляет собой иммунопатологию и, в частности, гиперцитокинемию.

В другом аспекте изобретения предложено соединение, как определено здесь, для применения в лечении пневмонии и иммунопатологии, вызванной гриппом, в частности гиперцитокинемии (синдром цитокинового шторма) и сепсиса. В другом аспекте изобретения предложено применение соединения, как определено здесь, в изготовлении лекарственного средства для лечения пневмонии и иммунопатологии, вызванных гриппом, в частности гиперцитокинемии (синдром цитокинового шторма) и сепсиса. В другом аспекте изобретения предложен способ лечения пневмонии и иммунопатологии, вызванных гриппом, в частности гиперцитокинемии (синдром цитокинового шторма) и сепсиса, включающий введение нуждающемуся в этом индивидууму терапевтически эффективного количества соединения, как определено здесь. В особенно

предпочтительном воплощении расстройство представляет собой иммунопатологию и, в частности, гиперцитокинемию.

В другом аспекте изобретения предложено соединение, как определено здесь, для применения в лечении нейровоспаления и иммунопатологии, вызванных вирусом Западного Нила, в частности гиперцитокинемии (синдром цитокинового шторма) и сепсиса. В другом аспекте изобретения предложено применение соединения, как определено здесь, в изготовлении лекарственного средства для лечения нейровоспаления и иммунопатологии, вызванных вирусом Западного Нила, в частности гиперцитокинемии (синдром цитокинового шторма) и сепсиса. В другом аспекте изобретения предложен способ лечения нейровоспаления и иммунопатологии, вызванных вирусом Западного Нила, в частности гиперцитокинемии (синдром цитокинового шторма) и сепсиса, включающий введение нуждающемуся в этом индивидууму терапевтически эффективного количества соединения, как определено здесь. В особенно предпочтительном воплощении расстройство представляет собой иммунопатологию и, в частности, гиперцитокинемию.

В одном воплощении вирус семейства *Orthomyxoviridae* выбран из вируса гриппа А, вируса гриппа В, вируса гриппа С, тогатовируса, кваранджавируса и изавируса. В другом воплощении вирус семейства *Orthomyxoviridae* представляет собой вирус гриппа А, предпочтительно выбранный из подтипов H1N1, H1N2 и H3N2. В другом воплощении вирус семейства *Orthomyxoviridae* представляет собой вирус гриппа В, предпочтительно выбранный из линий Yamagata или Victoria.

В одном воплощении вирус Западного Нила выбран из линии 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8. Предпочтительно вирус представляет собой линию 1 или 2 (WNV-1 или WNV-2).

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 наполнителю, с которым вводят активный ингредиент. Подходящие фармацевтические носители описаны в «Remington's Pharmaceutical Sciences» E.W. Martin, 1995. Примеры фармацевтических композиций включают любые твердые (таблетки, пилюли, капсулы, гранулы и так далее) или жидкие (растворы, суспензии, эмульсии и так далее) композиции для перорального, местного или парентерального введения.

Фармацевтические композиции, содержащие соединения по изобретению, могут быть доставлены посредством инкапсуляции в липосомы или наносферы, в препаратах с продолжительным высвобождением или с помощью других стандартных средств доставки.

Типичная композиция находится в форме порошка для приготовления раствора для инфузий. Например, композиции, как описано в WO 9942125. Например, лиофилизированный препарат соединения по изобретению, включающий 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 варьировать и будут зависеть от множества факторов, включая активность конкретного используемого соединения, конкретный используемый препарат, способ применения, возраст, массу тела, общее состояние здоровья, пол, режим питания, время введения, скорость выведения, комбинацию лекарственных средств, аллергические реакции и тяжесть конкретного заболевания или состояния, подвергаемого лечению.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Альтернативный режим представляет собой разовую дозу в 1-е сутки. Разовая доза может составлять 1-10 мг, 4-10 мг, 4,5-10 мг; 4 мг, 4,5 мг, 5 мг, 5,5 мг, 6 мг, 6,5 мг, 7 мг, 7,5 мг, 8 мг, 8,5 мг, 9 мг, 9,5 мг или 10 мг; предпочтительно 4,5 мг, 5 мг, 6 мг, 7,5 мг, 8 мг, 9 мг или 10 мг; более предпочтительно 5-9 мг, 6,5-8,5 мг, 7-8 мг или 7,5 мг.

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

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

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

Конкретные схемы дозирования включают:

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

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

- Плитидепсин в дозе 2,5 мг/сутки внутривенно (в/в) в комбинации с 6,6 мг/сутки дексаметазона в/в на 1-3 сутки с последующим введением 6 мг/сутки

дексаметазона перорально (п/о)/в/в с 4-х по 10-е сутки (согласно заключению врача в соответствии с клиническим состоянием пациента и дальнейшим развитием клинической картины).

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

- ондансетрон 8 мг в/в (или эквивалент);
- дифенгидрамина гидрохлорид 25 мг в/в (или эквивалент);
- ранитидин 50 мг в/в (или эквивалент);
- дексаметазон 6,6 мг внутривенно (включен в приведенную выше схему);

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Конкретные схемы дозирования включают:

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

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

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

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

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

Схема однократного дозирования включает:

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

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

- дифенгидрамина гидрохлорид 25 мг в/в.

- ранитидин 50 мг в/в.

- дексаметазон 6,6 мг внутривенно.

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

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

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

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

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

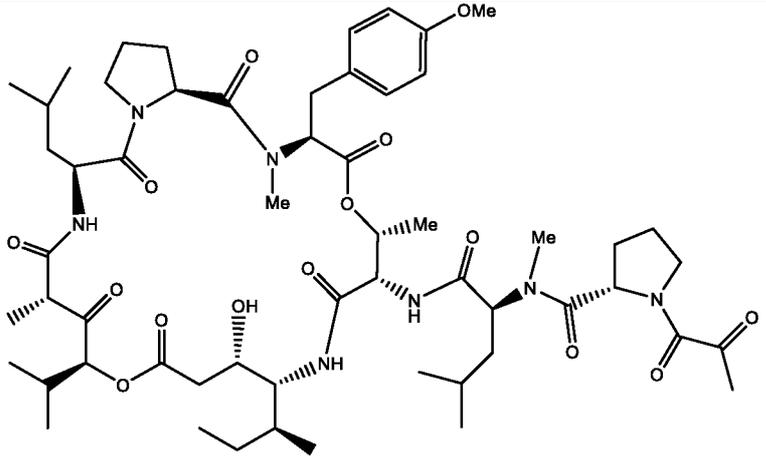
Чтобы обеспечить более краткое описание, некоторые из количественных выражений, приведенных здесь, не снабжены термином «приблизительно». Понятно, что независимо от того, используется ли термин «приблизительно» непосредственно или нет, каждая величина, приведенная здесь, подразумевается как относящаяся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

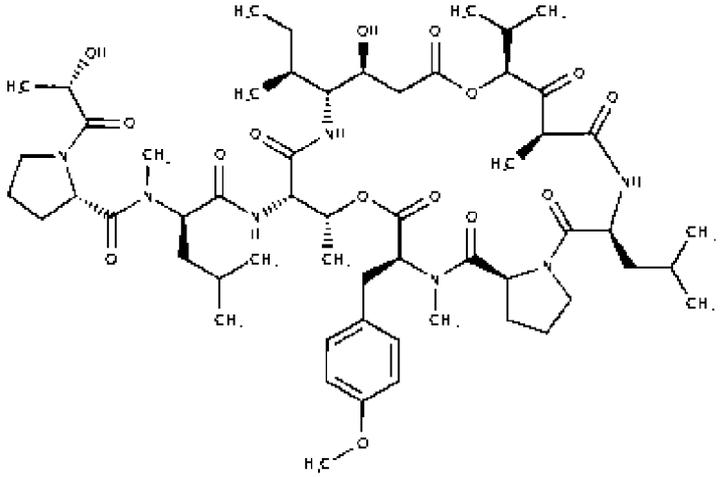
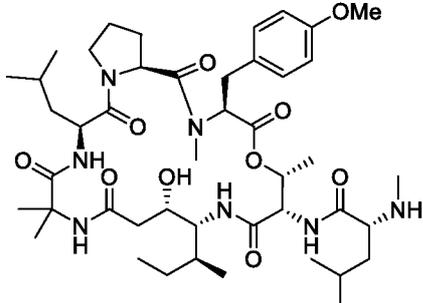
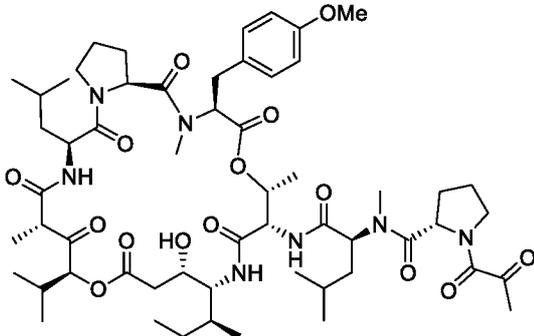
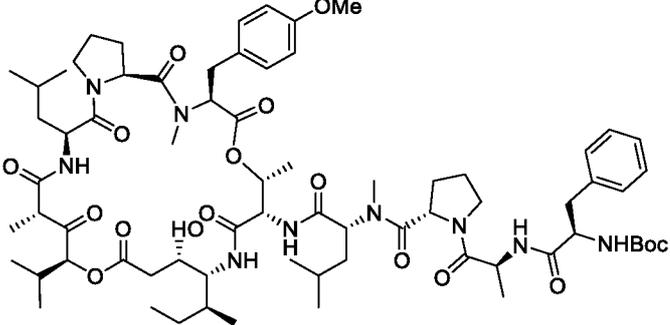
В то время как вышеприведенное раскрытие обеспечивает общее описание предмета, который охватывается объемом настоящего изобретения, включая способы, а также наилучший принцип его осуществления и применения этого изобретения, следующие примеры приведены для того, чтобы дополнительно обеспечить возможность специалистам в данной области техники применять это изобретение на практике и предоставить его полное письменное описание. Однако специалистам в данной области техники будет понятно, что конкретные особенности этих примеров не следует рассматривать как ограничивающие изобретение, объем которого следует понимать из формулы изобретения и ее эквивалентов, прилагаемой к настоящему описанию. Различные дополнительные аспекты и воплощения настоящего изобретения будут очевидны специалистам в данной области техники в свете настоящего раскрытия.

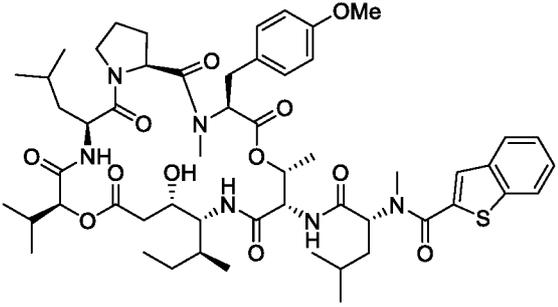
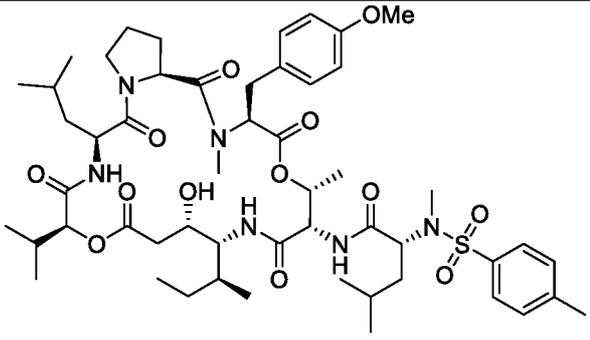
ПРИМЕРЫ

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

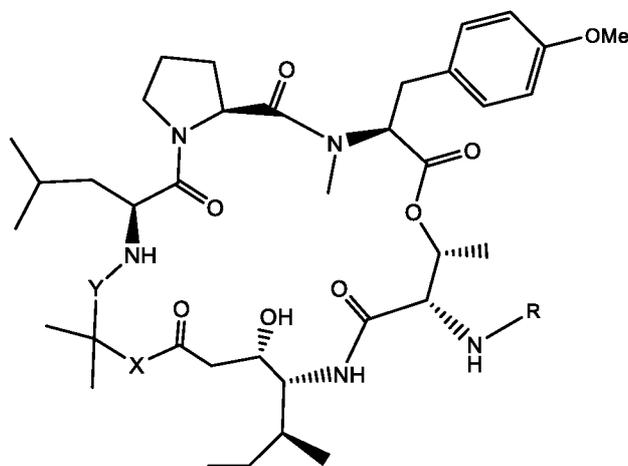
Конкретные соединения, используемые в экспериментах по настоящему изобретению, представляют собой:

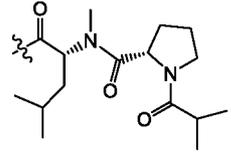
Соединение	Структура
PLD	

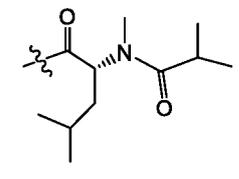
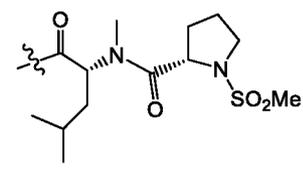
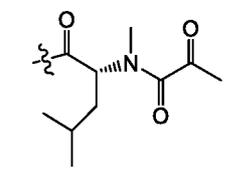
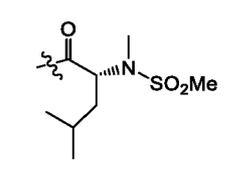
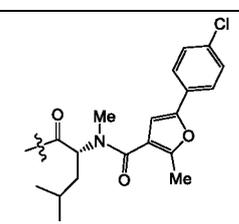
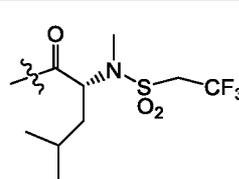
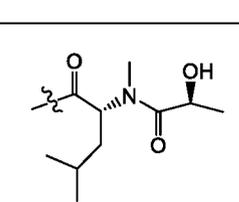
<p>Дидемнин В (соединение 240)</p>	
<p>Соединение 3</p>	
<p>Соединение 8</p>	
<p>Соединение 9</p>	

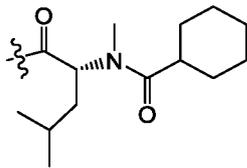
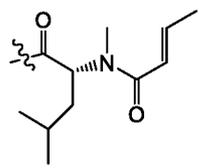
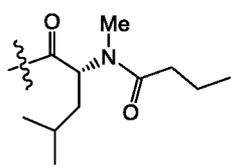
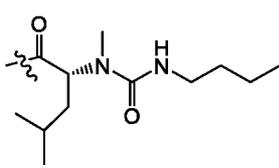
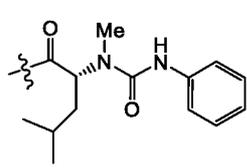
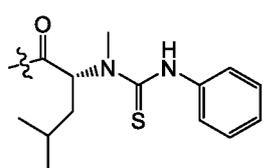
Соединение 10	
Соединение 11	

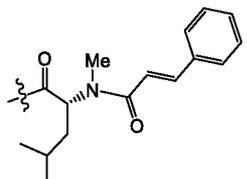
Следуя способам, описанным в WO 02/02596 и в данном описании, и дополнительно раскрытым в предыдущих примерах, можно получить следующие соединения:

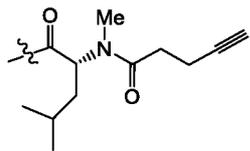
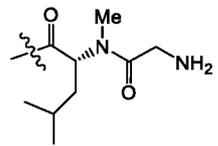
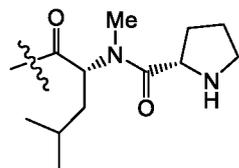
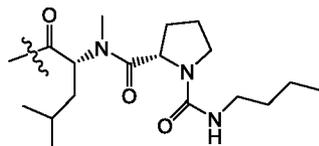
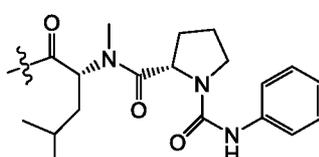
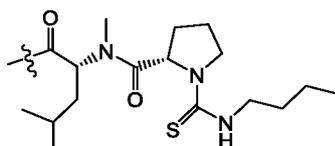
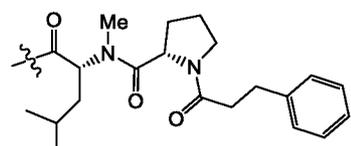
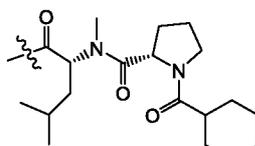


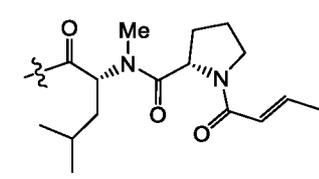
Соединение	X	Y	R
12	O	CO	
13	NH	CO	
14	O	-COCH(CH ₃)CO-	
15	NH	-COCH(CH ₃)CO-	

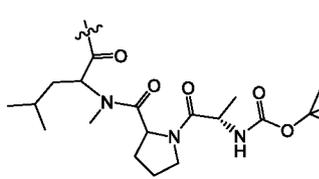
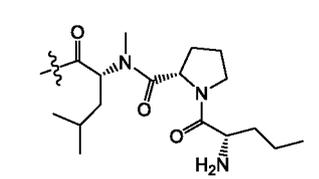
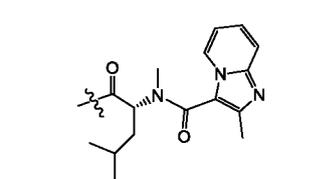
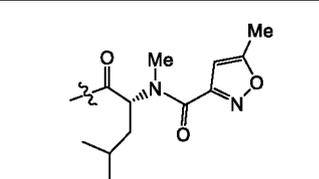
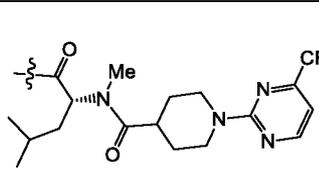
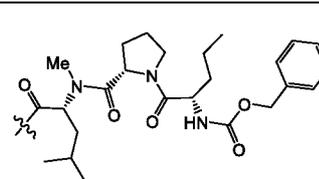
Соединение	X	Y	R
16	O	CO	
17	NH	CO	
18	O	-COCH(CH ₃)CO-	
19	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
20	O	CO	
21	NH	CO	
22	O	-COCH(CH ₃)CO-	
23	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
24	O	CO	
25	NH	CO	
26	O	-COCH(CH ₃)CO-	
27	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
28	O	CO	
29	NH	CO	
30	O	-COCH(CH ₃)CO-	
31	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
32	O	CO	
33	NH	CO	
34	O	-COCH(CH ₃)CO-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

Соединение	X	Y	R
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-	

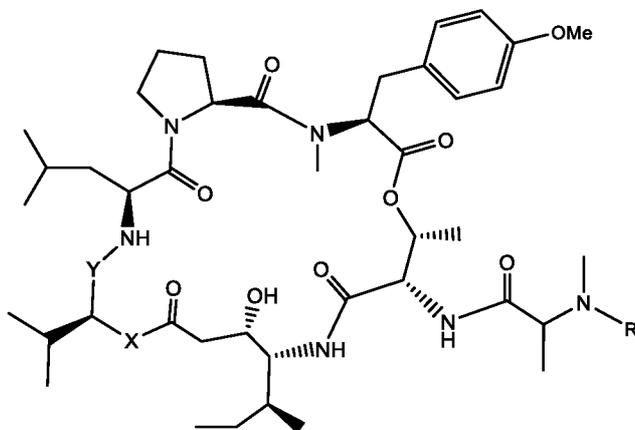
Соединение	X	Y	R
68	O	CO	
69	NH	CO	
70	O	-COCH(CH ₃)CO-	
71	NH	-COCH(CH ₃)CO-	

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-	

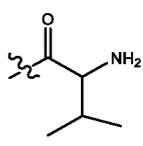
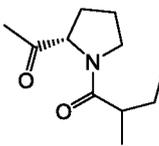
104	O	CO	
105	NH	CO	
106	O	-COCH(CH ₃)CO-	
107	NH	-COCH(CH ₃)CO-	

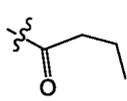
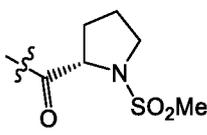
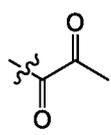
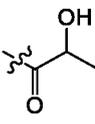
Соединение	X	Y	R
108	O	CO	
109	NH	CO	
110	O	-COCH(CH ₃)CO-	
111	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
112	O	CO	
113	NH	CO	
114	O	-COCH(CH ₃)CO-	
115	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
116	O	CO	
117	NH	CO	
118	O	-COCH(CH ₃)CO-	
119	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
120	O	CO	
121	NH	CO	
122	O	-COCH(CH ₃)CO-	
123	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
124	O	CO	
125	NH	CO	
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 данном описании, и дополнительно раскрытым в предыдущих примерах, можно получить следующие соединения:



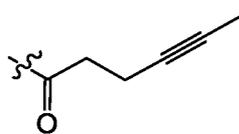
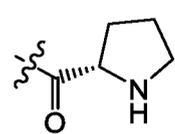
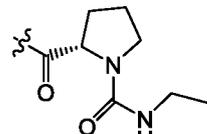
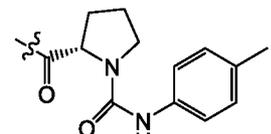
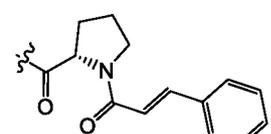
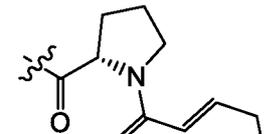
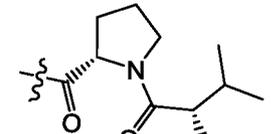
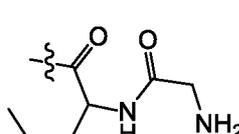
Соединение	X	Y	R
132	O	CO	
133	NH	CO	
134	O	-COCH(CH ₃)CO-	
135	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
136	O	CO	
137	NH	CO	
138	O	-COCH(CH ₃)CO-	
139	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
140	O	CO	
141	NH	CO	
142	O	-COCH(CH ₃)CO-	
143	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
144	O	CO	
145	NH	CO	
146	O	-COCH(CH ₃)CO-	
147	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
148	O	CO	
149	NH	CO	
150	O	-COCH(CH ₃)CO-	
151	NH	-COCH(CH ₃)CO-	

Соединение	X	Y	R
152	O	CO	
153	NH	CO	
154	O	-COCH(CH ₃)CO-	
155	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
156	O	CO	
157	NH	CO	
158	O	-COCH(CH ₃)CO-	
159	NH	-COCH(CH ₃)CO-	

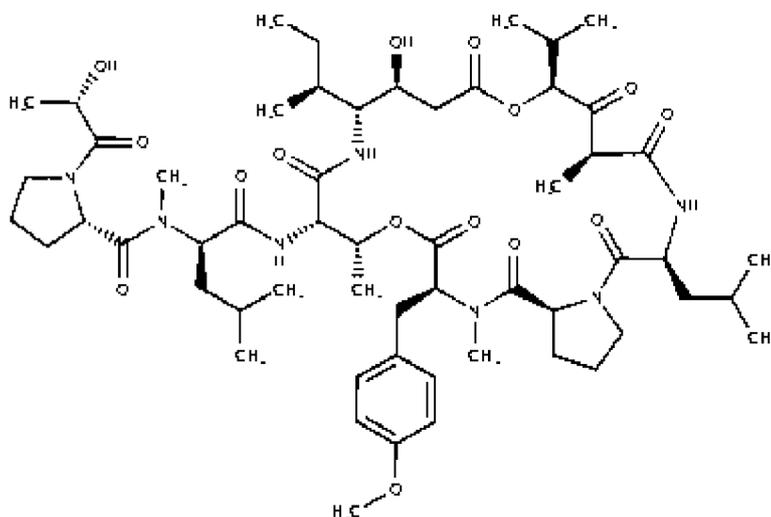
Соединение	X	Y	R
160	O	CO	
161	NH	CO	
162	O	-COCH(CH ₃)CO-	
163	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
164	O	CO	
165	NH	CO	
166	O	-COCH(CH ₃)CO-	
167	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
168	O	CO	
169	NH	CO	
170	O	-COCH(CH ₃)CO-	
171	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
172	O	CO	
173	NH	CO	
174	O	-COCH(CH ₃)CO-	
175	NH	-COCH(CH ₃)CO-	
176	O	CO	-SO ₂ Me
177	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-	
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-альфа 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 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. Также, плитидепсин не мог снизить уровень IL-8 и TNF- α в клетках, стимулированных TNF- α . Это связано с тем, что авторы измеряли секретируемый TNF- α и TNF α , добавленный в среду для культивирования клеток. Таким образом, обработка TNF- α маскировала уровни секретируемого TNF- α .

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- κ B 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. 13, предварительная обработка PLD ингибировала секрецию провоспалительных цитокинов: IL6, IL8, IL1 β и TNF- α , индуцированную RQ. Следует отметить, что добавление PLD не снижает жизнеспособность по сравнению с необработанным контролем ни при одной из 2 протестированных концентраций RQ (Фиг. 13е). Хотя RQ сам по себе проявляет некоторую дозозависимую токсичность, этот эффект не усиливается присутствием PLD в культуре, и, следовательно, изменения в продукции цитокинов не связаны с этой небольшой цитотоксичностью, индуцированной 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 провоспалительных цитокинов IL-6 и TNF- α , индуцированную LPS (красные столбцы), и приводил к общему противовоспалительному эффекту.

Далее это снова показано на Фиг. 14. У животных, получавших плитидепсин, плитидепсин был способен значительно снижать секрецию IL-6, IL-10 и TNF- α , индуцированную 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. 14(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, RQ индуцирует секрецию TNF- α как через 1, так и через 3 часа после введения. *In vivo* введение PLD предотвращало повышенную продукцию TNF- α . Как можно видеть на Фиг. 15, 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. Вирусная инфекция также приводит к активации макрофагов. Активированные макрофаги в два раза больше покоящихся макрофагов и более «агрессивны», имеют повышенный уровень лизосомальных белков и более высокую способность к фагоцитозу. Классически активированные макрофаги также выделяют протеазы, факторы хемотаксиса нейтрофилов, активные формы кислорода и провоспалительные цитокины (такие как IL-1 бета/IL-1F2, IL-6 и TNF-альфа/TNFSF1A), что приводит к воспалению и разрушению тканей. Клетки бронхоальвеолярного лаважа окрашивали и анализировали с помощью проточной цитометрии. Плитидепсин снижал 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. 5, PLD распределяется в легких в неклинических моделях. Кроме того, аналогичное содержание в плазме достигается у неклинических видов мышей (которые представляют собой неклинические виды, используемые 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 $\frac{\text{легочная AUC}_{0-\infty}}{\text{плазменная AUC}_{0-\infty}}$) 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)	C57BL6/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.

Введение “*in vivo*” и обработка “*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 мышинный IL-6, мышинный IL-10 и мышинный 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

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), а также на уровне титра вируса.

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. 6 показан воспалительный профиль в ЖБАЛ инфицированных мышей при лечении плитидепсином или без него. Среди основных провоспалительных цитокинов плитидепсин сильно снижал уровни IL-6, CCL2, IL-1 α , IFN- γ и TNF- α . Мыши, получавшие только половину дозы лекарственного препарата, были менее защищены и демонстрировали промежуточный фенотип.

Также оценивали титр вируса в легких. Как показано на Фиг. 7, плитидепсин снижал титр вируса в легких как при 0,3 мг/кг, так и при 0,15 мг/кг.

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 ($CD45+\times 10^6$). Как показано на Фиг. 8, авторы также обнаружили увеличение инфильтрации альвеолярными макрофагами (AM), что свидетельствует о том, что AM способствуют элиминации вируса.

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. Кроме того, авторы обнаружили увеличение абсолютного числа альвеолярных макрофагов, что может свидетельствовать о том, что AM играют критическую роль в распространении вируса и защите. Авторы также наблюдали пониженный титр вируса в легких мышей, получавших высокую дозу плитидепсина.

ПРИМЕР 6

В данном примере изучали противовирусную активность плитидепсина в отношении распространения вируса Западного Нила в культуре клеток.

а) Рекомбинантный вирус WNV-GFP (линия 2; молекулярный клон WN956) в клетках гепатомы человека (Huh7) и клетках почек африканской зеленой мартышки (Vero-E6).

Для определения противовирусного потенциала плитидепсина в отношении WNV-GFP клеточные линии-мишени Vero-E6 и Huh7 инокулировали разведением исходного патогенного вируса в присутствии возрастающих концентраций плитидепсина, начиная с 2,3 пМ или 2,5 пг/мл и используя 4,5 мкМ или 5 мкг/мл как самую высокую концентрацию. Эффективность инфицирования оценивали через 48 часов после того как вирус распространился на значительную часть клеток-мишеней в культурах, обработанных носителем.

Относительную эффективность инфицирования оценивали с помощью автоматизированной флуоресцентной микроскопии в зеленом канале, а общую биомассу клеток на лунку оценивали посредством окрашивания ядер с помощью DAPI в синем канале в качестве предварительной оценки эффективных доз соединения, а также общей цитотоксичности соединения.

Как показано на Фиг. 9, эффективность инфицирования WNV-GFP быстро снижалась при дозах около 5 нМ в клетках VeroE6, достигая фоновых уровней флуоресценции при 36 нМ и выше. Количество клеток оставалось неизменным до 36 нМ, но значительно уменьшалось при более высоких концентрациях (180 нМ; p менее 0,05), что свидетельствует о том, что плитидепсин влияет на способность клеток к размножению при концентрациях выше 36 нМ. Расчетное значение EC_{50} для плитидепсина в клетках VeroE6 составляет 4,9 нМ, а EC_{90} составляет 9,5 нМ. Исходя из клеточной биомассы, значение CC_{50} составляет 2330 нМ. Таким образом, терапевтический индекс, выраженный как отношение CC_{50}/EC_{50} в клетках VeroE6, составляет 475.

В клетках Huh7, как показано на Фиг. 10, наблюдается дозозависимое снижение эффективности инфицирования со значениями EC_{50} и EC_{90} , равными 0,665 и 3,86 нМ, соответственно. Это снижение связано с параллельной потерей клеточной биомассы в лунке, что является статистически значимым при 7,2 нМ (p менее 0,05) со значением CC_{50} , равным 14,7 и терапевтическим индексом 22.

Приведенные выше данные показывают, что плитидепсин препятствует размножению WNV-GFP в моделях инфицирования клеточных культур как в клетках Vero-E6, так и в клетках Huh-7. В одном примере противовирусную активность при отсутствии измеримого вмешательства в жизнеспособность клеток можно наблюдать при 1,5 нМ (p менее 0,05) в клетках Huh-7 и 7,2 нМ (p менее 0,05) в клетках Vero-E6.

б) Рекомбинантный вирус с геномом дикого типа WNV-NY99 (линия 1; молекулярный клон NY99) в клетках гепатомы человека Huh7 и клетках почки африканской зеленой мартышки (Vero-E6).

В этом примере оценивали влияние плитидепсина на размножение WNV-NY99 с использованием вирусной нагрузки РНК в качестве показателя эффективности инфекции. Клетки Vero-E6 или Huh-7 инокулировали (MOI 0,01) рекомбинантным вирусом на основе штамма NY99 WNV. Инфицирование проводили в присутствии носителя или плитидепсина в диапазоне доз, проявляющих биологическую активность в модели WNV-GFP (45, 15, 5, 1,5 нМ; см. выше). Инокулированные клетки инкубировали в течение 48 часов, время, за которое образцы супернатантов обрабатывали для определения эффективности инфицирования посредством титрования внеклеточной инфекционности. Кроме того, из контрольных клеток и клеток, обработанных плитидепсином, экстрагировали суммарную РНК для определения вирусной нагрузки РНК и независимой оценки общей эффективности инфицирования вирусом.

Титры внеклеточной инфекционности показывают, что присутствие плитидепсина сильно препятствует размножению WNV, как показано на Фиг. 11, со снижением более чем на 3 порядка при 45 нМ в клетках VeroE6 и Huh-7. Это явление является дозозависимым в обеих клеточных линиях.

Внутриклеточную нагрузку РНК WNV определяли с помощью ОТ-кПЦР в контрольных и обработанных плитидепсином клетках. Следует отметить, что, как показано на Фиг. 12, из клеток Huh-7, обработанных 45 нМ плитидепсина, не удалось выделить РНК. Тем не менее, вирусная нагрузка РНК была определена в остальных группах образцов в обеих клеточных линиях. В соответствии с тенденцией, проявляемой титрами внеклеточной инфекционности, вирусная нагрузка РНК значительно снижалась дозозависимым образом при 15 и 45 нМ в клетках Vero-E6, в то время как вирусная нагрузка при 5 и 1,5 нМ не отличалась от таковой в контроле (Фиг. 12). Точно так же в клетках Huh-7 показано заметное снижение вирусной нагрузки при 15 нМ, величина которой снижалась дозозависимым образом.

Данные об эффективности распространения инфекции WNV подтверждают, что плитидепсин препятствует репликации вируса в дозах выше 5 нМ как в клетках Vero-E6, так и в клетках Huh-7, хотя некоторое влияние может наблюдаться при более низких концентрациях в клетках Huh-7. Результаты измерения общей эффективности размножения с использованием функционального (инфекционность), а также

молекулярного (ОТ-кПЦР) подходов подтверждают, что плитидепсин снижает эффективность размножения вируса в ожидаемом диапазоне концентраций на основании данных, полученных с помощью WNV-GFP.

Таким образом, добавление в среду для культивирования клеток увеличивающихся доз плитидепсина приводило к сильному снижению эффективности размножения WNV в моделях с двойным инфицированием (WNV-GFP и WNV/NY99) и в клетках Vero-E6 и Huh-7.

в) Способы

Приготовление соединения: предварительно взвешенное твердое вещество разбавляли до конечного раствора 1 мг/мл в диметилсульфоксиде (DMSO) и разделяли на аликвоты при -20°C до дальнейшего использования. Культура клеток: субконфлюэнтные культуры клеток Vero-E6 и клеток Huh-7 поддерживали на полных средах [(DMEM с добавлением 10 mM HEPES (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновая кислота), 1× заменимых аминокислот (Gibco), 100 ед/мл пенициллина-стрептомицина (Gibco) и 10% фетальной бычьей сыворотки (инактивированной нагреванием при 56°C в течение 30 мин)].

Вирусы: рекомбинантные вирусы WNV (NY99) и WNV-GFP выделяли из клонированной кДНК, как описано ранее. Исходные инфекционные титры определяли методом бляшек на клетках Vero-E6, как описано ранее.

Часть 1: модель WNV-GFP

Эксперименты по инфицированию: клетки высевали на 96-луночные планшеты (2×10^4 клеток/луночка). На следующие сутки готовили серийные 5-кратные разведения плитидепсина в полных средах, содержащих 2% FCS, до достижения указанных конечных концентраций. Исходный материал WNV-GFP разводили в полной среде, содержащей 2% FCS, для достижения требуемой множественности заражения (MOI 0,01). Разведения соединения и вируса смешивали 1:1 и добавляли к клеткам-мишеням. Клетки инкубировали 48 часов при 37°C ; 5% CO_2 и 95% влажности.

Клетки фиксировали посредством добавления 5× раствора формальдегида до достижения конечной концентрации 4% в течение 30 минут при комнатной температуре. Клетки промывали PBS и окрашивали DAPI (4',6-диамидино-2-фенилиндо́л) в соответствии с рекомендациями производителя. Относительную эффективность инфицирования оценивали с помощью анализа изображений на автоматизированной

установке для микроскопии (Tecan Spark Cyto). Неинфицированные клетки и контроли, обработанные носителем, были включены в каждый планшет.

Часть 2: модель WNV (NY99)

Клетки высевали на 24-луночный планшет, используя $1,2 \times 10^5$ клеток/лунка. На следующий день клетки инокулировали исходным материалом WNV/NY99 для достижения множественности заражения 0,01 (MOI 0,01) и указанной концентрации плитидепсина в конечном объеме 1 мл. Культуры поддерживали при 37°C в течение 48 часов, время, за которое супернатанты собирали и хранили при -80°C. Общую РНК собирали из клеток, добавляя реагент Trizol™ непосредственно к клеткам и следуя инструкциям производителя.

Титрование инфекционности: титры инфекционности определяли с помощью конечного разведения и иммунофлуоресцентной микроскопии с использованием моноклонального антитела против белка Е флавивируса (4G2; ATCC® HB-112™). Вкратце, клетки Huh-7 инокулировали разведениями супернатанта в 96-луночном формате. Через 48 часов после инфицирования клетки фиксировали в течение 30 минут при комнатной температуре 4% раствором формальдегида в PBS, дважды промывали PBS и инкубировали со связывающим буфером (0,3% Triton X-100, 3% BSA (бычий сывороточный альбумин) в PBS) в течение 1 часа. Первичное антитело разводили в буфере для связывания и инкубировали с клетками в течение 1 часа, после чего клетки промывали PBS и затем инкубировали с разведением 1:500 козьего антимышиного конъюгированного с Alexa 488 антитела (ThermoFisher). DAPI (4',6-диамидино-2-фенилиндол; ThermoFisher) использовали в качестве реагента для окрашивания ядер для оценки числа клеток. Клетки промывали PBS и определяли количество очагов инфекции под флуоресцентным микроскопом.

Обратная транскрипция и количественная ПЦР: 60 нг общей клеточной РНК подвергали ОТ-кПЦР с использованием мастер-микса для зондов NZYSpeedy One-Step qPCR с использованием рекомендаций производителя и праймеров.

Статистический анализ: средние значения и SEM рассчитывали с использованием Excel. Средние значения сравнивали с использованием однофакторного дисперсионного анализа ANOVA и апостериорного критерия Даннета (2-сторонний; альфа равен 0,05) с использованием IBM-SPSS.

ПРИМЕР 7

На Фиг. 16 показано моделирование профилей общей концентрации плитидепсина в плазме в зависимости от времени после приема суточной дозы (D1-D5) 1,0 мг и 2,0 мг. Горизонтальные черные линии представляют общие концентрации в плазме, связанные с концентрациями в легких, эквивалентными иллюстративным значениям IC₅₀, IC₉₀ и 3×IC₉₀ *in vitro*. Дальнейший режим дозирования составляет 1,5 мг в сутки в течение 5 суток. Дополнительный режим проиллюстрирован на Фиг. 17, которая моделирует общие концентрации плитидепсина в плазме, связанные с начальной фиксированной дозой 1 мг (сутки 1), вводимой в виде 1-часового внутривенного введения инфузией с последующим введением суточной дозы 0,5 мг (D2-D5).

Фиг. 18 иллюстрирует моделирование профилей общей концентрации плитидепсина в плазме в зависимости от времени после приема суточной дозы (D1-D3) 1,5 мг, 2,0 мг и 2,5 мг. Горизонтальные черные линии представляют общие концентрации в плазме, связанные с концентрациями в легких, эквивалентными иллюстративным значениям IC₅₀, IC₉₀ и 3×IC₉₀ *in vitro*.

На Фиг. 19 показана утвержденная популяционная фармакокинетическая модель плитидепсина (Nalda-Molina R, et al. Population pharmacokinetics meta-analysis of plitidepsin (Aplidin) in cancer subjects. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2009 Jun;64(1):97-108. doi: 10.1007/s00280-008-0841-4) для подтверждения общей концентрации в плазме при однократном приеме.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

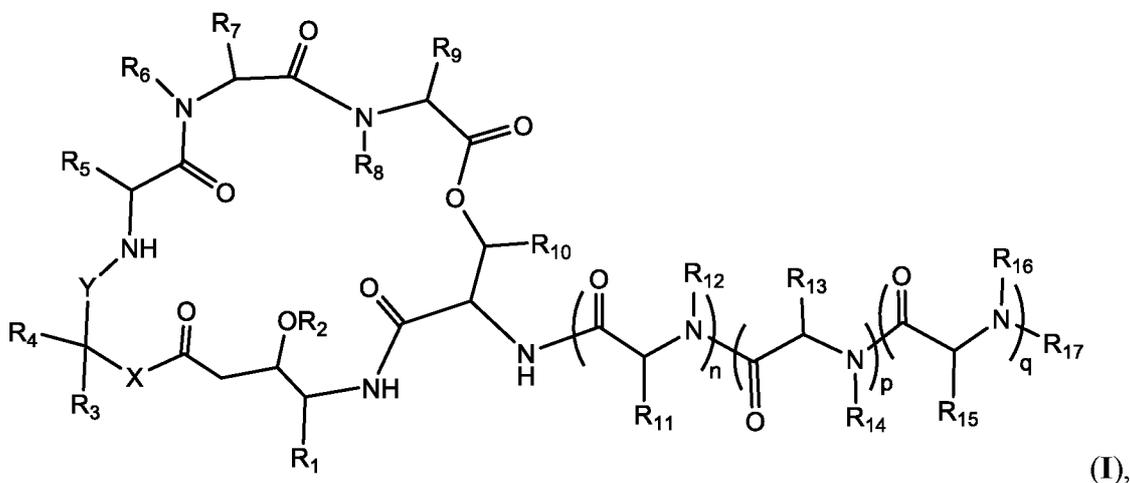
- Losada A, Berlanga JJ, Molina-Guijarro JM, Jiménez-Ruiz A, Gaggio F, Avilés P, de Haro C, Martínez-Leal JF., Generation of endoplasmic reticulum stress and inhibition of autophagy by plitidepsin induces proteotoxic apoptosis in cancer cells. *Biochem Pharmacol.* **2020** Feb; 172:113744.
- Losada A, Muñoz-Alonso MJ, García C, Sánchez-Murcia PA, Martínez-Leal JF, Domínguez JM, Lillo MP, Gago F, Galmarini CM., Translation Elongation Factor eEF1A2 is a Novel Anticancer Target for the Marine Natural Product Plitidepsin. *Sci Rep.* **2016** 7;6:35100.
- Losada A, Muñoz-Alonso MJ, Martínez-Díez M, Gago F, Domínguez JM, Martínez-Leal JF, Galmarini CM., Binding of eEF1A2 to the RNA-dependent protein kinase PKR modulates its activity and promotes tumour cell survival. *Br J Cancer.* **2018**;119(11):1410-1420.
- M. D. Vera and M. M. Joullié, Natural products as probes of cell biology: 20 years of didemnin research *Med. Res. Rev.*, **2002**, 22, 102.

- Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th Ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., **1995**.
- Stark G.R., Kerr, I.M., Williams, B.R., Silverman, R.H., and Schreiber, R.D., How cells respond to interferons. *Annu. Rev. Biochem.* **1998**, *67*: 227-264.
- Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, et al. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. *JAMA* 2012; *307*: 2526-2533.
- Losada, A., et al., Translation Elongation Factor eEF1A2 is a Novel Anticancer Target for the Marine Natural Product Plitidepsin. *Sci Rep*, 2016. *6*: p. 35100.
- Mateyak, M.K. and T.G. Kinzy, eEF1A: thinking outside the ribosome. *J Biol Chem*, 2010. *285* (28): p. 21209-13.
- PharmaMar, data on file; VPT1992 / 2014.
- PharmaMar, data on file; VPT2678 / 2014.
- Maroun, J.A., et al., Phase I study of Aplidine in a dailyx5 one-hour infusion every 3 weeks in patients with solid tumors refractory to standard therapy. A National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group study: NCIC CTG IND 115. *Ann Oncol*, 2006. *17* (9): p. 1371-8.
- Nalda-Molina R, et al. Population pharmacokinetics meta-analysis of plitidepsin (Aplidin) in cancer subjects. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2009 Jun; *64* (1): 97-108. doi: 10.1007 / s00280-008-0841-4.
- Kawai T & Akira S (2007); Signaling to NF- κ B by Toll-like receptors; *Trends in Molecular Medicine*; Volume 13, Issue 11, p.460-469.
- Davis WG, Blackwell JL, Shi PY, Brinton MA. Interaction between the cellular protein eEF1A and the 3'-terminal stem-loop of West Nile virus genomic RNA facilitates viral minus-strand RNA synthesis. *J Virol.* 2007;*81*(18):10172-87.
- Suthar MS, Diamond MS, Gale M, Jr. West Nile virus infection and immunity. *Nat Rev Microbiol.* 2013;*11*(2):115-28.
- Rossi SL, Ross TM, Evans JD. West Nile virus. *Clin Lab Med.* 2010;*30*(1):47-65.
- Rossini G, Landini MP, Gelsomino F, Sambri V, Varani S. Innate host responses to West Nile virus: Implications for central nervous system immunopathology. *World J Virol.* 2013;*2*(2):49-56.

- Getts DR, Terry RL, Getts MT, Muller M, Rana S, Shrestha B, et al. Ly6c+ "inflammatory monocytes" are microglial precursors recruited in a pathogenic manner in West Nile virus encephalitis. *J Exp Med*. 2008;205(10):2319-37.
- Wang T, Town T, Alexopoulou L, Anderson JF, Fikrig E, Flavell RA. Toll-like receptor 3 mediates West Nile virus entry into the brain causing lethal encephalitis. *Nat Med*. 2004;10(12):1366-73.
- Kumar M, Verma S, Nerurkar VR. Pro-inflammatory cytokines derived from West Nile virus (WNV)-infected SK-N-SH cells mediate neuroinflammatory markers and neuronal death. *J Neuroinflammation*. 2010;7:73.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение общей формулы I



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, COR_a , COOR_a , 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, COR_a , COOR_a , CONHR_b , COSR_c , $(\text{C}=\text{NR}_b)\text{OR}_a$, $(\text{C}=\text{NR}_b)\text{NHR}_b$, $(\text{C}=\text{NR}_b)\text{SR}_c$, $(\text{C}=\text{S})\text{OR}_a$, $(\text{C}=\text{S})\text{NHR}_b$, $(\text{C}=\text{S})\text{SR}_c$, SO_2R_c , SO_3R_c , замещенного или незамещенного C_1 - C_{12} алкила, замещенного или незамещенного C_2 - C_{12} алкенила, замещенного или незамещенного C_2 - C_{12} алкинила, замещенного или

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

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

или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер для применения в лечении вирусной инфекции, где вирус выбран из семейства *Orthomyxoviridae* или где вирус представляет собой вирус Западного Нила.

2. Соединение по п. 1, 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.

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

4. Соединение по любому из пп. 1-3, где R_{11} выбран из водорода и замещенного или незамещенного C_1 - C_6 алкила; предпочтительно, где R_{11} представляет собой метил или изобутил.

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

6. Соединение по любому из пп. 1-5, где R_1 , R_5 , R_9 и R_{15} независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1 - C_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.

7. Соединение по любому из пп. 1-6, где R_8 , R_{10} , R_{12} и R_{16} независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1 - C_6 алкила; предпочтительно, где R_8 , R_{10} и R_{12} представляют собой метил, и R_{16} представляет собой водород.

8. Соединение по любому из пп. 1-7, где R_6 и R_{14} независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1 - C_6 алкила; предпочтительно, где R_6 выбран из водорода и метила, и R_{14} представляет собой водород.

9. Соединение по любому из пп. 1-8, где R_7 и R_{13} независимо выбраны из водорода и замещенного или незамещенного C_1 - C_6 алкила; предпочтительно, где R_7 представляет собой метил, и R_{13} выбран из водорода, метила, изопропила, изобутила и 3-амино-3-оксопропила.

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

11. Соединение по любому из пп. 1-10, где R_2 выбран из водорода, замещенного или незамещенного C_1 - C_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.

12. Соединение по любому из пп. 1-11, где R_{17} выбран из водорода, COR_a , $COOR_a$, $CONHR_b$, $(C=S)NHR_b$ и SO_2R_c , и где каждый R_a , R_b и R_c независимо выбран из замещенного или незамещенного C_1 - C_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 (*para*-метилфенил), $COCOCH_3$ и $COOC(CH_3)_3$.

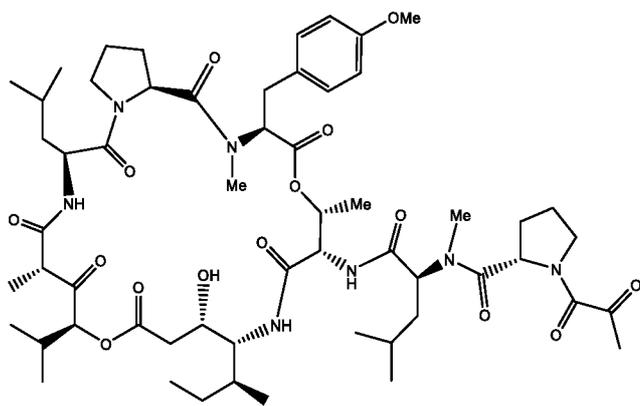
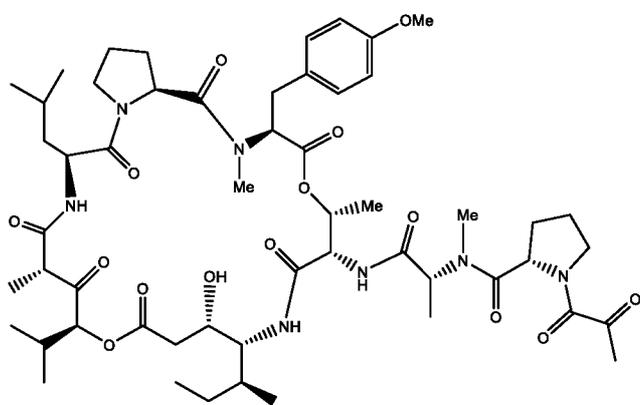
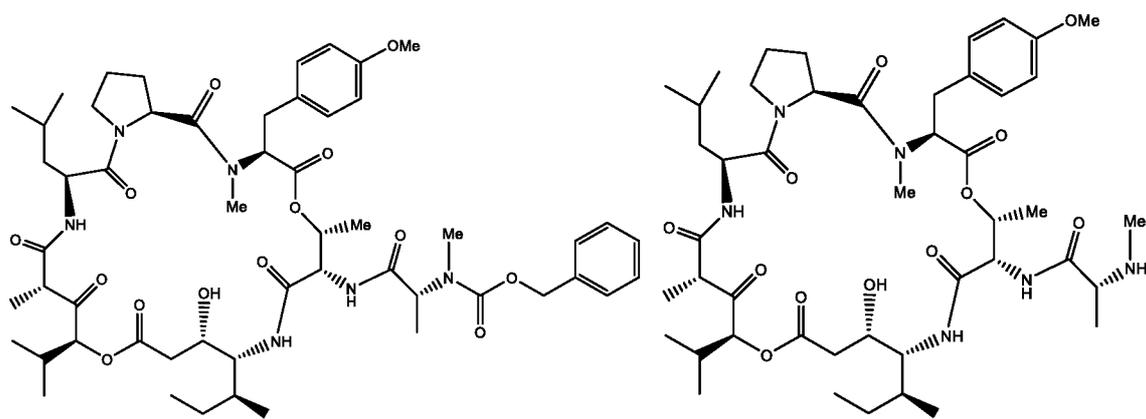
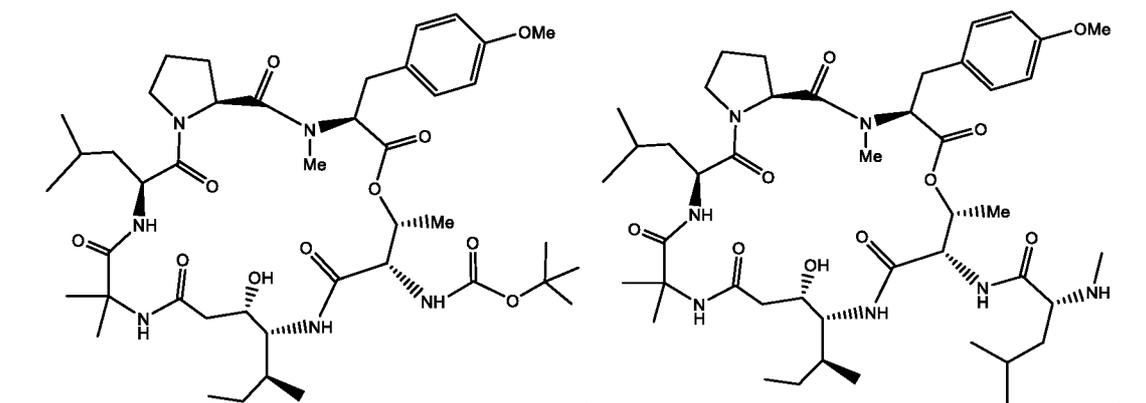
13. Соединение по любому из пп. 1-12, где X представляет собой NH.

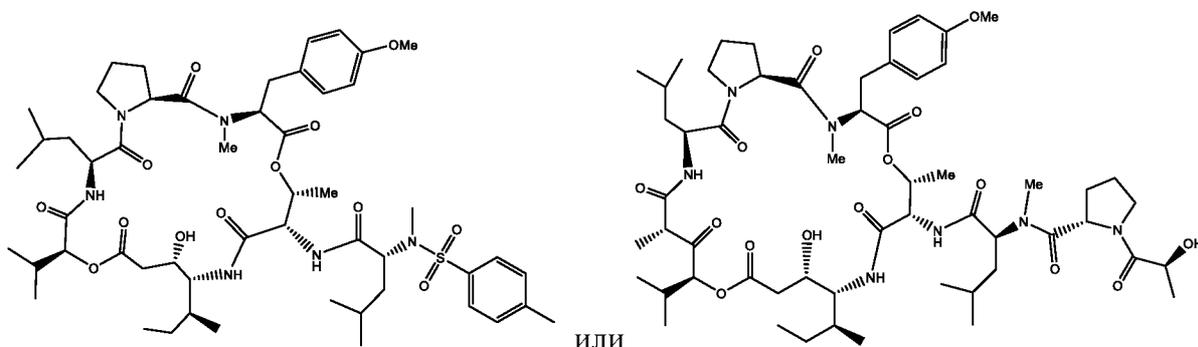
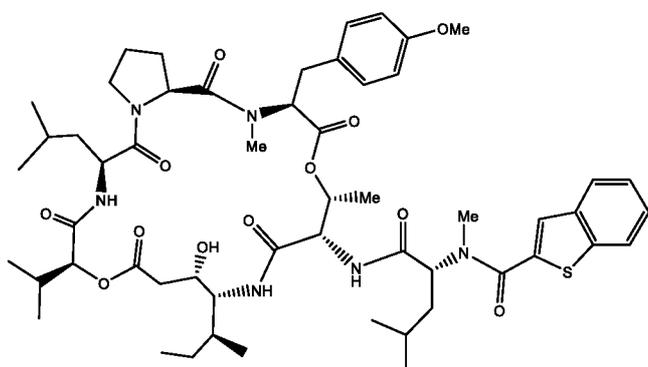
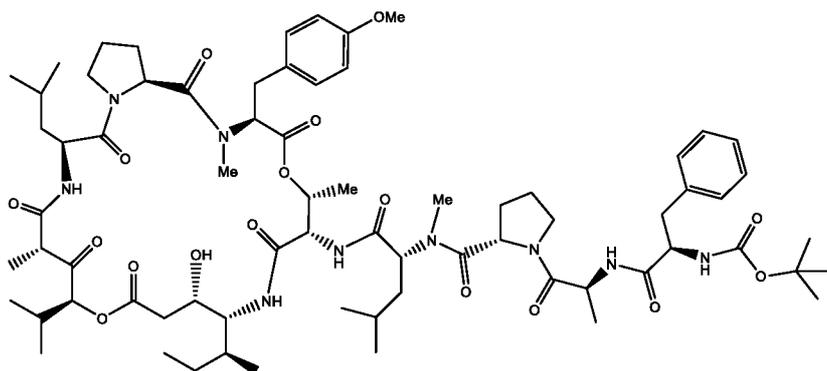
14. Соединение по любому из пп. 1-12, где X представляет собой O.

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

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

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





или его фармацевтически приемлемые соли или стереоизомеры.

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

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

20. Соединение по любому из пп. 1-19, где вирус представляет собой вирус *Orthomyxoviridae*.

21. Соединение по любому из пп. 1-20, где вирус *Orthomyxoviridae* выбран из вируса гриппа А, вируса гриппа В, вируса гриппа С, тогатовируса, кваранджавируса и изавируса.

22. Соединение по п. 21, где вирус *Orthomyxoviridae* представляет собой вирус гриппа А, предпочтительно выбранный из H1N1, H1N2 и H3N2; или вирус *Orthomyxoviridae* представляет собой вирус гриппа В, предпочтительно выбранный из линий Yamagata или Victoria.

23. Соединение по любому из пп. 1-19, где вирус представляет собой вирус Западного Нила.

24. Соединение для применения по любому из пп. 1-23, где соединение вводят в комбинации с кортикостероидом, предпочтительно дексаметазоном.

25. Соединение для применения по п. 24, где соединение и кортикостероид вводят одновременно, раздельно или последовательно.

26. Соединение для применения по любому из пп. 1-25, где соединение вводят согласно схеме одна доза в сутки в течение 10 суток, 9 суток, 8 суток, 7 суток, 6 суток, 5 суток, 4 суток, 3 суток, 2 суток или 1 суток; предпочтительно 2-5 суток, 3-5 суток или 3, 4 или 5 суток; наиболее предпочтительно 3 суток или 5 суток; наиболее предпочтительно 3 суток.

27. Соединение для применения по любому из пп. 1-26, где соединение вводят в дозе 5 мг в сутки или менее; 4,5 мг в сутки или менее; 4 мг в сутки или менее; 3,5 мг в сутки или менее; 3 мг в сутки или менее; 2,5 мг в сутки или менее или 2 мг в сутки или менее; 0,5 мг/сутки, 1 мг/сутки, 1,5 мг/сутки, 2 мг/сутки, 2,5 мг/сутки, 3 мг/сутки, 3,5 мг/сутки, 4 мг/сутки, 4,5 мг/сутки или 5 мг/сутки; предпочтительно 1 мг/сутки, 1,5 мг/сутки, 2 мг/сутки или 2,5 мг/сутки; более предпочтительно 1,5-2,5 мг/сутки; наиболее предпочтительно 1,5 мг/сутки, 2 мг/сутки или 2,5 мг/сутки.

28. Соединение для применения по любому из пп. 1-27, где соединение вводят в общей дозе 1-50 мг, 1-40 мг, 1-30 мг, 1-20 мг, 1-15 мг, 3-15 мг, 3-12 мг, 4-12 мг, 4-10 мг или 4,5-10 мг; 4 мг, 4,5 мг, 5 мг, 5,5 мг, 6 мг, 6,5 мг, 7 мг, 7,5 мг, 8 мг, 8,5 мг, 9 мг, 9,5 мг или 10 мг; предпочтительно 4,5 мг, 5 мг, 6 мг, 7,5 мг, 8 мг, 9 мг или 10 мг; более предпочтительно 4,5-7,5 мг/сутки.

29. Соединение для применения по любому из пп. 1-28, где соединение вводят посредством инфузии.

30. Соединение для применения по п. 29, где инфузия представляет собой 1-часовую инфузию, 1,5-часовую инфузию, 2-часовую инфузию или 3-часовую инфузию; предпочтительно 1,5-часовую инфузию.

31. Соединение для применения по любому из пп. 1-30, где 1,5 мг плитидепсина вводят в виде 1,5-часовой инфузии один раз в сутки в течение 3 суток подряд; или где 2 мг плитидепсина вводят в виде 1,5-часовой инфузии один раз в сутки в течение 3 суток подряд; или где 2,5 мг плитидепсина вводят в виде 1,5-часовой инфузии один раз в сутки в течение 3 суток подряд; или где 1 мг плитидепсина вводят в виде 1,5-часовой инфузии один раз в сутки в течение 5 суток подряд; или где 2 мг плитидепсина вводят в виде 1,5-часовой инфузии один раз в сутки в течение 5 суток подряд.

32. Соединение для применения по любому из пп. 1-31, где соединение вводят с использованием нагрузочной дозы и поддерживающей дозы.

33. Соединение для применения по п. 32, где схема приема представляет собой:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

34. Соединение для применения по любому из пп. 1-33, где соединение вводят в комбинации с кортикостероидом, и где кортикостероид вводят в те же сутки, что и введение соединения по любому из пп. 1-19.

35. Соединение для применения по п. 34, где кортикостероид также может быть введен в одни или более чем одни последующие сутки; предпочтительно, где кортикостероид вводят вместе с соединением на 1-3 сутки, и кортикостероид дополнительно вводят в одни или более чем одни сутки из 4-10.

36. Соединение для применения по п. 35, где кортикостероид вводят внутривенно в те сутки, когда вводят соединение, но в последующие сутки вводят перорально или внутривенно.

37. Соединение для применения по любому из пп. 34-36, где кортикостероид представляет собой дексаметазон; предпочтительно, где дексаметазон вводят в дозе 6,6 мг/сутки внутривенно в те сутки, когда вводят соединение по любому из пп. 1-19.

38. Соединение для применения по п. 37, где дексаметазон вводят в дозе 6 мг/сутки перорально или внутривенно в последующие сутки, предпочтительно в одни или более чем одни сутки из 4, 5, 6, 7, 8, 9 и 10 суток.

39. Соединение для применения по любому из пп. 1-38, где PLD вводят в дозе 1,5 мг/сутки внутривенно (в/в) в комбинации с 6,6 мг/сутки дексаметазона в/в на 1-3 сутки с последующим введением 6 мг/сутки дексаметазона перорально (п/о)/в/в с 4-х по 10-е сутки (согласно заключению врача в соответствии с клиническим состоянием пациента и дальнейшим развитием клинической картины); или

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

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

40. Соединение для применения по любому из пп. 34-39, где кортикостероид вводят за 20-30 минут до начала лечения соединением по любому из пп. 1-19.

41. Соединение для применения по любому из пп. 1-40, где пациент дополнительно получает следующие лекарственные препараты, предпочтительно за 20-30 минут до начала лечения соединением по любому из пп. 1-19:

ондансетрон 8 мг в/в (или эквивалент);

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

ранитидин 50 мг в/в (или эквивалент).

42. Соединение для применения по любому из пп. 1-41, где на 4 и 5 сутки пациенты получают ондансетрон (или эквивалент) по 4 мг дважды в сутки п/о.

43. Соединение для применения по любому из пп. 1-30, где соединение вводят в виде однократной дозы (в 1 сутки).

44. Соединение для применения по п. 43, где однократная доза представляет собой 1-10 мг, 4-10 мг, 4,5-10 мг, 4 мг, 4,5 мг, 5 мг, 5,5 мг, 6 мг, 6,5 мг, 7 мг, 7,5 мг, 8 мг, 8,5 мг, 9 мг, 9,5 мг или 10 мг, предпочтительно 4,5 мг, 5 мг, 6 мг, 7,5 мг, 8 мг, 9 мг или 10 мг, более предпочтительно 5-9 мг, 6,5-8,5 мг, 7-8 мг или наиболее предпочтительно 7,5 мг.

45. Соединение для применения по любому из пп. 43-44, где соединение вводят в виде 1,5-часовой инфузии.

46. Соединение для применения по любому из пп. 43-45, где кортикостероид вводят согласно схеме приема по любому из пп. 34-40.

47. Соединение для применения по любому из пп. 43-46, где за 20-30 минут до введения соединения по изобретению вводят следующие профилактические лекарственные препараты:

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

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

ранитидин 50 мг в/в (или эквивалент).

48. Соединение для применения по любому из пп. 43-47, где 4 мг ондансетрона перорально назначают каждые 12 часов в течение 3 суток после введения соединения по настоящему изобретению.

49. Соединение для применения по любому из пп. 1-48, где дексаметазон представляет собой дексаметазона фосфат, и его вводят в дозе 8 мг при введении в те же

сутки, когда вводят соединение по изобретению (что соответствует дозе 6,6 мг основания), и вводят в дозе 7,2 мг, если вводят позже (что соответствует дозе 6 мг основания).

50. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пп. 1-49 или его фармацевтически приемлемые соль или стереоизомер и фармацевтически приемлемый носитель, для применения в лечении вирусной инфекции, где вирус выбран из семейства *Orthomyxoviridae* или где вирус представляет собой вирус Западного Нила.

51. Применение соединения по любому из пп. 1-49 или его фармацевтически приемлемых соли или стереоизомера в изготовлении лекарственного средства для лечения вирусной инфекции, где вирус выбран из семейства *Orthomyxoviridae* или где вирус представляет собой вирус Западного Нила.

52. Способ лечения вирусной инфекции, где вирус выбран из семейства *Orthomyxoviridae* или где вирус представляет собой вирус Западного Нила, включающий введение нуждающемуся в этом индивидууму терапевтически эффективного количества соединения по любому из пп. 1-49 или его фармацевтически приемлемых соли или стереоизомера.

53. Набор, содержащий соединение по любому из пп. 1-49 вместе с инструкциями по лечению вирусной инфекции, где вирус выбран из семейства *Orthomyxoviridae* или где вирус представляет собой вирус Западного Нила.

54. Кортикостероид для применения в лечении вирусной инфекции, где вирус выбран из семейства *Orthomyxoviridae* или где вирус представляет собой вирус Западного Нила, где кортикостероид вводят в комбинации с соединением по любому из пп. 1-49.

55. Соединение по любому из пп. 1-19 и кортикостероид для применения в лечении вирусной инфекции, где вирус выбран из семейства *Orthomyxoviridae* или где вирус представляет собой вирус Западного Нила; где применение соответствует любому из пп. 1-49.

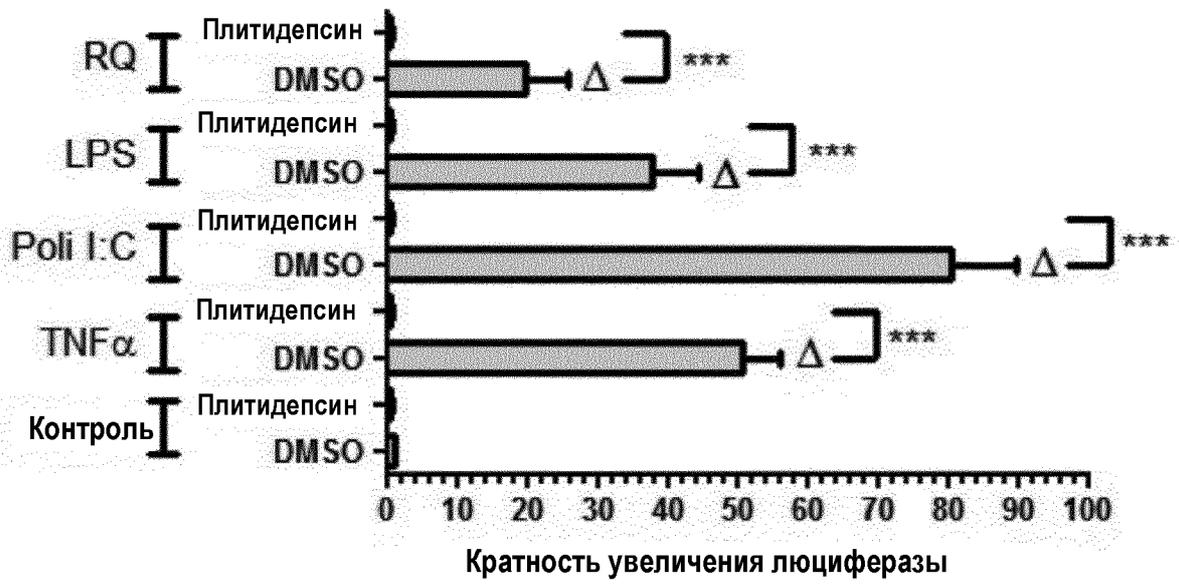
56. Способ лечения вирусной инфекции, где вирус выбран из семейства *Orthomyxoviridae* или где вирус представляет собой вирус Западного Нила, включающий проведение комбинированной терапии соединением по любому из пп. 1-19 или его фармацевтически приемлемыми солью и кортикостероидом у нуждающегося в этом пациента, вследствие чего происходит лечение инфекции; где указанный способ является таким, как определено в любом из пп. 1-49.

57. Применение соединения по любому из пп. 1-49 или его фармацевтически приемлемых соли или стереоизомера в изготовлении лекарственного средства для лечения вирусной инфекции, где вирус выбран из семейства *Orthomyxoviridae* или где вирус представляет собой вирус Западного Нила; где указанное лечение включает введение кортикостероида.

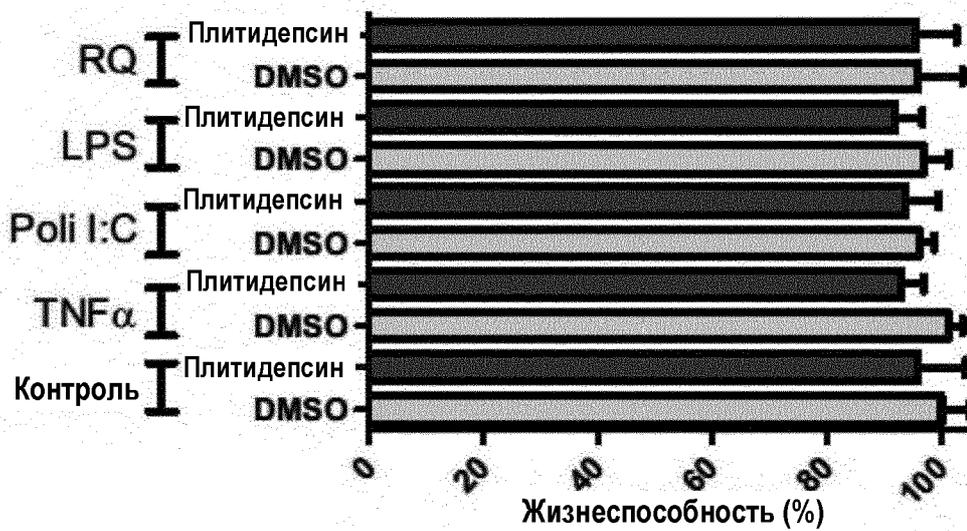
58. Применение кортикостероида в изготовлении лекарственного средства для лечения вирусной инфекции, где вирус выбран из семейства *Orthomyxoviridae* или где вирус представляет собой вирус Западного Нила; где указанное лечение включает введение соединения по любому из пп. 1-49 или его фармацевтически приемлемых соли или стереоизомера.

59. Применение соединения по любому из пп. 1-49 или его фармацевтически приемлемых соли или стереоизомера и кортикостероида в изготовлении лекарственного средства для лечения вирусной инфекции, где вирус выбран из семейства *Orthomyxoviridae* или где вирус представляет собой вирус Западного Нила.

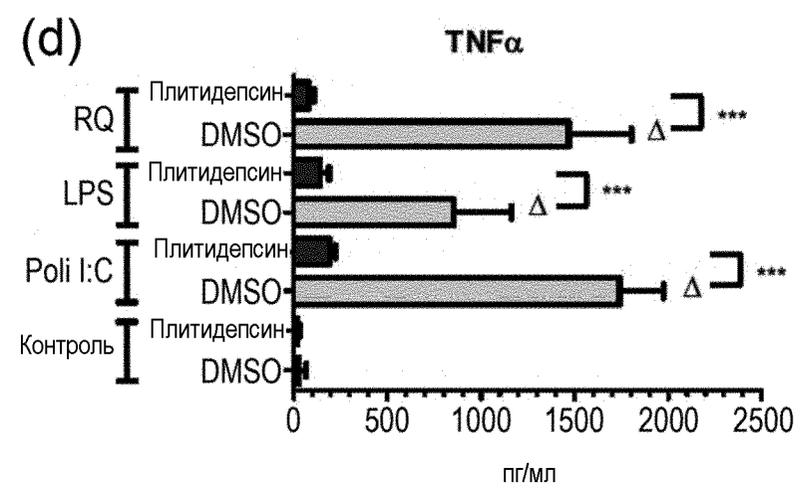
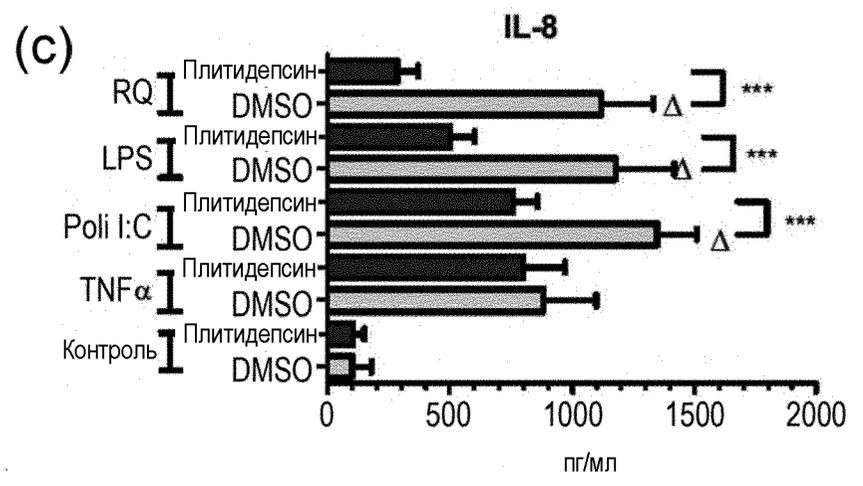
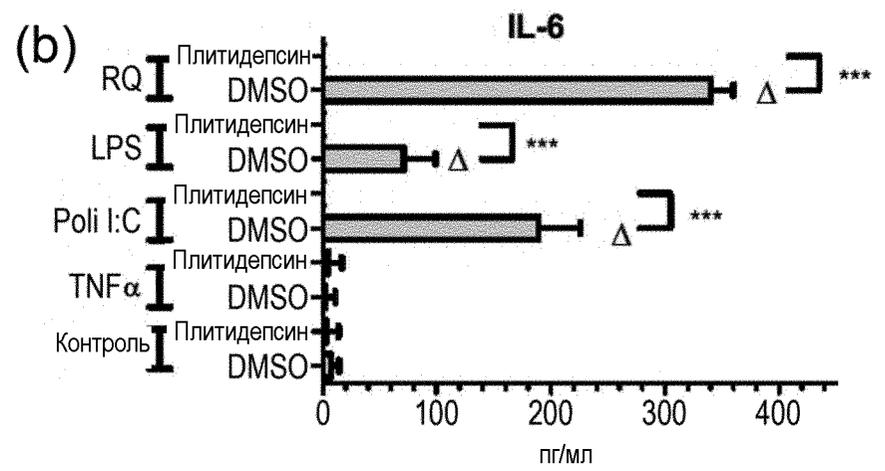
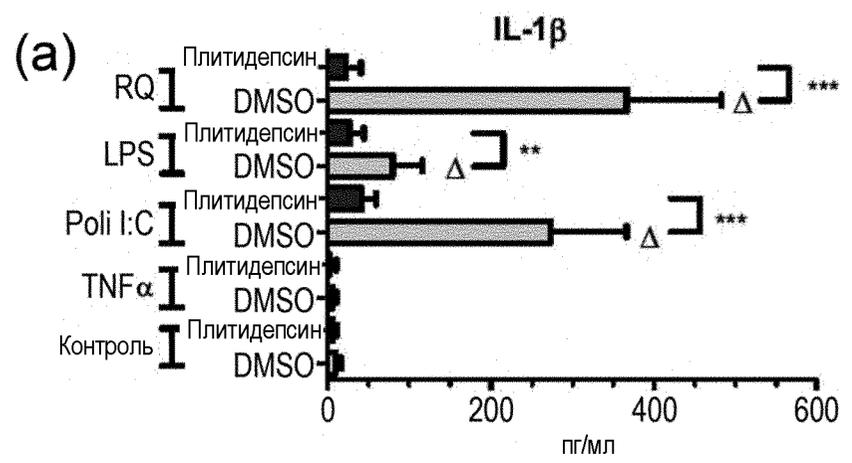
60. Фармацевтическая упаковка, содержащая соединение по любому из пп. 1-19 и кортикостероид, возможно дополнительно содержащая инструкции согласно любому из пп. 1-49.



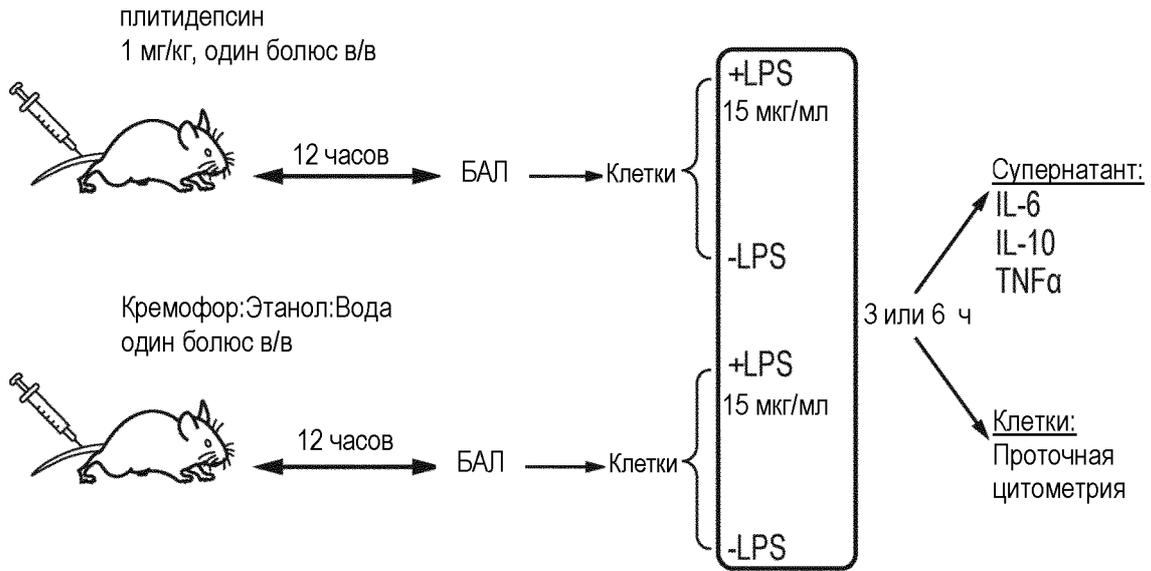
Фиг. 1а



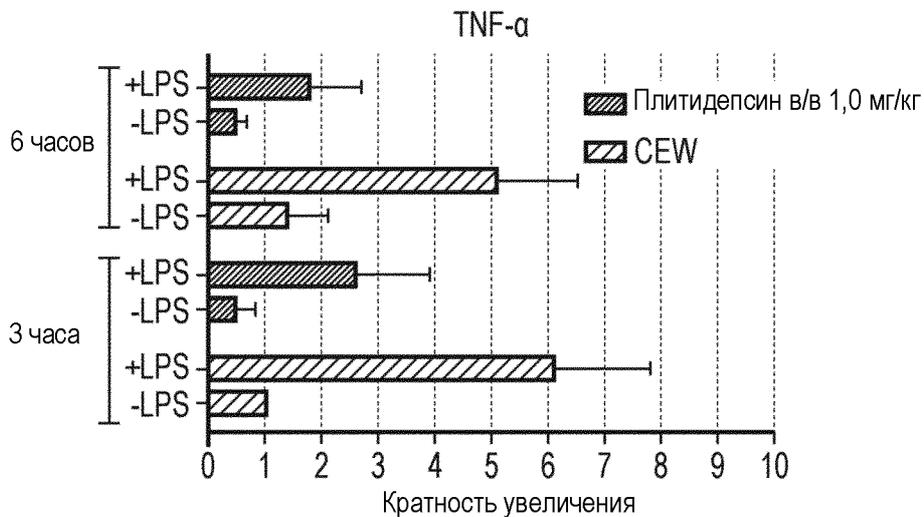
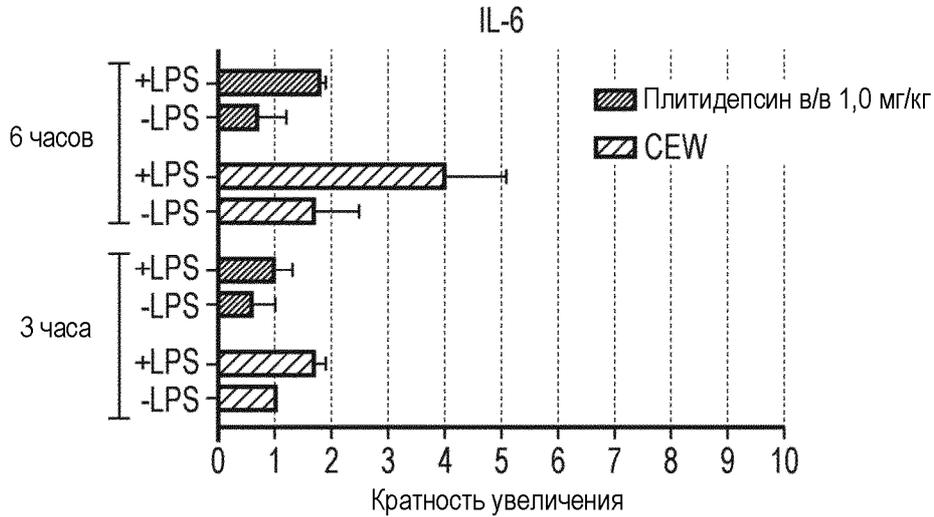
Фиг. 1б



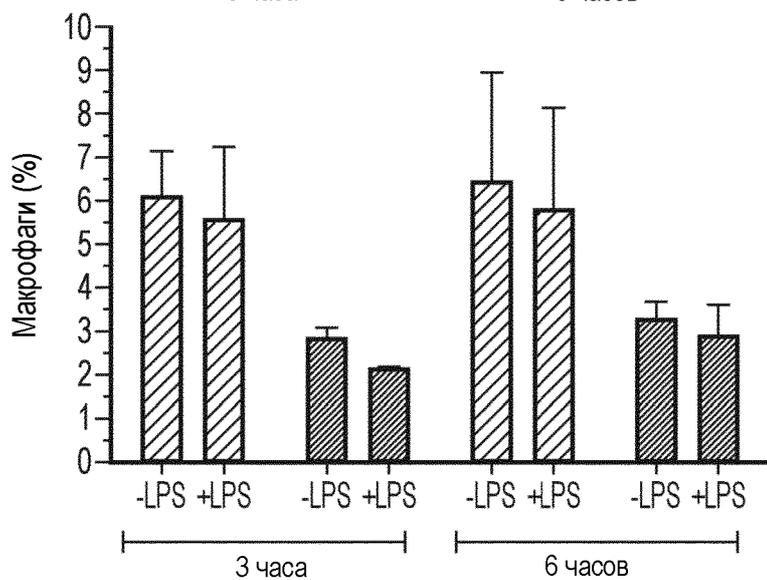
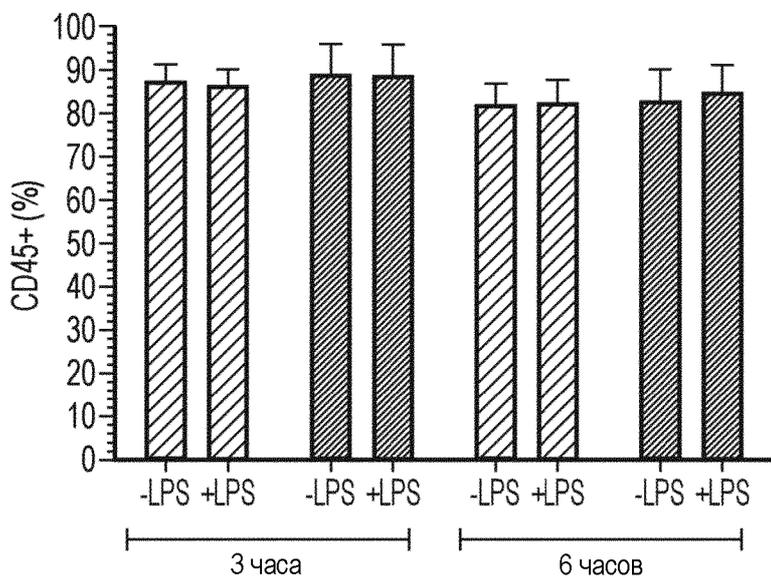
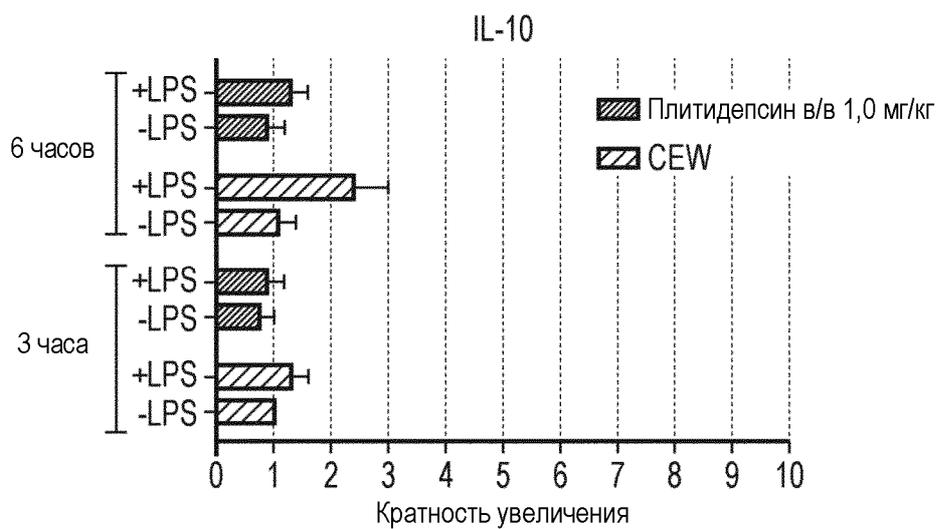
Фиг. 2



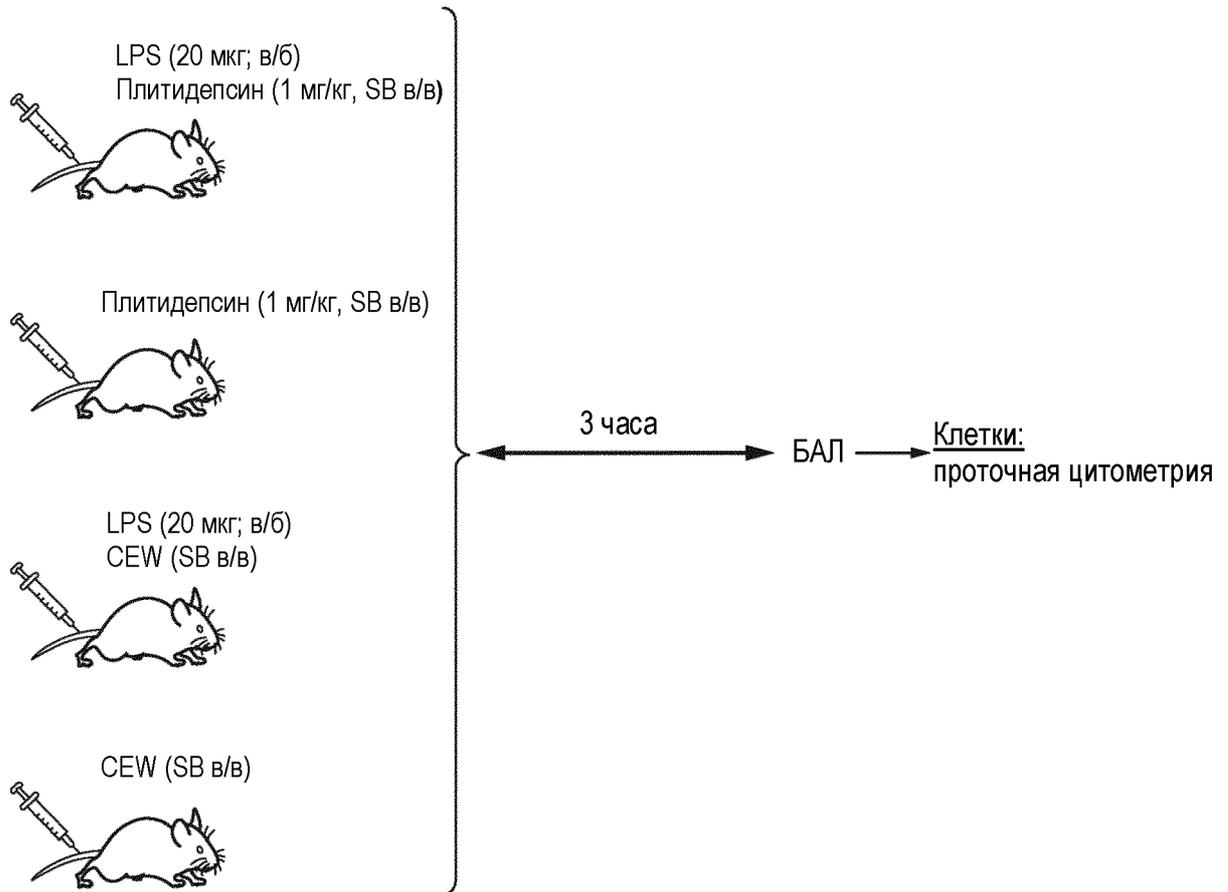
Фиг. 3(а)



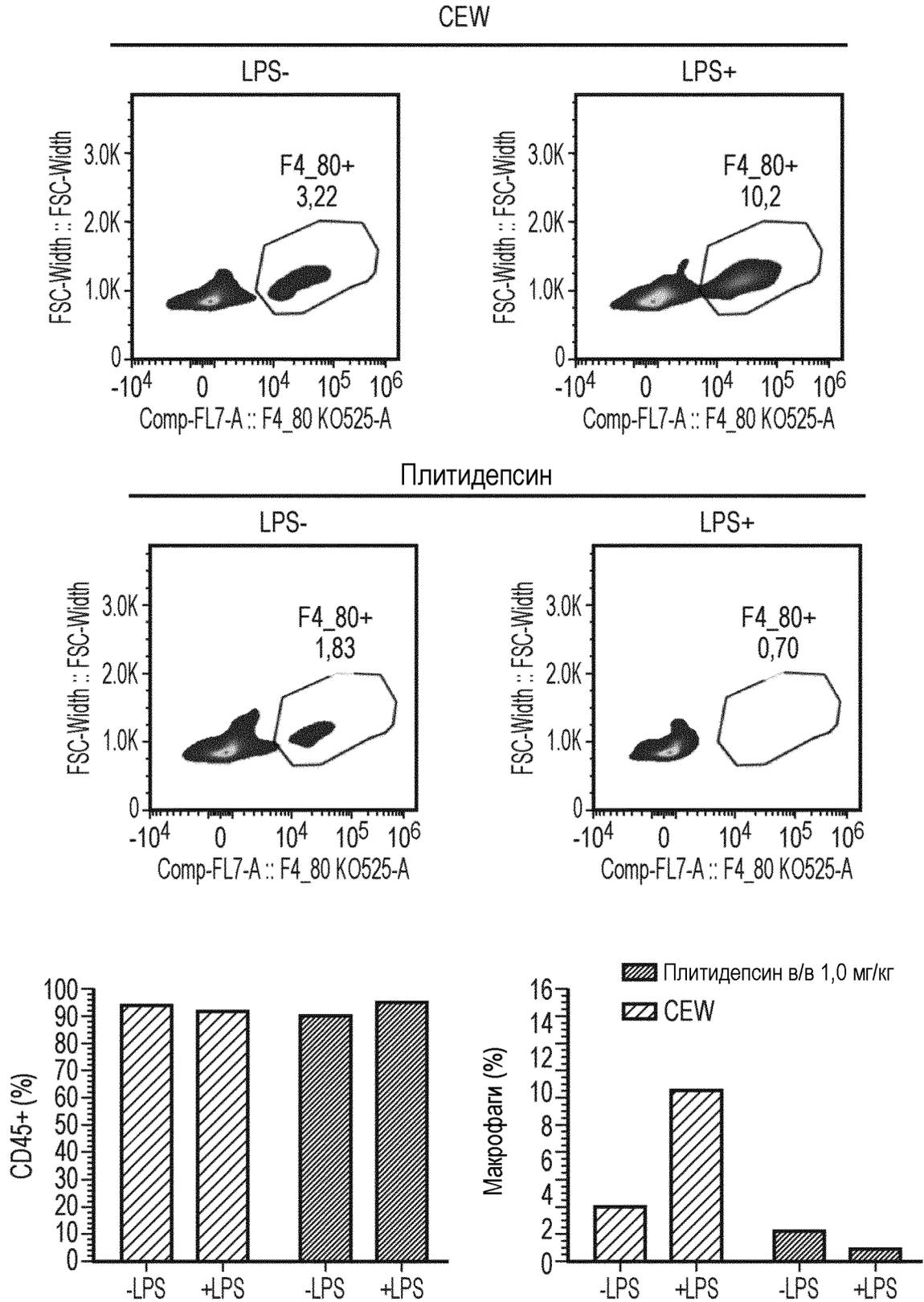
Фиг. 3(б)



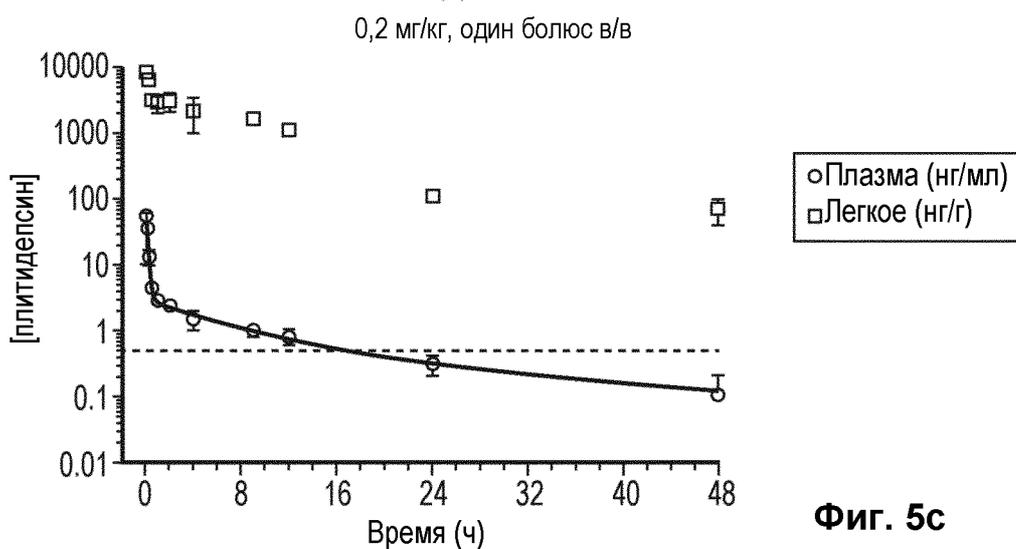
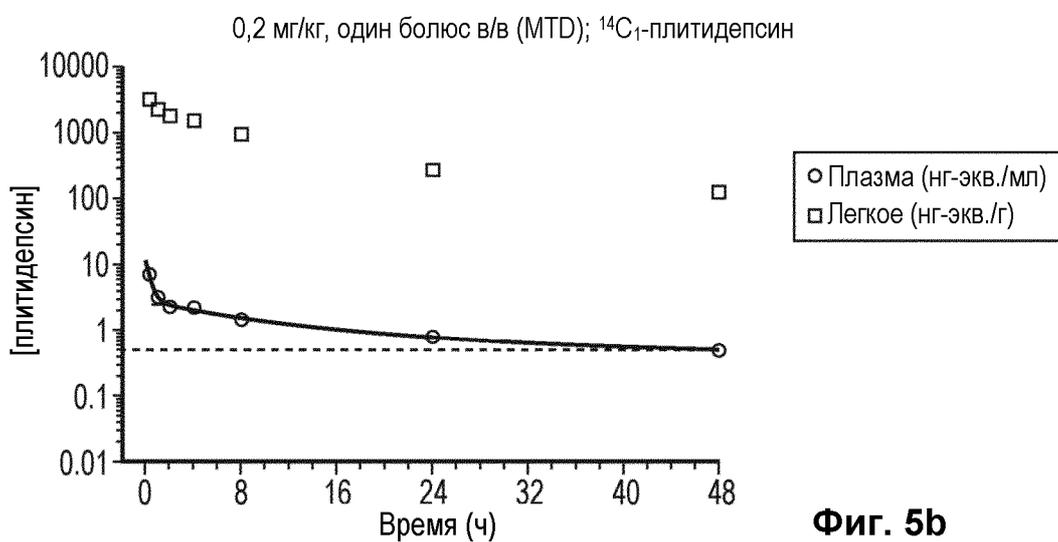
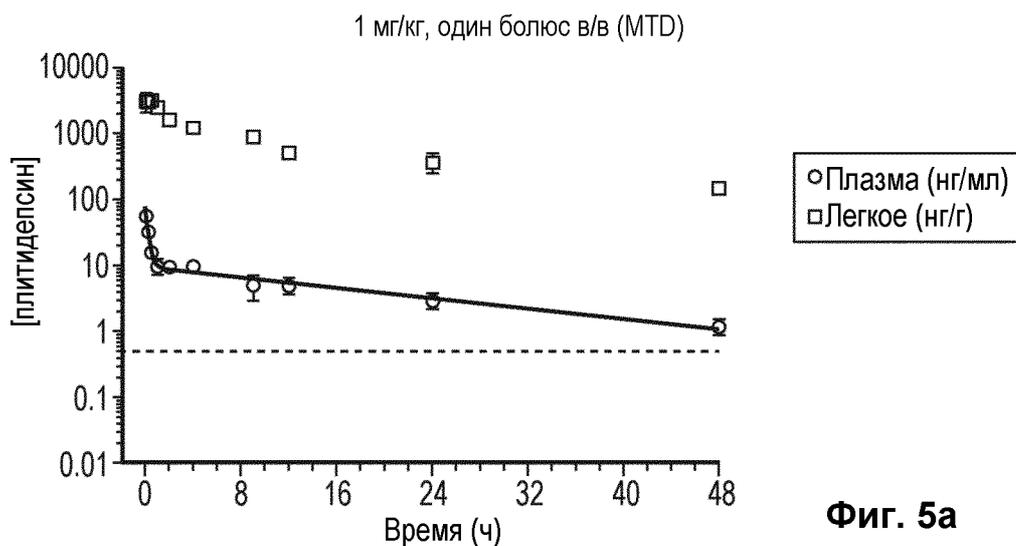
Фиг. 3(b) (продолжение)

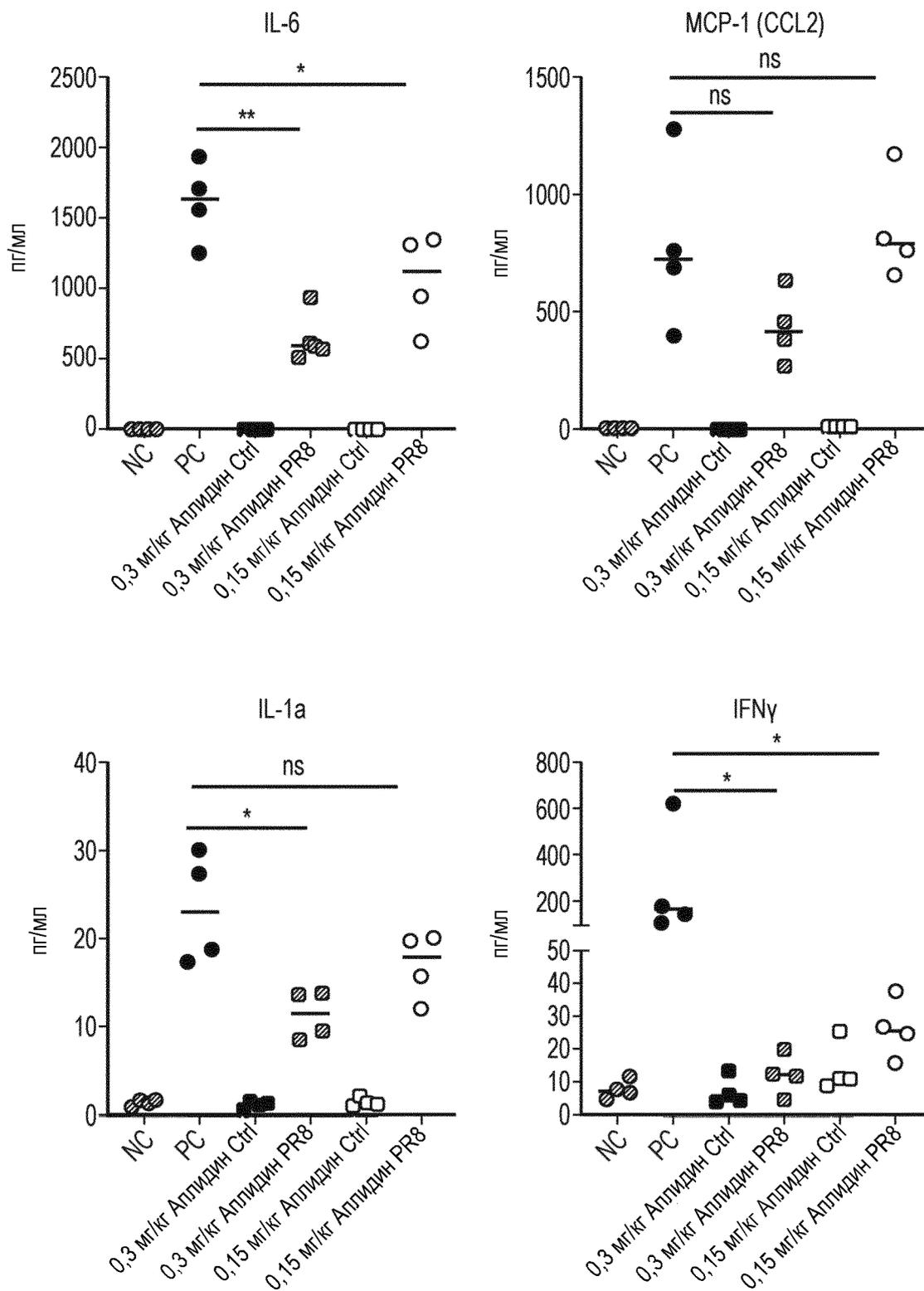


Фиг. 4(а)

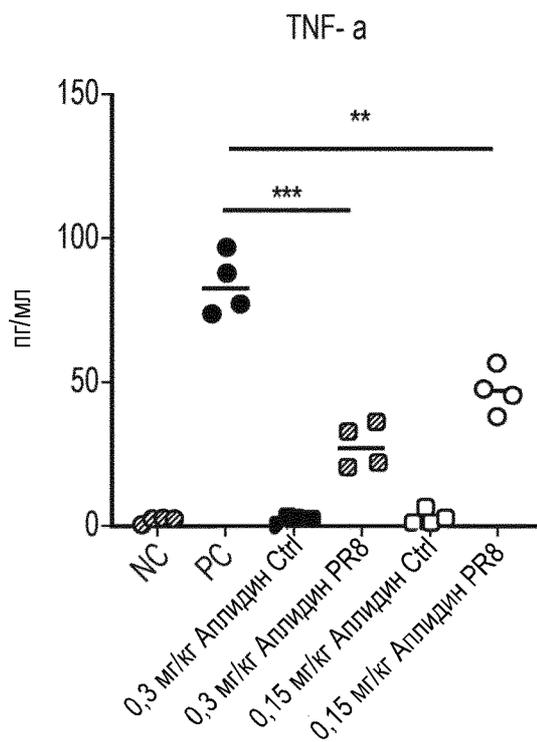


Фиг. 4(b)

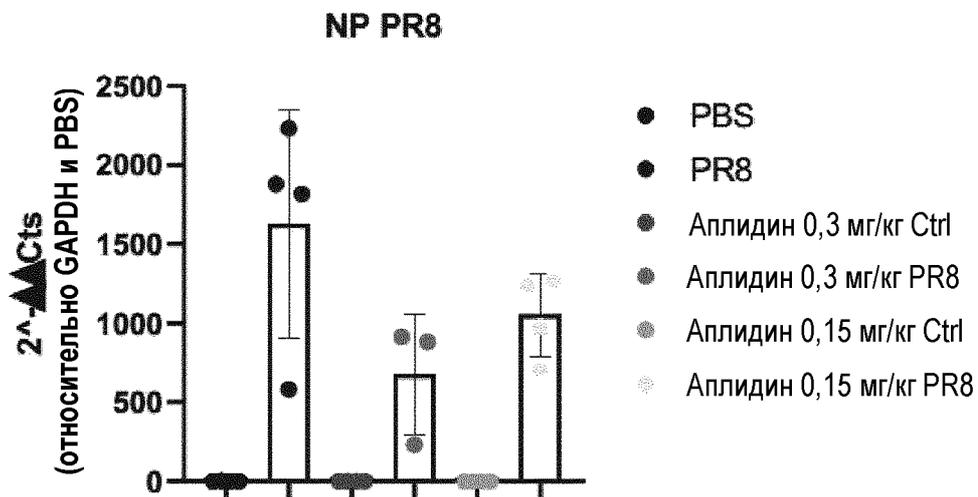




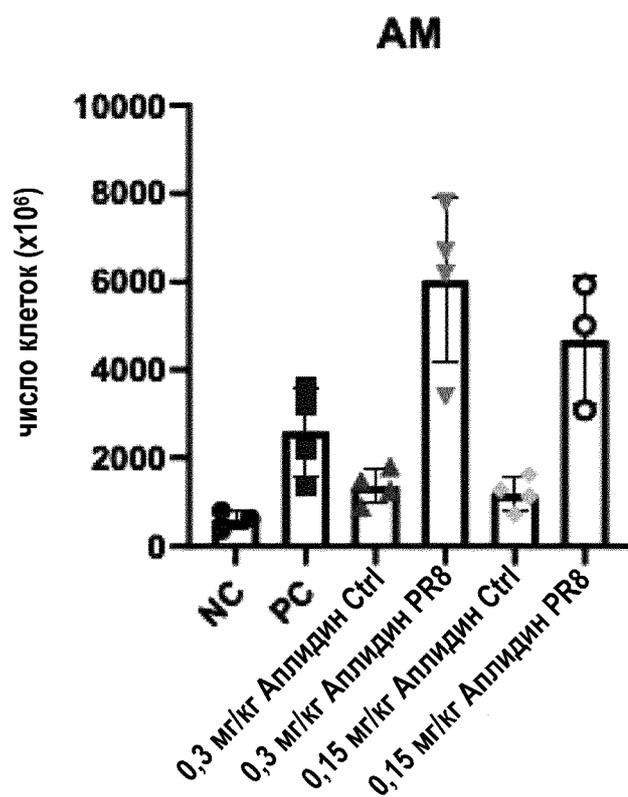
Фиг.6



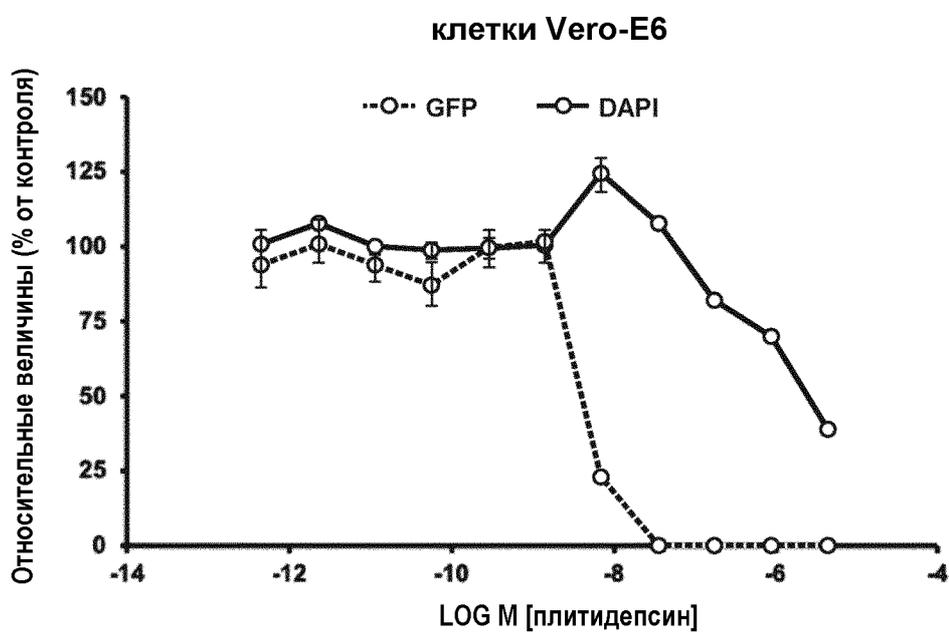
Фиг. 6 (продолжение)



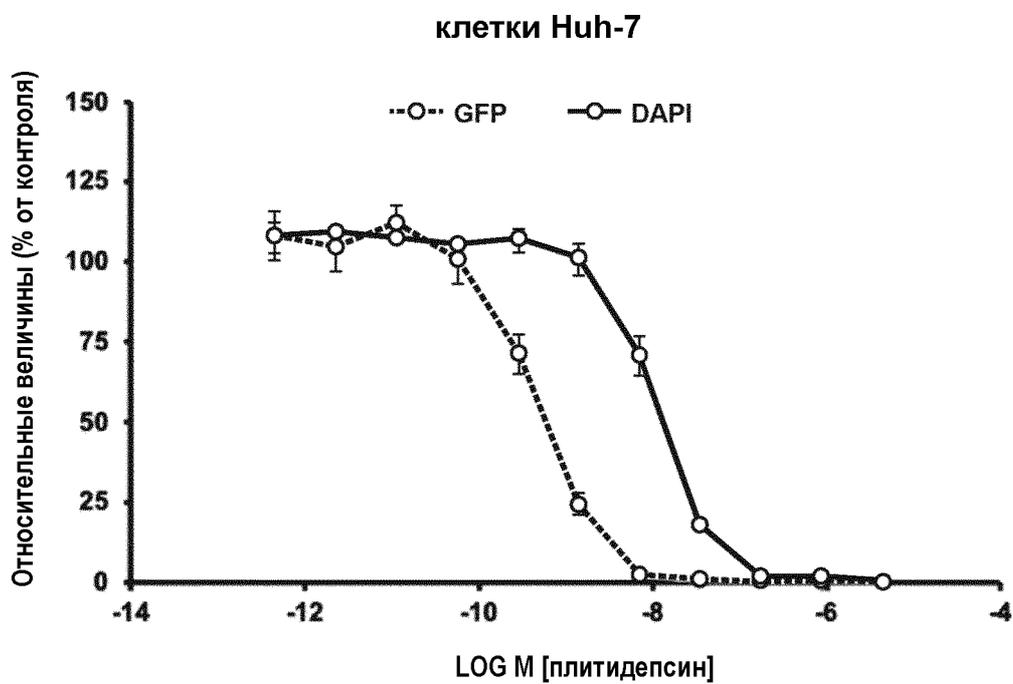
Фиг. 7



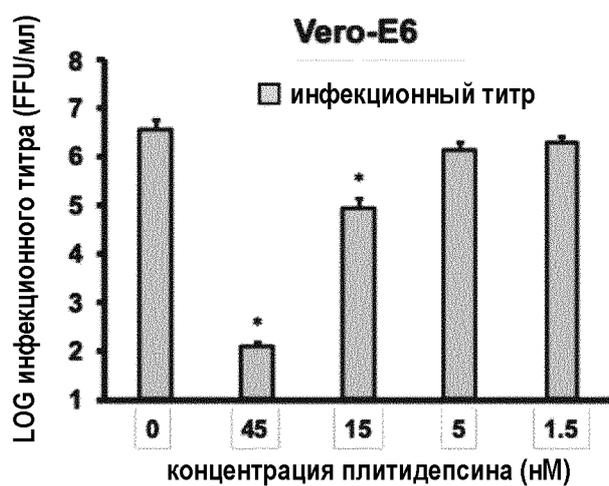
Фиг. 8



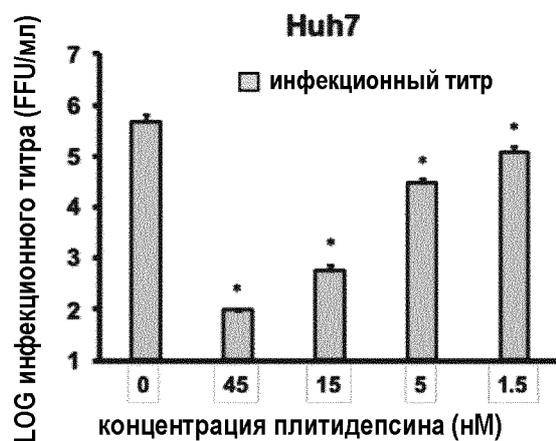
Фиг. 9



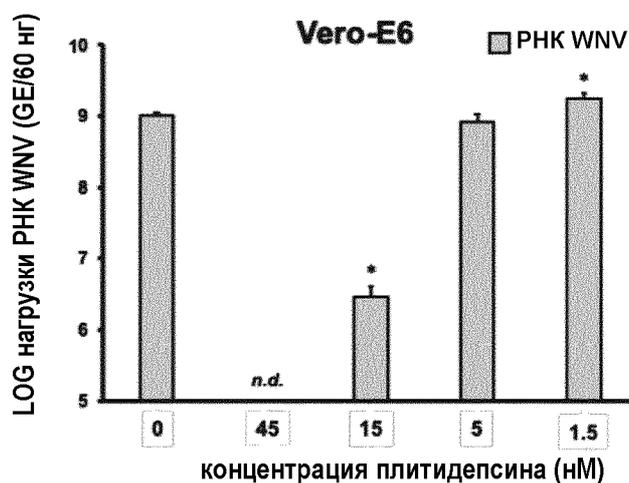
Фиг. 10



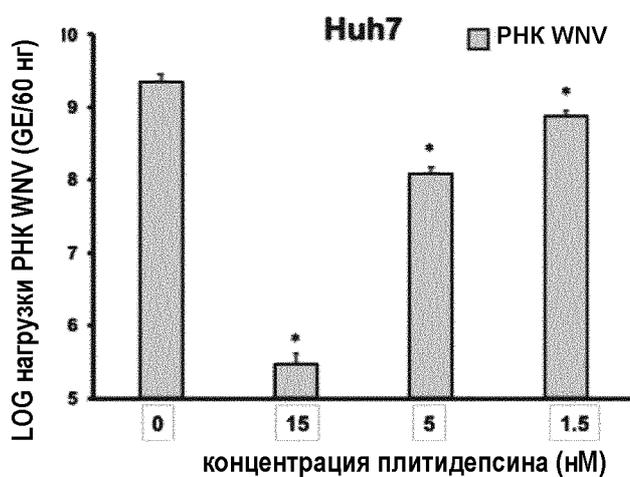
Фиг. 11(a)



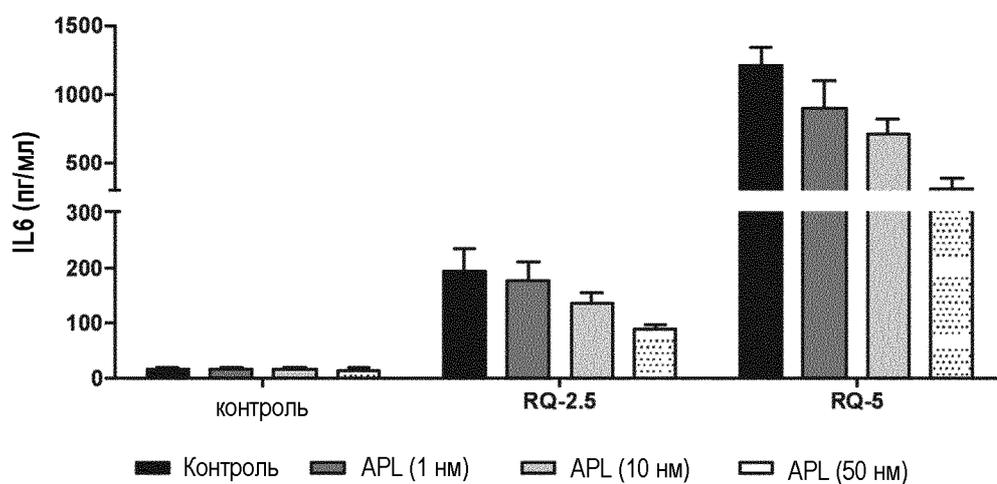
Фиг. 11(b)



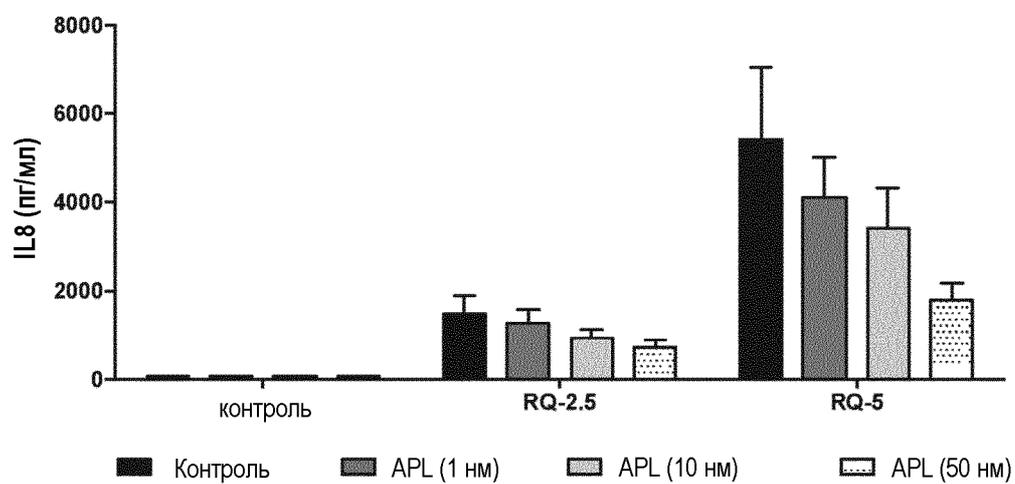
Фиг. 12(a)



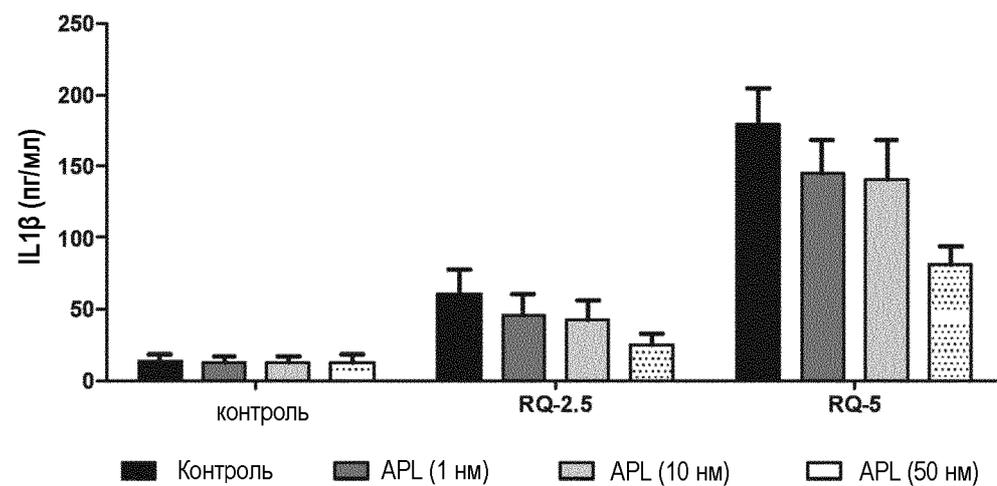
Фиг. 12(b)



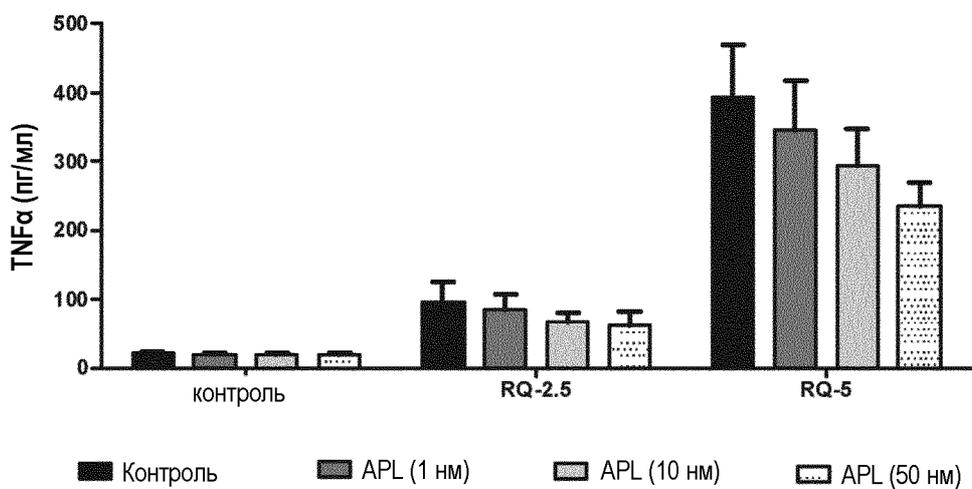
Фиг. 13(а)



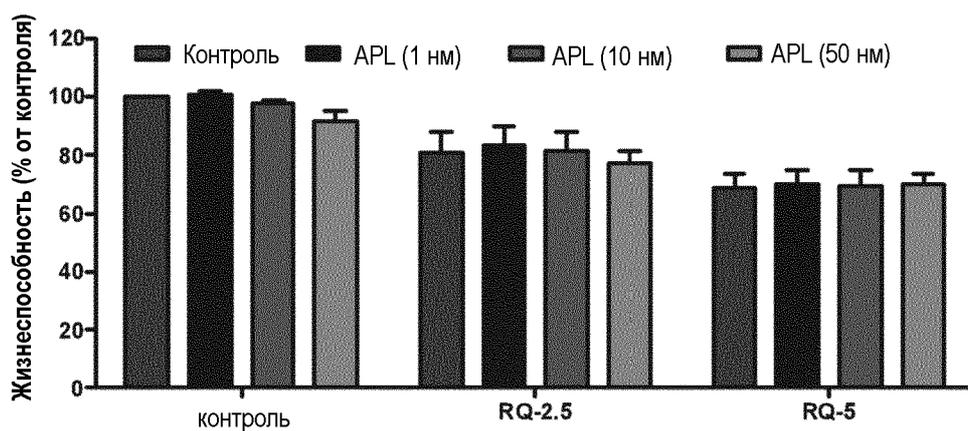
Фиг. 13(б)



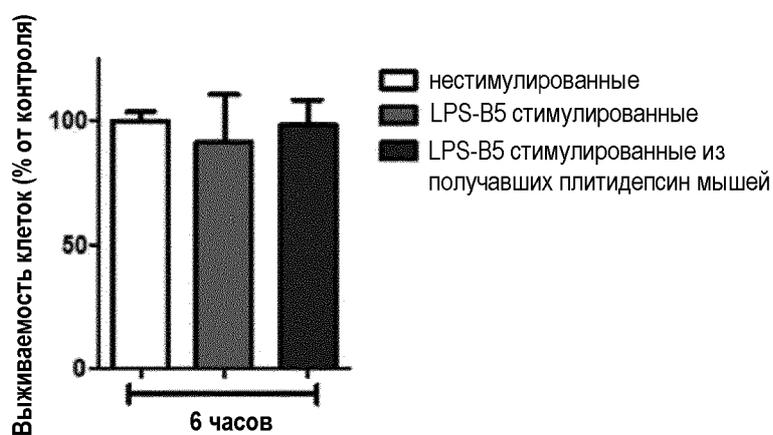
Фиг. 13(с)



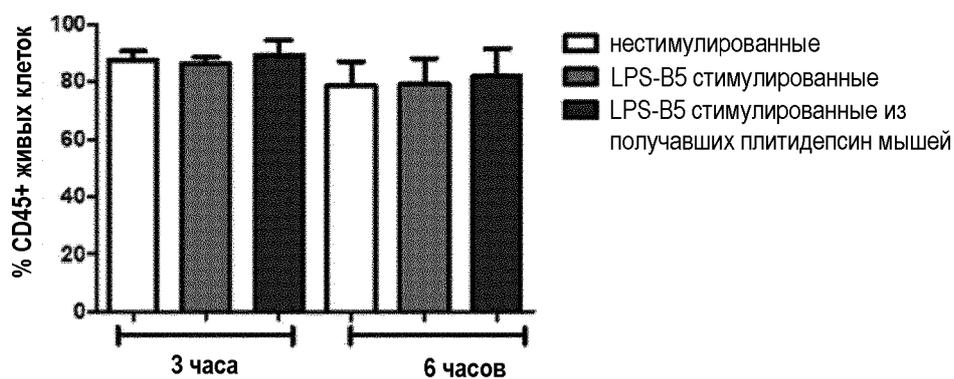
Фиг. 13(d)



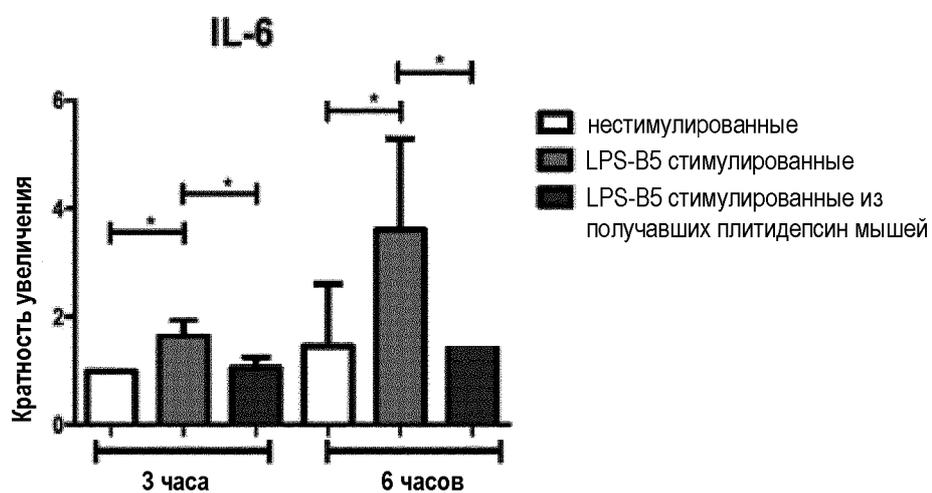
Фиг. 13(e)



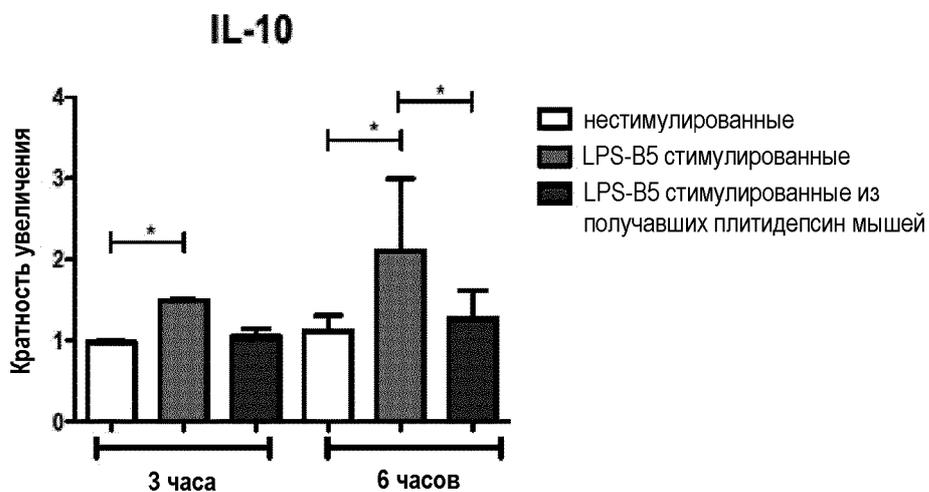
Фиг. 14(a)



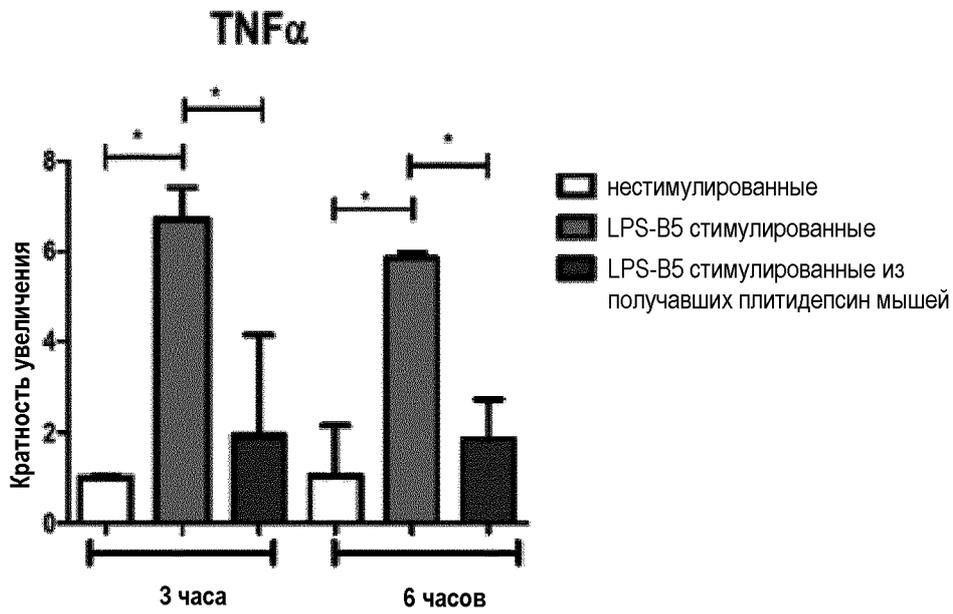
Фиг. 14(b)



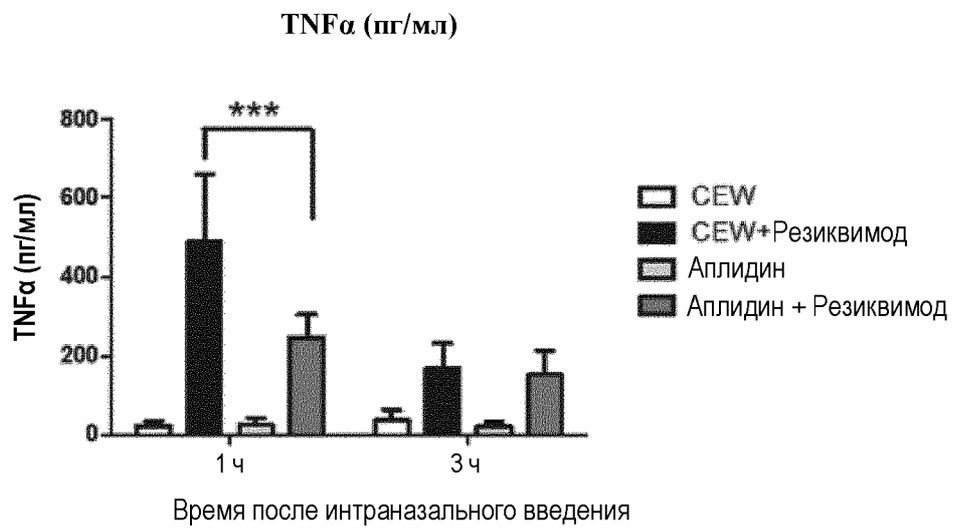
Фиг. 14(c)



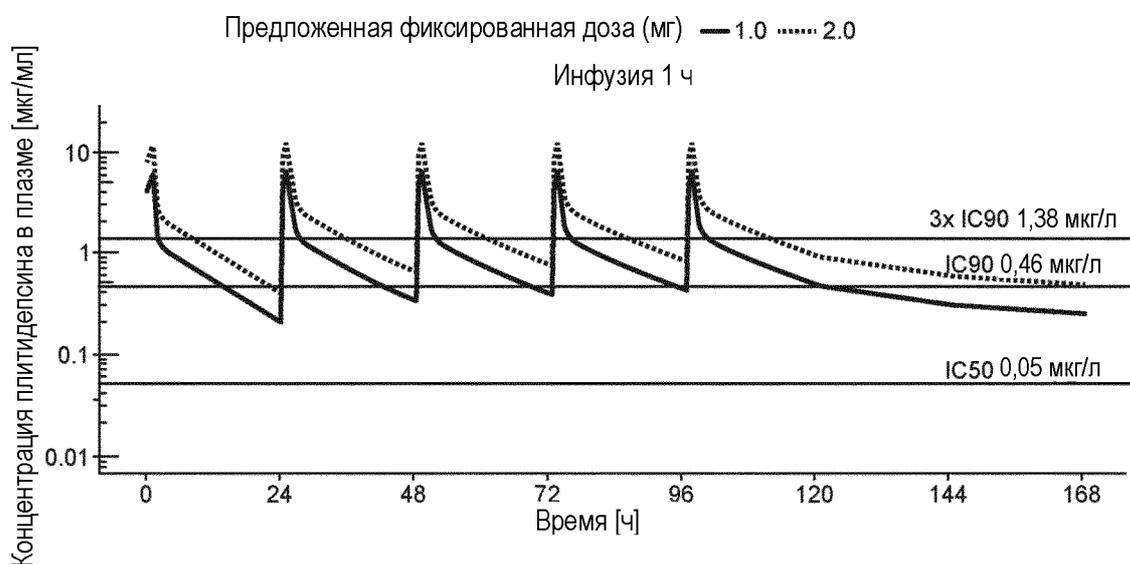
Фиг. 14(d)



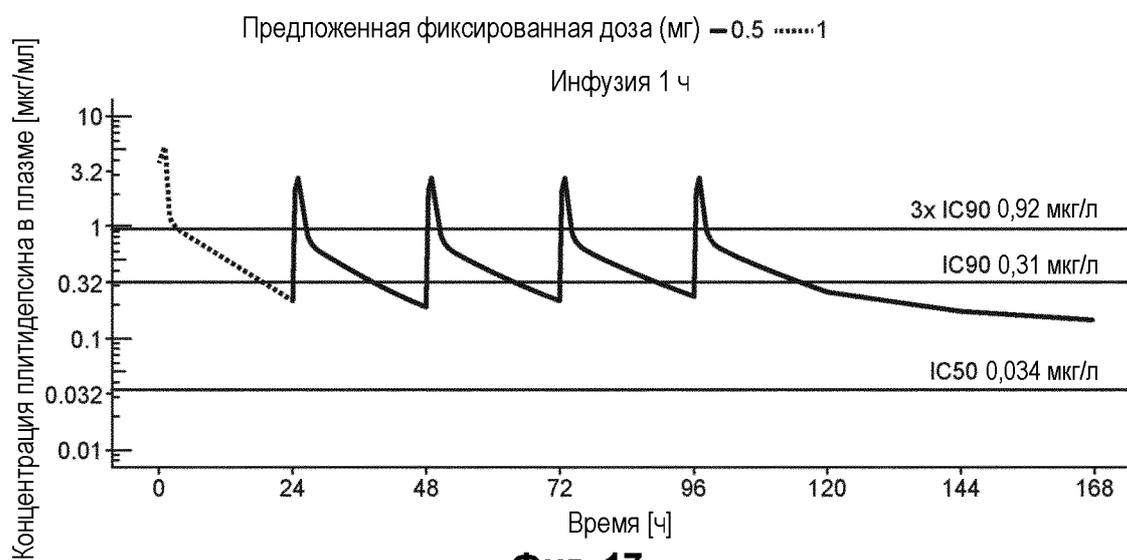
Фиг. 14(е)



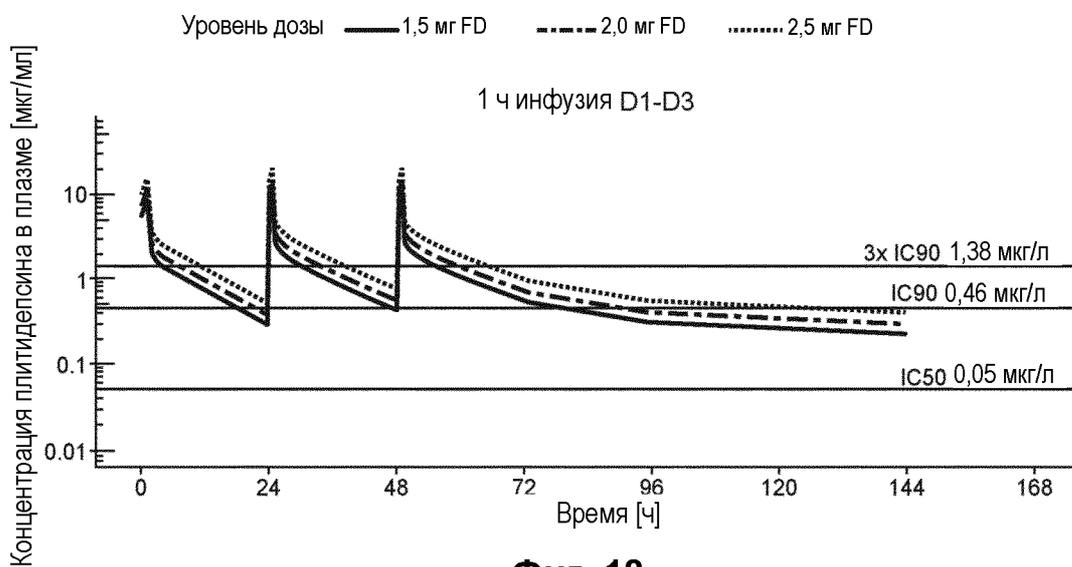
Фиг. 15



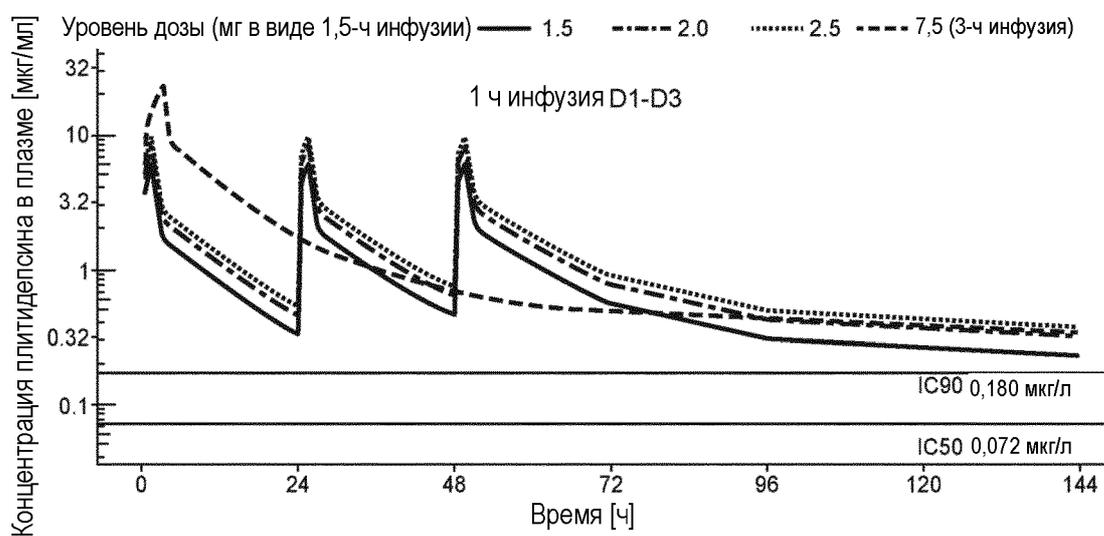
Фиг. 16



Фиг. 17



Фиг. 18



Фиг. 19