

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202293563** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2023.02.01

(22) Дата подачи заявки
2021.06.10

(51) Int. Cl. *A61K 31/437* (2006.01)
A61K 31/4706 (2006.01)
A61K 31/573 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 37/02 (2006.01)

(54) **СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ КОЖНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКИ**

(31) **202011024586**

(32) **2020.06.11**

(33) **IN**

(86) **PCT/US2021/036740**

(87) **WO 2021/252718 2021.12.16**

(71) Заявитель:
**БРИСТОЛ-МАЕРС СКВИББ
КОМПАНИ (US)**

(72) Изобретатель:

**Щивен Гэри Л. (US), Дудхгаонкар
Шайлеш (IN)**

(74) Представитель:

**Гизатуллин Ш.Ф., Гизатулина Е.М.,
Угрюмов В.М., Костюшенкова М.Ю.,
Строкова О.В., Джермакян Р.В. (RU)**

(57) Предложен способ лечения пациента, страдающего кожной красной волчанкой, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективной дозы ингибитора TLR7 или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с терапевтически эффективной дозой второго агента, выбранного из преднизолона и гидроксихлорохина, или их фармацевтически приемлемых солей.

A1

202293563

202293563

A1

СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ КОЖНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКИ

Перекрестная ссылка

Настоящая заявка испрашивает приоритет по Индийской предварительной заявке с серийным номером №202011024586, поданной 11 июня 2021 г., содержание которой полностью включено в настоящую заявку.

ОПИСАНИЕ

Настоящее изобретение в целом относится к способу лечения пациента, страдающего кожной красной волчанкой, включающему введение указанному пациенту терапевтически эффективной дозы ингибитора TLR7 или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с терапевтически эффективной дозой второго агента, выбранного из преднизолона и гидроксихлорохина или их фармацевтически приемлемых солей.

Уровень техники

Толл-подобные рецепторы (TLR) относятся к семейству паттерн-распознающих рецепторов, которые распознают высококонсервативные компоненты различных патогенов и индуцируют врожденные и адаптивные иммунные ответы (Akira S, Takeda K, Kaisho T, *Nat Immunol.* 2001;2: 675–680; Pandey S, Agrawal DK., *Immunol Cell Biol.* 2006; 84: 333–341; Kawai T, Akira S. *J Biochem.* 2007;141:137–145). Было показано, что TLR7 и TLR8 экспрессируются в эндосомальных компартментах и распознают молекулярные паттерны ssRNA. TLR7 экспрессируется в В-клетках и плазматоцитных дендритных клетках (pDC); TLR8 экспрессируется в моноцитах и миелоидных дендритных клетках (mDC) (Chuang TH, Ulevitch RJ. *Eur Cytokine Net.* 2000;11:372–378; Iwasaki A, Medzhitov R. *Nat Immunol.* 2004;5:987–995).

Кожная красная волчанка (CLE) представляет собой кожное заболевание, которое может встречаться как самостоятельное кожное проявление или с сопутствующей системной красной волчанкой (SLE) (Okon LG, Werth VP. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2013; 27:391–404; Cohen MR, Crosby D. *J Rheumatol.* 1994;21:1665–1669).

CLE часто связана с присутствием аутоантител с различной частотой. Как и в случае SLE, предполагается, что нарушение регуляции интерферона I типа (IFN)

является ключевым патогенным фактором при CLE. Пациенты с CLE часто имеют сигнатуру IFN в крови и кожных поражениях, при этом сигнатура IFN в крови коррелирует с показателями активности кожного заболевания (Braunstein I, Klein R, Okawa J, et al., *Br J Dermatol.* 2012; 166: 971–975; Meller S, Winterberg F, Gilliet M, et al., *Arthritis Rheum.* 2005;52: 1504-1516, Wenzel J, Zahn S, Mikus S, et al., *Br J Dermatol.* 2007;157: 752-757).

Лечение сифалимуабом (анти-IFN α mAb) и анифролумабом (анти-IFNAR mAb) продемонстрировало улучшение показателей активности кожного заболевания у пациентов с SLE при наблюдении кожного заболевания в ходе II фазы клинических исследований, что еще раз подтвердило вклад IFN типа I в патогенез CLE (Furie R, Khamashta M, Merrill JT, et al. *Arthritis Rheumatol.* 2017; 69: 376–86; Petri M, Wallace DJ, Spindler A, et al. *Arthritis Rheum.* 2013;65:1011–1021). Плазмациитоидные дендритные клетки (pDC) представляют собой специализированные клетки, которые накапливаются в коже пациентов с CLE и составляют 5–10% иммунного инфильтрата; предполагается, что они являются основным источником IFN типа I при кожных поражениях CLE. В ответ на стимуляцию TLR7 и TLR9 лигандами нуклеиновых кислот клетки pDC активно секретируют IFN α , в то время как TLR8 индуцирует продукцию провоспалительных цитокинов, таких как TNF α и IL-6, в различных миелоидных клетках (Siegal FP, Kadowaki N, Shodell M, et al. *Science* 1999; 284:1835–1837; Tomasini D, Mentzel T, Hantschke M, et al., *J Cutan Pathol.* 2010; 37:1132–1139; Vermi W, Lonardi S, Morassi M, et al., *Immunobiology* 2009;214:877–86).

Апоптотический дебрис, вызванный ультрафиолетовым излучением, хорошо известным внешним активатором CLE, приводит к накоплению фрагментов рибонуклеиновой кислоты (РНК) и дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), которые активируют TLR7 и TLR9, соответственно, что приводит к активации pDC и продукции IFN типа I (Wenzel J, Proelss J, Wiechert A, et al., *J Am Acad Dermatol.*, 2007; 56: 648–650).

Желательна разработка новых методов лечения CLE.

В настоящем документе раскрыты способы лечения кожной красной волчанки, включающие введение пациенту терапевтически эффективной дозы ингибитора TLR7 или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с терапевтически эффективной дозой преднизолона или его фармацевтически приемлемой соли.

Также в настоящем документе раскрыты способы лечения кожной красной

волчанки, включающие введение пациенту терапевтически эффективной дозы ингибитора TLR7 или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с терапевтически эффективной дозой гидроксихлорохина или его фармацевтически приемлемой соли.

Сущность изобретения

В настоящем изобретении предложены способы лечения пациента, страдающего кожной красной волчанкой, включающие введение указанному пациенту терапевтически эффективной дозы ингибитора TLR7 или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с терапевтически эффективной дозой второго агента, выбранного из преднизолона и гидроксихлорохина или их фармацевтически приемлемых солей.

В настоящем изобретении предложены способы лечения пациента, страдающего кожной красной волчанкой, включающие введение указанному пациенту терапевтически эффективной дозы ингибитора TLR7 или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с терапевтически эффективной дозой преднизолона или его фармацевтически приемлемой соли.

В настоящем изобретении предложены способы лечения пациента, страдающего кожной красной волчанкой, включающие введение указанному пациенту терапевтически эффективной дозы ингибитора TLR7 или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с терапевтически эффективной дозой гидроксихлорохина или его фармацевтически приемлемой соли.

Эти и другие признаки изобретения будут изложены в развернутом виде по мере раскрытия изобретения.

Краткое описание чертежей

Изобретение иллюстрируется ссылками на прилагаемые чертежи, описанные ниже.

На **ФИГ. 1** показано ингибирование кожных поражений после обработки Соединением (I) или преднизолоном у самок MRL/lpr мышей. А: поражения шеи; В: поражения головы; С: поражения морды; D: поражения уха; Е: Общие поражения.

На **ФИГ. 2** показано уменьшение эритемы при лечении кожных поражений

Соединением (I) или преднизолоном у самок MRL/lpr мышей. А: Эритема шеи; В: Эритема уха; С: Общая эритема.

На **ФИГ. 3** показано ингибирование титров циркулирующих антител, включая титры анти-dsДНК, анти-smRNP и анти-Ro антител, после обработки Соединением (I) или преднизолоном.

На **ФИГ. 4** показано снижение протеинурии и NGAL (нейтрофильного желатиназо-ассоциированного липокаина) в моче после лечения Соединением (I) или преднизолоном.

На **ФИГ. 5** показано, что Соединение (I) ингибирует индуцированный TLR7 IL-6 в условиях *ex vivo* после обработки либо соединением (I), либо преднизолоном.

На **ФИГ. 6** показаны общие поражения у самок MRL/lpr мышей с установленным заболеванием, получавших носитель, Соединение (I), преднизолон, гидроксихлорохин, Соединение (I) + преднизолон и Соединение (I) + гидроксихлорохин.

На **ФИГ. 7** приведены показатели эритемы шеи у самок MRL/lpr мышей, получавших носитель, Соединение (I), преднизолон, гидроксихлорохин, Соединение (I) + преднизолон и Соединение (I) + гидроксихлорохин.

На **ФИГ. 8** приведены показатели эритемы уха у самок MRL/lpr мышей с установленным заболеванием, получавших носитель, Соединение (I), преднизолон, гидроксихлорохин, Соединение (I) + преднизолон и Соединение (I) + гидроксихлорохин.

На **ФИГ. 9** приведены показатели общей эритемы у самок MRL/lpr мышей с установленным заболеванием, получавших носитель, Соединение (I), преднизолон, гидроксихлорохин, Соединение (I) + преднизолон и Соединение (I) + гидроксихлорохин.

На **ФИГ. 10** показаны уровни протеинурии для самок MRL/lpr мышей с установленным заболеванием, получавших носитель, Соединение (I), преднизолон, гидроксихлорохин, Соединение (I) + преднизолон и Соединение (I) + гидроксихлорохин.

На **ФИГ. 11** показаны уровни NGAL в моче самок MRL/lpr мышей с установленным заболеванием, получавших носитель, Соединение (I), преднизолон, гидроксихлорохин, Соединение (I) + преднизолон и Соединение (I) + гидроксихлорохин.

На **ФИГ. 12** показаны общие поражения у самок MRL/lpr мышей на поздних стадиях заболевания, получавших носитель, Соединение (I), преднизолон, гидроксихлорохин, Соединение (I) + преднизолон и Соединение (I) + гидроксихлорохин.

На **ФИГ. 13** приведены показатели эритемы шеи у самок MRL/lpr мышей,

получавших носитель, Соединение (I), преднизолон и Соединение (I) + преднизолон.

На **ФИГ. 14** приведены показатели эритемы шеи у самок MRL/lpr мышей, получавших носитель, гидроксихлорохин и Соединение (I) + гидроксихлорохин.

На **ФИГ. 15** приведены показатели эритемы уха у самок MRL/lpr мышей на поздних стадиях заболевания, получавших носитель, Соединение (I), преднизолон, гидроксихлорохин, Соединение (I) + преднизолон и Соединение (I) + гидроксихлорохин.

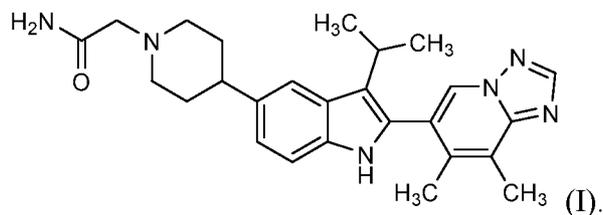
На **ФИГ. 16** приведены показатели общей эритемы у самок MRL/lpr мышей на поздних стадиях заболевания, получавших носитель, Соединение (I), преднизолон, гидроксихлорохин, Соединение (I) + преднизолон и Соединение (I) + гидроксихлорохин.

Определения

Для облегчения понимания настоящего описания сначала даны определения некоторых терминов. Дополнительные определения приведены на протяжении всего подробного описания.

«Ингибитор TR7» ингибирует функцию TLR7. Ингибиторы TLR7 могут связываться с TLR7 обратимо или необратимо и включают антитела, малые молекулы и миллимолекулярные соединения.

Соединение Формулы (I) представляет собой ингибитор TLR7 и имеет следующую структуру:

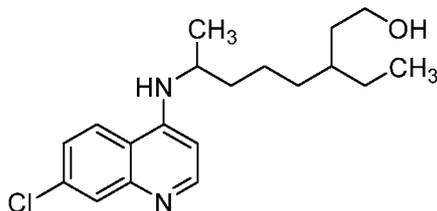


Химическое название соединения формулы (I): 2-(4-(2-(7,8-диметил-[1,2,4]триазоло[1,5-а]пиридин-6-ил)-3-изопропил-1H-индол-5-ил)пиперидин-1-ил)ацетамид. Открытие и синтез соединения формулы (I) описаны в WO 2018/005586A1.

Преднизолон представляет собой кортикостероидный препарат, имеющий химическое название: 11,17-дигидрокси-17-(2-гидроксиацетил)-10,13-диметил-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-додекагидроциклопента[а]фенантрен-3-он. Преднизолон можно вводить перорально в виде таблеток, таблеток, растворяющихся в полости рта, раствора или суспензии. Офтальмологический преднизолон доступен в виде раствора (жидкости) и суспензии (глазные капли). Преднизолон доступен в виде натриевой соли.

Преднизолон также можно вводить в виде пролекарства преднизона. Используемый здесь термин «преднизолон» относится как к преднизолону, так и к преднизону. Используемый здесь термин «Пред» относится к преднизолону.

Гидроксихлорохин имеет структуру



Используемый здесь термин «НСQ» относится к гидроксихлорохину. Гидроксихлорохин используется для лечения или профилактики аутоиммунных заболеваний, включая волчанку и ревматоидный артрит. Он может уменьшать проблемы с кожей при волчанке, в том числе при кожной красной волчанке, и предотвратить отек/боль при артрите. Гидроксихлорохин доступен в виде сульфатной соли, при этом 200 мг сульфатной соли эквивалентны 155 мг основания.

Если не указано иное, научные и технические термины, используемые в связи с настоящим изобретением, должны иметь значения, обычно понятные специалистам в данной области. Кроме того, если иное не требуется по контексту, термины в единственном числе должны включать множественное число, а термины во множественном числе должны включать единственное число.

Термины «лечить», «лечение» и «терапия», используемые в данном документе, относятся к любому типу вмешательства или процесса, проводимого в отношении пациента, или к введению пациенту активного агента с целью обратить вспять, облегчить, улучшить, ингибировать, замедлить или предотвратить прогрессирование, развитие, тяжесть или рецидив симптомов, осложнений, состояний или биохимических признаков, связанных с заболеванием. Лечение включает терапевтическое лечение и профилактические или превентивные меры, целью которых является предотвращение или ослабление конкретного состояния или расстройства.

Термин «терапевтически эффективное количество» или «терапевтически эффективная доза» лекарственного средства или терапевтического агента относится к количеству лекарственного средства, эффективному для лечения заболевания или расстройства у пациента. В некоторых вариантах осуществления изобретения эффективное количество относится к количеству, эффективному в дозах и в течение

периода времени, необходимых для достижения желаемого терапевтического или профилактического результата. Способность терапевтического агента способствовать регрессу заболевания или ингибировать развитие или рецидив заболевания можно оценить с помощью различных методов, известных специалистам в данной области, например, на людях во время клинических исследований, на системах животных моделей, предсказывающих эффективность у людей, или посредством оценки активности агента в анализах *in vitro*.

Терапевтически эффективные количества ингибитора TLR7, преднизолона и гидроксихлорохина могут варьироваться в зависимости от таких факторов, как стадия заболевания, возраст, пол и вес пациента, а также от способности ингибитора TLR7, преднизолона и гидроксихлорохина вызывать желаемый ответ у пациента. Терапевтически эффективные количества ингибитора TLR7, преднизолона и гидроксихлорохина включают количество, при котором любые токсические или неблагоприятные эффекты ингибитора TLR7, преднизолона и гидроксихлорохина перевешиваются терапевтически полезными эффектами.

Термины «вводить» и «введение» относятся к физическому введению пациенту композиции, содержащей терапевтический агент, с использованием любого из различных способов и систем доставки, известных специалистам в данной области. Пути введения ингибитора TLR7 и второго агента включают энтеральное, местное введение и введение через слизистую оболочку, такое как пероральное, местное, сублингвальное, ректальное, интраназальное и внутривенное введение, а также парентеральное введение, такое как внутривенная, внутримышечная и подкожная инъекции.

Введение «в комбинации с» одним или несколькими дополнительными терапевтическими агентами включает одновременное (параллельное) и последовательное (следующее одно за другим) введение в любом порядке. Например, пациент может проглотить пероральную дозированную форму ингибитора TLR7 и пероральную дозированную форму второго агента в любом порядке (последовательно); или может проглатывать обе пероральные лекарственные формы вместе (одновременно).

Термин «пациент» включает человека и других млекопитающих, которые получают терапевтическое лечение.

Подробное раскрытие настоящего изобретения

Отличительные признаки и преимущества настоящего изобретения могут быть более понятны специалистам в данной области техники после прочтения следующего подробного описания. Следует принимать во внимание, что некоторые признаки изобретения, которые для ясности описаны выше и ниже в контексте отдельных вариантов осуществления изобретения, также могут быть скомбинированы с получением единого варианта осуществления изобретения. И наоборот, различные признаки изобретения, которые для краткости описаны в контексте одного варианта осуществления изобретения, также могут быть скомбинированы с получением их подкомбинаций. Варианты осуществления изобретения, обозначенные здесь как иллюстративные или предпочтительные, предназначены для иллюстрации и не являются ограничивающими.

В настоящем документе предложены один или несколько способов лечения пациента, страдающего кожной красной волчанкой.

В одном варианте осуществления изобретения предложен способ лечения пациента, страдающего кожной красной волчанкой, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективной дозы ингибитора TLR7 или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с терапевтически эффективной дозой ингибитора TLR7 или его фармацевтически приемлемой соли; и терапевтически эффективной дозы второго агента, выбранного из преднизолона и гидроксихлорохина или их фармацевтически приемлемых солей.

В одном варианте осуществления изобретения предложен способ лечения пациента, страдающего кожной красной волчанкой, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективной дозы ингибитора TLR7 или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с терапевтически эффективной дозой преднизолона или его фармацевтически приемлемой соли. В этот вариант осуществления изобретения включен способ, в котором ингибитор TLR7 представляет собой соединение формулы (I).

В еще одном варианте осуществления изобретения предложен способ лечения пациента, страдающего кожной красной волчанкой, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективной дозы ингибитора TLR7 или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с терапевтически эффективной дозой преднизона или его фармацевтически приемлемой соли. В этот вариант осуществления изобретения

включен способ, в котором ингибитор TLR7 представляет собой соединение формулы (I).

В еще одном варианте осуществления изобретения предложен способ лечения пациента, страдающего кожной красной волчанкой, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективной дозы ингибитора TLR7 или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с терапевтически эффективной дозой гидроксихлорохина или его фармацевтически приемлемой соли. В этот вариант осуществления включен способ, в котором ингибитор TLR7 представляет собой соединение формулы (I).

В еще одном варианте осуществления изобретения предложен способ лечения пациента, страдающего кожной красной волчанкой, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективной дозы ингибитора TLR7 или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с терапевтически эффективной дозой второго агента, выбранного из преднизолона и гидроксихлорохина или их фармацевтически приемлемых солей, где указанный второй агент вводят одновременно с указанным ингибитором TLR7. В этот вариант осуществления изобретения включен способ, в котором ингибитор TLR7 представляет собой соединение формулы (I).

В еще одном варианте осуществления изобретения предложен способ лечения пациента, страдающего кожной красной волчанкой, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективной дозы ингибитора TLR7 или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с терапевтически эффективной дозой второго агента, выбранного из преднизолона или его фармацевтически приемлемой соли, где указанный второй агент вводят одновременно с указанным ингибитором TLR7. В этот вариант осуществления изобретения включен способ, в котором ингибитор TLR7 представляет собой соединение формулы (I).

В еще одном варианте осуществления изобретения предложен способ лечения пациента, страдающего кожной красной волчанкой, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективной дозы ингибитора TLR7 или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с терапевтически эффективной дозой второго агента, выбранного из гидроксихлорохина или его фармацевтически приемлемой соли, где указанный второй агент вводят одновременно с указанным ингибитором TLR7. В этот вариант осуществления изобретения включен способ, в котором ингибитор TLR7

представляет собой соединение формулы (I).

В еще одном варианте осуществления изобретения предложен способ лечения пациента, страдающего кожной красной волчанкой, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективной дозы ингибитора TLR7 или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с терапевтически эффективной дозой второго агента, выбранного из преднизолона и гидроксихлорохина или их фармацевтически приемлемых солей, где указанный второй агент вводят последовательно с указанным ингибитором TLR7. В этот вариант осуществления изобретения включен способ, в котором ингибитор TLR7 вводят до введения второго агента. В этот вариант осуществления изобретения также включен способ, в котором агент TLR7 вводят после второго агента. Кроме того, в этот вариант осуществления изобретения включен способ, в котором ингибитор TLR7 представляет собой соединение формулы (I).

В еще одном варианте осуществления изобретения предложен способ лечения пациента, страдающего кожной красной волчанкой, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективной дозы ингибитора TLR7 или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с терапевтически эффективной дозой второго агента, выбранного из преднизолона или его фармацевтически приемлемой соли, где указанный второй агент вводят последовательно с указанным ингибитором TLR7. В этот вариант осуществления изобретения включен способ, в котором ингибитор TLR7 вводят до введения второго агента. В этот вариант осуществления изобретения также включен способ, в котором агент TLR7 вводят после второго агента. Кроме того, в этот вариант осуществления изобретения включен способ, в котором ингибитор TLR7 представляет собой соединение формулы (I).

В еще одном варианте осуществления изобретения предложен способ лечения пациента, страдающего кожной красной волчанкой, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективной дозы ингибитора TLR7 или его фармацевтически приемлемой соли в сочетании с терапевтически эффективной дозой второго агента, выбранного из гидроксихлорохина или его фармацевтически приемлемой соли, где указанный второй агент вводят последовательно с указанным ингибитором TLR7. В этот вариант осуществления изобретения включен способ, в котором ингибитор TLR7 вводят до введения второго агента. В этот вариант осуществления изобретения также включен способ, в котором агент TLR7 вводят после второго агента. Кроме того, в этот вариант

осуществления изобретения включен способ, в котором ингибитор TLR7 представляет собой соединение формулы (I).

В одном из вариантов осуществления изобретения терапевтически эффективная доза соединения формулы (I) находится в диапазоне от 0,1 до 100 мг.

В одном из вариантов осуществления изобретения терапевтически эффективная доза соединения преднизолона находится в диапазоне от 0,5 до 50 мг.

В одном из вариантов осуществления изобретения терапевтически эффективная доза соединения гидроксихлорохина находится в диапазоне от 1 до 20 мг.

Терапевтически эффективная доза ингибитора TLR7 может быть введена в виде однократной суточной дозы (q.d.), разделенной и вводимой два раза в день (b.i.d.) или разделенной и вводимой в виде трех или более доз в день.

Терапевтически эффективная доза преднизолона может быть введена в виде однократной суточной дозы (q.d.), разделенной и вводимой два раза в день (b.i.d.) или разделенной и вводимой в виде трех или более доз в день.

Терапевтически эффективная доза гидроксихлорохина может быть введена в виде однократной суточной дозы (q.d.), разделенной и вводимой два раза в день (b.i.d.) или разделенной и вводимой в виде трех или более доз в день.

В одном варианте осуществления изобретения терапевтически эффективную дозу ингибитора TLR7 вводят в виде однократной суточной дозы.

В одном варианте осуществления изобретения терапевтически эффективную дозу соединения формулы (I) вводят в виде однократной суточной дозы.

В одном варианте осуществления изобретения терапевтически эффективную дозу преднизолона вводят в виде однократной суточной дозы.

В одном варианте осуществления изобретения терапевтически эффективную дозу гидроксихлорохина вводят в виде однократной суточной дозы.

В еще одном варианте осуществления изобретения терапевтически эффективную дозу ингибитора TLR7 вводят в виде однократной суточной дозы, и терапевтически эффективную дозу второго агента, выбранного из преднизолона и гидроксихлорохина, вводят в виде однократной дозы. В этот вариант осуществления изобретения включен способ, в котором ингибитор TLR7 и второй агент вводят один раз в день, причем ингибитор TLR7 и второй агент вводят одновременно, или ингибитор TLR7 вводят сразу до или после введения второго агента. Также в этот вариант осуществления изобретения

включен способ, в котором ингибитор TLR7 представляет собой соединение формулы (I). Кроме того, в этот вариант осуществления изобретения включен способ, в котором второй агент представляет собой преднизолон. Кроме того, в этот вариант осуществления изобретения включен способ, в котором второй агент представляет собой гидроксихлорохин.

В одном варианте осуществления изобретения терапевтически эффективную дозу преднизолона вводят в виде однократной суточной дозы.

В одном варианте осуществления изобретения терапевтически эффективную дозу гидроксихлорохина вводят в виде однократной суточной дозы.

В одном варианте осуществления изобретения терапевтически эффективную дозу ингибитора TLR7 вводят два раза в день, а терапевтически эффективную дозу второго агента вводят один или два раза в день. В этот вариант осуществления изобретения включен способ, в котором ингибитор TLR7 представляет собой соединение формулы (I).

В одном варианте осуществления изобретения терапевтически эффективную дозу ингибитора TLR7 вводят два раза в день, и терапевтически эффективную дозу второго агента, выбранного из преднизолона и гидроксихлорохина, вводят два раза в день. В этот вариант осуществления изобретения включен способ, в котором ингибитор TLR7 и второй агент вводят два раза в день, способ, в котором ингибитор TLR7 и второй агент вводят одновременно два раза в день, или ингибитор TLR7 вводят сразу до или после введения второго агента два раза в день. Также в этот вариант осуществления изобретения включен способ, в котором ингибитор TLR7 представляет собой соединение формулы (I). Кроме того, в этот вариант осуществления изобретения включен способ, в котором второй агент представляет собой преднизолон. Кроме того, в этот вариант осуществления изобретения включен способ, в котором второй агент представляет собой гидроксихлорохин.

В другом варианте осуществления изобретения предложен способ лечения пациента, страдающего кожной красной волчанкой, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективной дозы ингибитора TLR7 или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с терапевтически эффективной дозой второго агента, выбранного из преднизолона и гидроксихлорохина или их фармацевтически приемлемых солей, и в комбинации с одним или несколькими дополнительными

третьими агентами. Примеры подходящих третьих агентов включают кортикостероиды, ролипрам, кальфостин, цитокин-супрессивные противовоспалительные препараты (CSAID), интерлейкин-10, глюкокортикоиды, салицилаты, оксид азота и другие иммунодепрессанты; ингибиторы ядерной транслокации, такие как дезоксиспергуалин (DSG); нестероидные противовоспалительные препараты (NSAID), такие как ибупрофен, целекоксиб и рофекоксиб; стероиды, такие как дексаметазон; антипролиферативные средства, такие как метотрексат, лефлуномид, FK506 (такролимус, PROGRAF®); цитотоксические препараты, такие как азатиоприн и циклофосфамид; ингибиторы TNF- α , такие как тенидап, антитела против TNF или растворимый рецептор TNF, и рапамицин (сиролимус или RAPAMUNE®) или их производные. Вышеупомянутые третьи агенты при использовании в комбинации с комбинациями Соединения (I) и второго агента могут применяться, например, в количествах, указанных в *Настольном справочнике врачей (Physicians' Desk Reference - PDR)*, или в иных, определенных специалистом в данной области техники. В способах по настоящему изобретению один или несколько третьих агентов могут быть введены до, одновременно с или после введения Соединения (I) или второго средства.

Исследование кожной красной волчанки у мышей

Материалы и методы

Все экспериментальные процедуры на животных были рассмотрены и одобрены Институциональным комитетом по этике животных (Institutional Animal Ethics Committee - IAEC) и проводились в соответствии с процедурами, установленными Комитетом по контролю и надзору за экспериментами на животных (Committee For The Purpose of Control and Supervision on Experiments on Animals - CPCSEA). Мышей содержали в группах в Лаборатории исследований животных Syngene (Syngene Laboratory Animal Research Facility - SLAR, Бангалор, Индия; аккредитовано AAALAC), где поддерживали нормальный цикл 12 часов света/12 часов темноты со свободным доступом к пище и воде. В конце исследований животных подвергали эвтаназии путем асфиксии CO₂ для сбора плазмы и тканей.

Кожная модель волчанки

Самок MRL/lpr мышей в возрасте от 12 до 14 недель подвергали скринингу и

рандомизировали на основе титров анти-dsДНК антител и липокалина, ассоциированного с желатиназой нейтрофилов (NGAL) в моче. Один раз в день в течение 8 недель мышам перорально вводили носитель (10% этанол, 45% ПЭГ 300, 5% плуроник F-68, 40% 20 мМ цитратный буфер) или различные дозы тестируемого соединения (Соединение (I)) или контрольного соединения (преднизолон). Влияние носителя, тестируемых или контрольных соединений на тяжесть кожного заболевания определяли путем оценки поражений кожи на шее, голове, морде и ухе по отдельности. Тяжесть кожных поражений оценивали каждую неделю путем подсчета количества поражений, а также эритемы (по шкале от 0 до 4, считая за ноль ее отсутствие; 1 - легкая, 2 - умеренная, 3 - от умеренной до тяжелой и 4 - очень выраженная и тяжелая). Такой показатель, как общая эритема, определяли путем сложения показателей эритемы поражений шеи, головы, ушей и морды. Поскольку у самок MRL/lpr мышей в дополнение к кожным поражениям также развивается нефрит, влияние носителя, тестируемых или контрольных соединений на заболевание почек оценивали путем измерения протеинурии, NGAL в моче и титров аутоантител, таких как титры анти-Ro, анти-smRNP и анти-dsДНК антител. За одну неделю до завершения эксперимента у мышей в различные моменты времени брали кровь для фиксации полного фармакокинетического профиля тестируемого или контрольного соединения, а также степени ингибирования гардиквимод-индуцированного IL-6 в *ex vivo* анализе цельной крови. Образцы селезенки отбирали в конце исследования для измерения с помощью проточной цитометрии воздействия лечения на популяцию клеток, продуцирующих IL-6 и IFN α . Экспрессию генов в образцах крови анализировали посредством количественной ПЦР, а захват мишени TLR7 - с использованием гардиквимод-индуцированной продукции IL-6 в *ex vivo* анализе цельной крови. Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа ANOVA с критерием Даннета для расчета значимости групп, обработанных тестируемым или контрольным соединением, по сравнению с контрольной группой, получавшей носитель. Для каждого параметра рассчитывали процент снижения тяжести заболевания для групп, получавших тестируемое или контрольное соединение, по сравнению с контрольной группой, получавшей носитель.

Ингибирование кожных проявлений в MRL/lpr модели волчанки

У самок MRL/lpr мышей кожные поражения развиваются спонтанным образом, что делает их широко распространенной доклинической мышшиной моделью кожной волчанки. В дополнение к кожным проявлениям у этих мышей также присутствует повреждение почек. На этой модели изучали влияние соединения как на поражения кожи, так и на маркеры повреждения почек. В данном исследовании мышей рандомизировали на основании NGAL в моче и титра анти-dsДНК антител. Сразу после отбора мышей лечили Соединением (I) и преднизолоном в течение 8 недель.

Фигура 1: Ингибирование кожных поражений у самок MRL/lpr мышей после лечения Соединением (I). Дозы вводили мышам перорально в течение 8 недель. Затем оценивали кожные поражения на шее (A), голове (B), морде (C) и ухе (D). Влияние лечения на общее количество поражений также было представлено путем суммирования числа поражений на морде, шее, голове и ухе (E). Данные были получены в результате одного эксперимента с 13-15 мышами на группу. *P <0,01, **P <0,001, ***P <0,0001 по сравнению с носителем согласно двухфакторному ANOVA с тестом Бонферрони.

Фигура 2: Лечение самок MRL/lpr мышей Соединением (I) приводило к супрессии эритем кожных поражений. Дозы вводили мышам перорально в течение 8 недель. Эритемы поражений кожи оценивали на шее (A) и ухе (B). Влияние лечения на общую эритему также представлено путем оценки показателей эритематозных поражений кожи на спине, морде, шее, ухе и голове (C). Данные были получены в результате одного эксперимента с 13-15 мышами на группу. *P <0,01, **P <0,001, ***P <0,0001 по сравнению с носителем согласно двухфакторному ANOVA с тестом Бонферрони.

Фигура 3: Ингибирование аутоантител у самок MRL/lpr мышей, которых лечили Соединением (I). Дозы вводили мышам перорально в течение 8 недель с соответствующим лечением. После 8 недель приема оценивали титры анти-dsДНК (A), анти-Ro (B) и анти-smRNP (C) антител. Данные были получены в результате одного эксперимента с 13-15 мышами на группу. Над каждым столбцом показан процент ингибирования относительно группы носителя. *P <0,01, **P <0,001, ***P <0,0001 по сравнению с носителем согласно однофакторному ANOVA с критерием Даннета.

Фигура 4: Ингибирование маркеров повреждения почек у самок MRL/lpr мышей, получавших Соединение (I). Дозы вводили мышам перорально в течение 8 недель с соответствующим лечением. После 8 недель приема оценивали протеинурию (A) и

NGAL в моче (B). Данные были получены в результате одного эксперимента с 13-15 мышами на группу. Над каждым столбцом показан процент ингибирования относительно группы носителя. *P <0,01, **P <0,001, ***P <0,0001 по сравнению с носителем согласно однофакторному ANOVA с критерием Даннета.

Фигура 5: Соединение (I) ингибировало TLR7-зависимую индукцию IL-6 в *ex vivo* анализе у самок MRL/lpr мышей на модели волчанки. Дозы вводили мышам перорально в течение 7 недель с соответствующим лечением. После 7 недель приема у мышей брали цельную кровь в разные моменты времени и подвергали заражению гардиквимодом в течение 16-18 часов. Ингибирование IL-6 оценивали посредством ELISA. Данные были получены в результате одного эксперимента, в котором измерения проводились на группах из трех мышей в каждый момент времени.

Лечение Соединением (I) улучшало выживаемость самок MRL/lpr мышей в модели волчанки по сравнению с носителем .

Таблица 1

| Группы лечения | Доза (мг/кг) | % выживания |
|----------------|--------------|-------------|
| Носитель | NA | 87 |
| Соединение (I) | 0,005 | 87 |
| | 0,02 | 93 |
| | 0,25 | 100 |
| | 0,75 | 100 |
| Преднизолон | 10 | 100 |

Сокращение: NA - не применимо.

Данные в Таблице 1 показывают, что лечение Соединением (I) улучшало выживаемость мышей в этом исследовании. В то время как только 87% мышей, получавших носитель, выжили в течение 8 недель, мыши, получавшие дозы 0,25 и 0,75 мг/кг Соединения (I), достигли 100% выживания.

Как показано на Фигуре 1, Соединение (I) продемонстрировало значительное и надежное дозозависимое подавление кожных проявлений, что оценивалось путем измерения количества поражений на морде, шее, голове и ухе. Влияние лечения на общее количество поражений также было представлено путем суммирования количества поражений на морде, шее, голове и ухе. Кроме того, влияние Соединения (I) также

оценивали путем оценки эритем на шее и ухе и представляли по отдельности. Дополнительно также оценивали общую эритему кожных поражений после оценки эритем кожных поражений на спине, морде, шее, ухе и голове. При лечении Соединением (I) наблюдалось значительное уменьшение эритемы (Фигура 2). Репрезентативные отображения поражений у мышей, получавших Соединение (I), и мышей, получавших носитель, через 8 недель показаны на фигуре 3.

При лечении Соединением (I) у мышей наблюдали дозозависимое ингибирование кожных поражений, в том числе количества поражений, а также эритем поражений. Более высокая эффективность наблюдалась при дозах Соединения (I), составляющих 0,25 мг/кг и 0,75 мг/кг. Эти две дозы приводили к улучшенной выживаемости, 100% по сравнению с 87% выживаемости мышей, получавших носитель. В этих дозах Соединение (I) также продемонстрировало подавление волчаночного нефрита, что оценивали по маркерам повреждения почек, таким как протеинурия и NGAL в моче. Кроме того, в этих двух дозах Соединение (I) демонстрировало значительное подавление титров анти-dsДНК, анти-RO и анти-smRNP аутоантител и ингибировало экспрессию гена IFN типа I.

Комбинированные исследования

Таблица 2

| № | Лечение | Доза (мг/кг) | Число |
|---|------------------------------|-----------------------|-------|
| 1 | Носитель | 5 мл/кг, 1 раз в день | 15 |
| 2 | Соединение (I) | 0,25 | 15 |
| 3 | Преднизолон | 1 | 15 |
| 4 | НСQ | 100 | 15 |
| 5 | Соединение (I) + преднизолон | 0,25 + 1 | 15 |
| 6 | Соединение (I) + НСQ | 0,25 + 100 | 15 |
| 7 | Преднизолон | 10 | 15 |

1. Комбинированные исследования Соединения (I) с преднизолоном и Соединения (I) с гидроксихлорохином (HCQ) на MRL/lpr модели волчанки с установленным заболеванием.

Самок MRL/lpr мышей в возрасте 15 недель лечили в течение 5 недель. Мышей набирали, когда их средние групповые показатели общего поражения кожи достигали от 1,5 до 2. Показатель общего кожного поражения включает суммарные показатели поражений шеи/спины, морды, головы и ушей.

Таблица 3

| № | Лечение | Доза (мг/кг) | % выживания |
|---|------------------------------|-----------------------|-------------|
| 1 | Носитель | 5 мл/кг, 1 раз в день | 93,3 |
| 2 | Соединение (I) | 0,25 | 100 |
| 3 | Преднизолон | 1 | 93,3 |
| 4 | HCQ | 100 | 93,3 |
| 5 | Соединение (I) + преднизолон | 0,25 + 1 | 100 |
| 6 | Соединение (I) + HCQ | 0,25 + 100 | 100 |
| 7 | Преднизолон | 10 | 93,3 |

Фигура 6: Лечение Соединением (I) подавляло общее количество кожных поражений у мышей с установленным заболеванием по сравнению с обработкой носителем. Монотерапия преднизолоном и гидроксихлорохином показала подавление кожных поражений, но меньшее, чем лечение Соединением (I). Лечение комбинацией Соединение (I) + преднизолон и комбинацией Соединение (I) и гидроксихлорохин показало повышенную супрессию по сравнению с монотерапией гидроксихлорохином и 1 мкг преднизолона.

Фигура 7: Лечение Соединением (I) подавляло эритему кожных поражений на шее мышей с установленным заболеванием по сравнению с носителем. Монотерапия

преднизолоном и гидроксихлорохином показала подавление эритемы кожных поражений на шее мышей. Лечение комбинацией Соединение (I) + преднизолон и комбинацией Соединение (I) и гидроксихлорохин показало подавление эритемы кожных поражений на шее у мышей.

Фигура 8: Лечение Соединением (I) подавляло эритему кожных поражений на ушах мышей с установленным заболеванием по сравнению с носителем. Монотерапия преднизолоном и гидроксихлорохином показала подавление эритемы кожных поражений на ушах мышей, но меньшее, чем лечение Соединением (I). Лечение комбинацией Соединение (I) + преднизолон и комбинацией Соединение (I) и гидроксихлорохин показало повышенное подавление эритемы кожных поражений по сравнению с монотерапией гидроксихлорохином и 1 мкг преднизолона.

Фигура 9: Лечение Соединением (I) подавляло общую эритему кожных поражений у мышей с установленным заболеванием по сравнению с носителем. Монотерапия преднизолоном и гидроксихлорохином показала подавление общей эритемы кожных поражений у мышей. Лечение комбинацией Соединение (I) + преднизолон и комбинацией Соединение (I) и гидроксихлорохин показало подавление общей эритемы кожных поражений у мышей.

Фигура 10: Лечение Соединением (I) показало подавление маркеров повреждения почек – протеинурии и липокалина, ассоциированного с нейтрофил-1-желатиназой (NGAL) в моче при установленном заболевании. Монотерапия преднизолоном или гидроксихлорохином показала подавление протеинурии, маркера повреждения почек. Комбинация Соединения (I) с преднизолоном и комбинация Соединения (I) с гидроксихлорохином продемонстрировали повышенное подавление протеинурии, маркера повреждения почек.

Фигура 11: Лечение Соединением (I) показало подавление маркера повреждения почек, NGAL в моче, при установленном заболевании. Монотерапия преднизолоном или гидроксихлорохином показала подавление маркера повреждения почек, NGAL в моче. Комбинация Соединения (I) с преднизолоном и комбинация Соединения (I) с гидроксихлорохином показала повышенное подавление маркера повреждения почек, NGAL, в моче.

2. Комбинированные исследования Соединения (I) с преднизолоном и Соединения (I) с гидроксихлорохином (HCQ) на MRL/Lprg модели волчанки –заболевание на поздних стадиях

Самок MRL/Lprg мышей в возрасте 16 недель лечили в течение 5 недель. Мышей отбирали, когда их средние групповые показатели общего поражения кожи достигали от 2 до 2,5. Показатель общего кожного поражения включает суммарные показатели поражений шеи/спины, морды, головы и ушей. В Таблице 4 показано лечение, дозы и количество мышей в каждой группе лечения.

Таблица 4

| № | Лечение | Доза (мг/кг) | % выживания |
|---|------------------------------|------------------------|-------------|
| 1 | Носитель | 5 мл/кг, 1 раз в сутки | 80 |
| 2 | Соединение (I) | 0,25 | 93,3 |
| 3 | Преднизолон | 1 | 86,6 |
| 4 | HCQ | 100 | 100 |
| 5 | Соединение (I) + преднизолон | 0,25 + 1 | 100 |
| 6 | Соединение (I) + HCQ | 0,25 + 100 | 100 |
| 7 | Преднизолон | 10 | 93,3 |

Фигура 12: Лечение Соединением (I) подавляло общее количество кожных поражений у мышей на поздней стадии заболевания по сравнению с обработкой носителем. Монотерапия преднизолоном и гидроксихлорохином показала подавление кожных поражений, но меньшее, чем лечение Соединением (I). Лечение комбинацией Соединение (I) + преднизолон и комбинацией Соединение (I) + гидроксихлорохин показало повышенную супрессию по сравнению с монотерапией гидроксихлорохином и 1 мкг преднизолона.

Фигура 13: Лечение Соединением (I) подавляло эритемы кожных поражений на шее мышей на поздних стадиях заболевания по сравнению с носителем. Монотерапия

преднизолоном показала подавление эритемы кожных поражений на шее мышей. Лечение комбинацией Соединение (I) + преднизолон показало подавление эритемы кожных поражений на шее мышей.

Фигура 14: Лечение Соединением (I) подавляло эритемы кожных поражений на шее мышей на поздних стадиях заболевания по сравнению с носителем. Монотерапия гидроксихлорохином показала подавление эритемы кожных поражений на шее мышей. Лечение Соединением (I) и лечение комбинацией Соединение (I) + гидроксихлорохин показали повышенное подавление эритем кожных поражений на шее мышей по сравнению с лечением гидроксихлорохином.

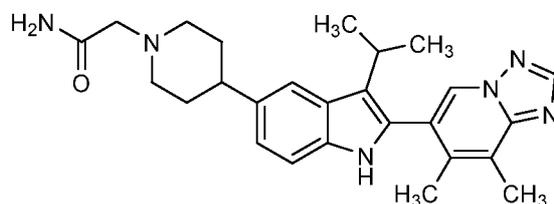
Фигура 15: Лечение Соединением (I) подавляло эритемы кожных поражений на ушах мышей на поздних стадиях заболевания по сравнению с носителем. Монотерапия преднизолоном и гидроксихлорохином показала подавление эритем кожных поражений на ушах мышей, но меньшее, чем лечение Соединением (I). Лечение комбинацией Соединение (I) + преднизолон и комбинацией Соединение (I) + гидроксихлорохин показало повышенное подавление эритем кожных поражений по сравнению с монотерапией гидроксихлорохином и 1 мкг преднизолона.

Фигура 16: Лечение Соединением (I) подавляло общую эритему кожных поражений у мышей на поздних стадиях заболевания по сравнению с носителем. Монотерапия преднизолоном и гидроксихлорохином показала подавление общей эритемы кожных поражений у мышей. Лечение комбинацией Соединение (I) + преднизолон и комбинацией Соединение (I) + гидроксихлорохин показало подавление общей эритемы кожных поражений у мышей по сравнению с монотерапией гидроксихлорохином и 1 мкг преднизолона.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения пациента, страдающего кожной красной волчанкой, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективной дозы ингибитора TLR7 или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с терапевтически эффективной дозой второго агента, выбранного из преднизолона и гидроксихлорохина, или его фармацевтически приемлемой соли.

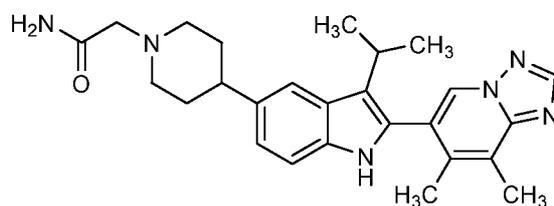
2. Способ по п.1, отличающийся тем, что указанный ингибитор TLR7 представляет собой:



или его фармацевтически приемлемую соль.

3. Способ по п.1, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективной дозы ингибитора TLR7 или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с терапевтически эффективной дозой преднизолона или его фармацевтически приемлемой соли.

4. Способ по п.3, отличающийся тем, что указанный ингибитор TLR7 представляет собой:

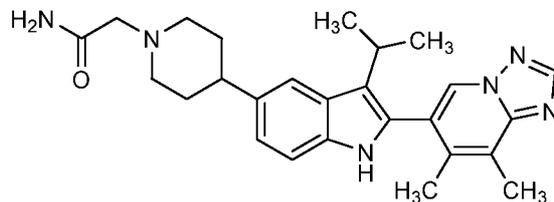


или его фармацевтически приемлемую соль.

5. Способ по п.1, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективной дозы ингибитора TLR7 или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с терапевтически эффективной дозой гидроксихлорохина или его

фармацевтически приемлемой соли.

6. Способ по п.3, отличающийся тем, что указанный ингибитор TLR7 представляет собой:



или его фармацевтически приемлемую соль.

7. Способ по п.1, отличающийся тем, что указанная терапевтически эффективная доза указанного ингибитора TLR7 составляет от 0,1 до 100 мг в сутки.

8. Способ по п.1, отличающийся тем, что указанная терапевтически эффективная доза указанного преднизолона составляет от 0,5 до 50 мг в сутки.

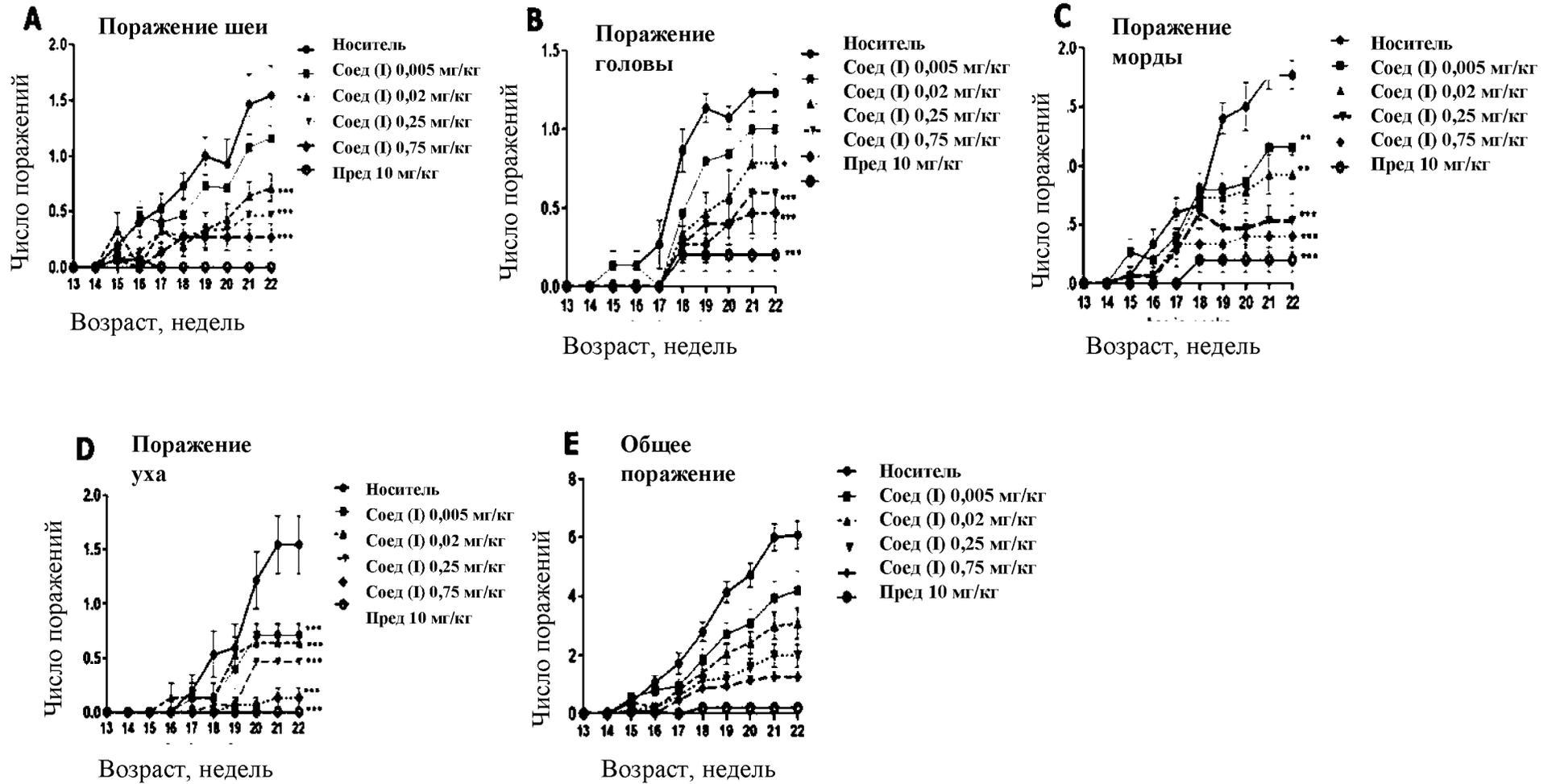
9. Способ по п.1, отличающийся тем, что указанная терапевтически эффективная доза указанного гидроксихлорохина составляет от 1 до 20 мг в сутки.

10. Способ по п.1, отличающийся тем, что указанный ингибитор TLR7 и указанный второй агент вводят одновременно.

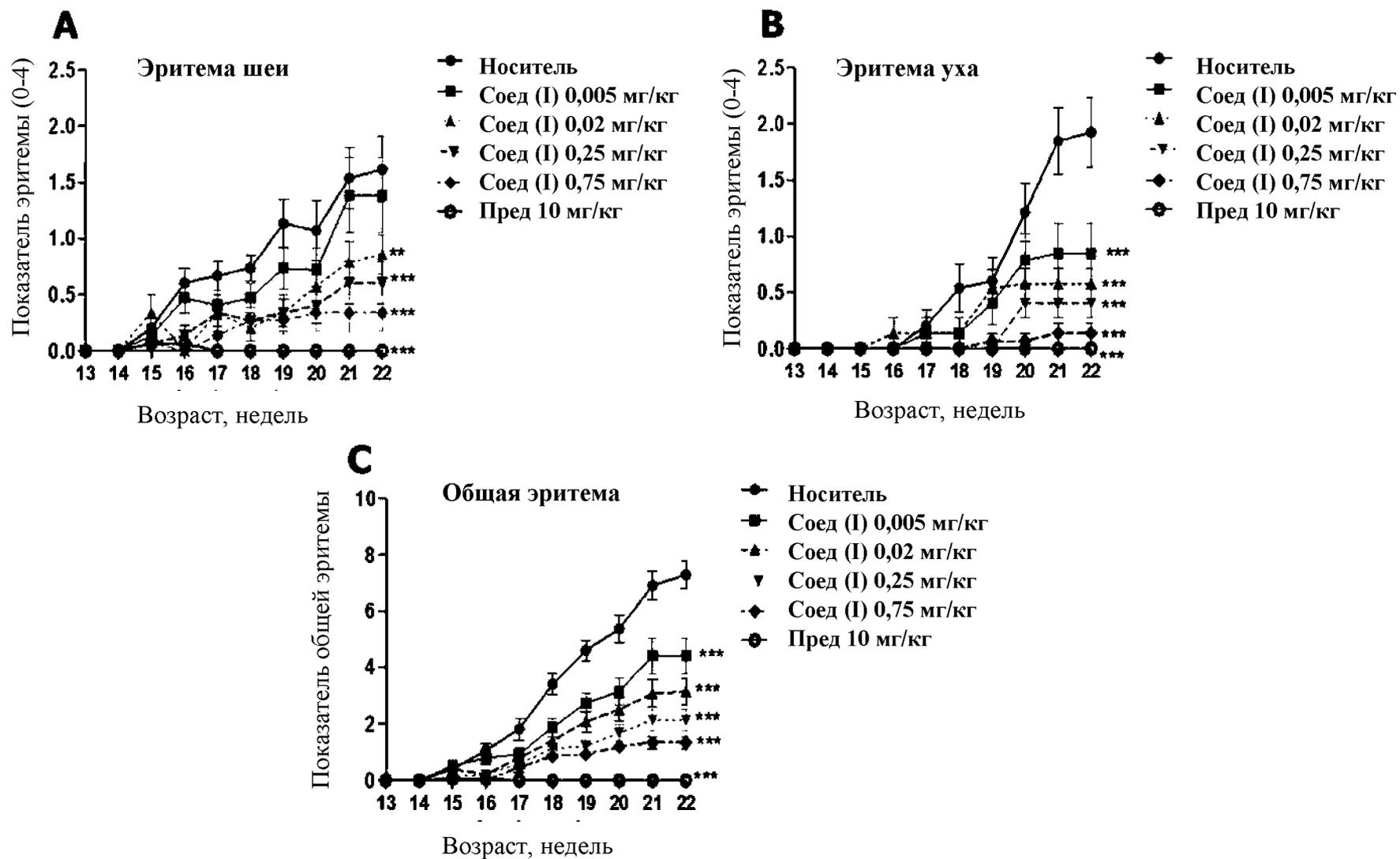
11. Способ по п.1, отличающийся тем, что указанный ингибитор TLR7 и указанный второй агент вводят последовательно.

12. Способ по п.1, отличающийся тем, что указанный ингибитор TLR7 вводят до введения указанного второго агента.

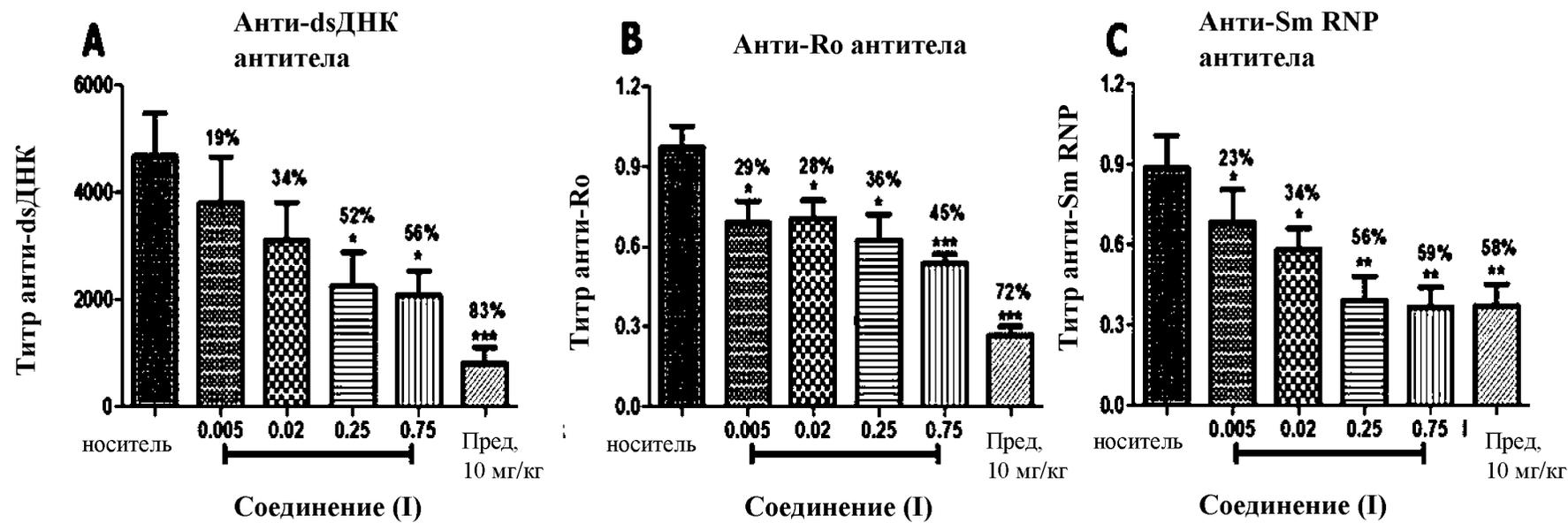
13. Способ по п.1, отличающийся тем, что указанный второй агент вводят до введения указанного ингибитора TLR7.



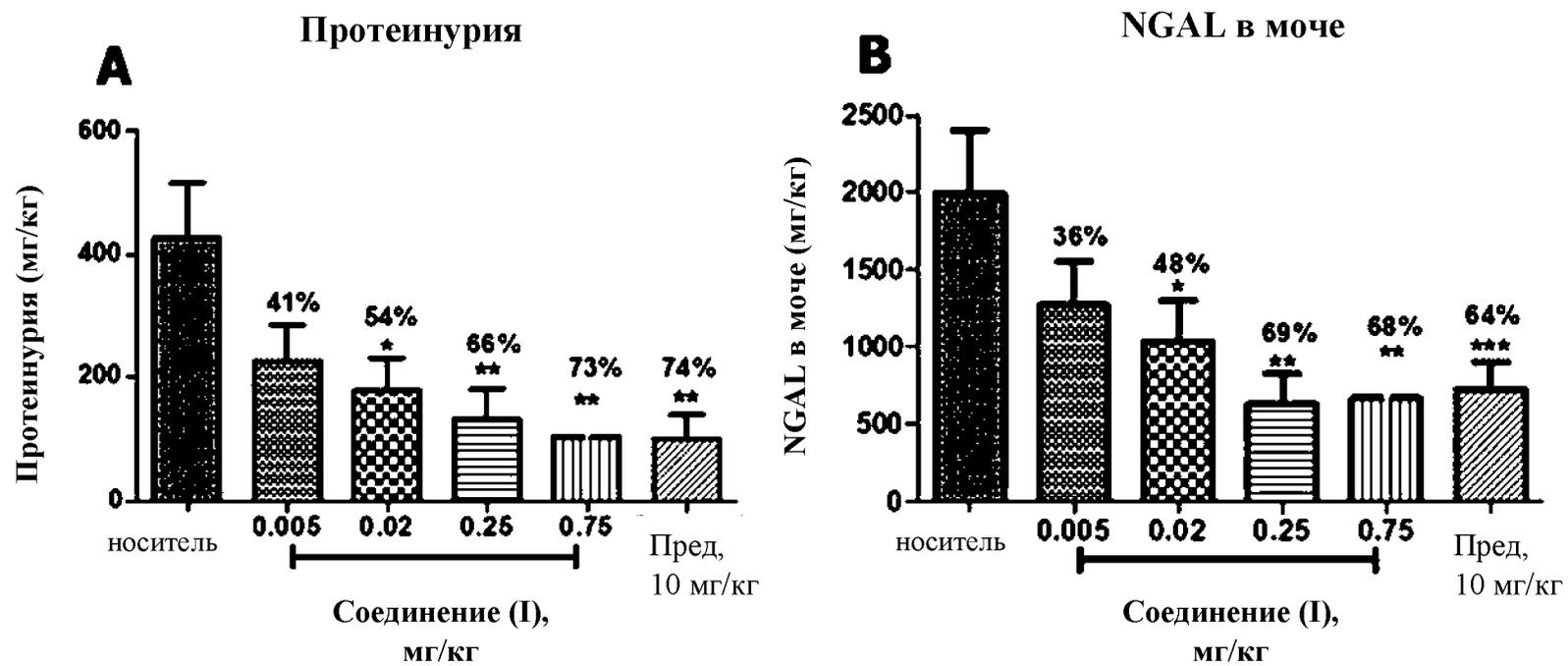
Фиг.1



Фиг.2

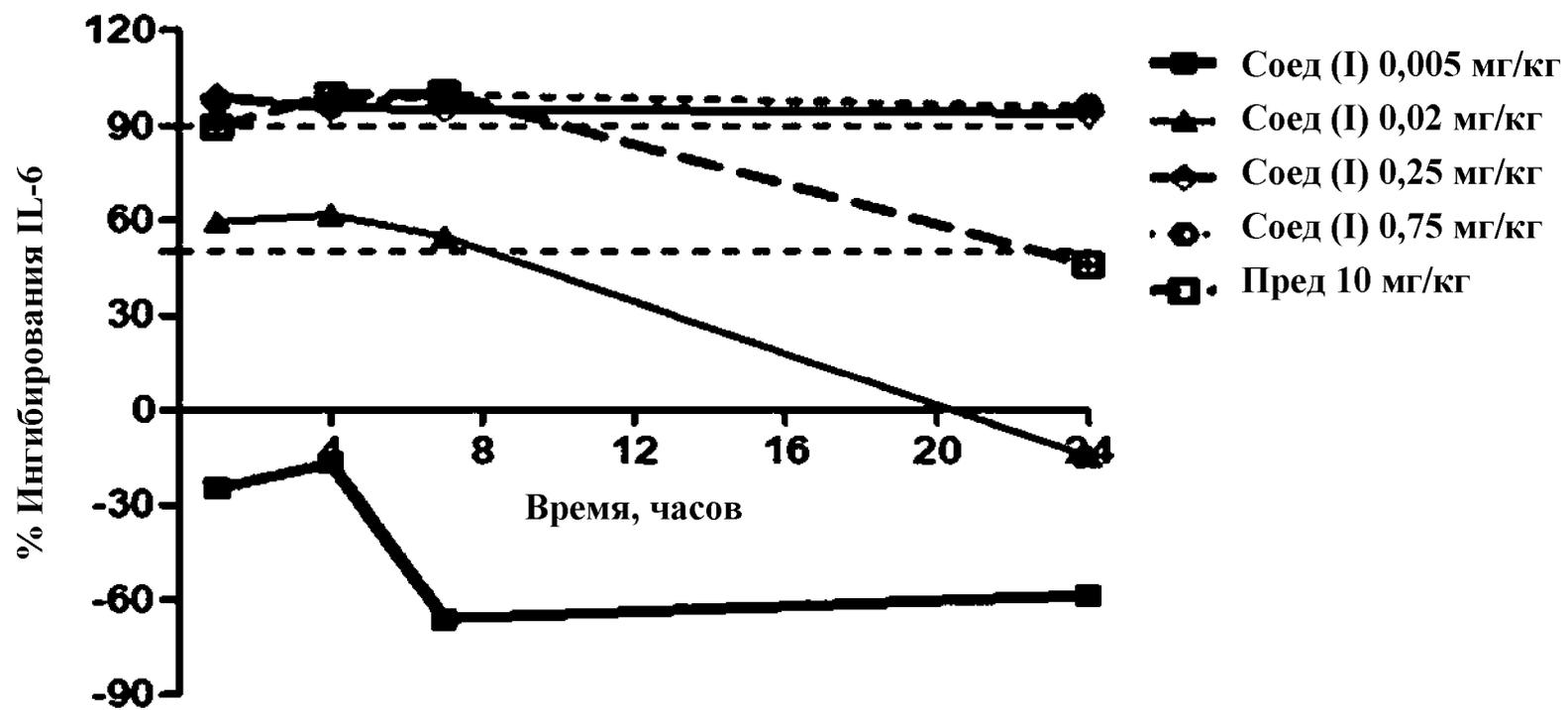


Фиг.3



Фиг.4

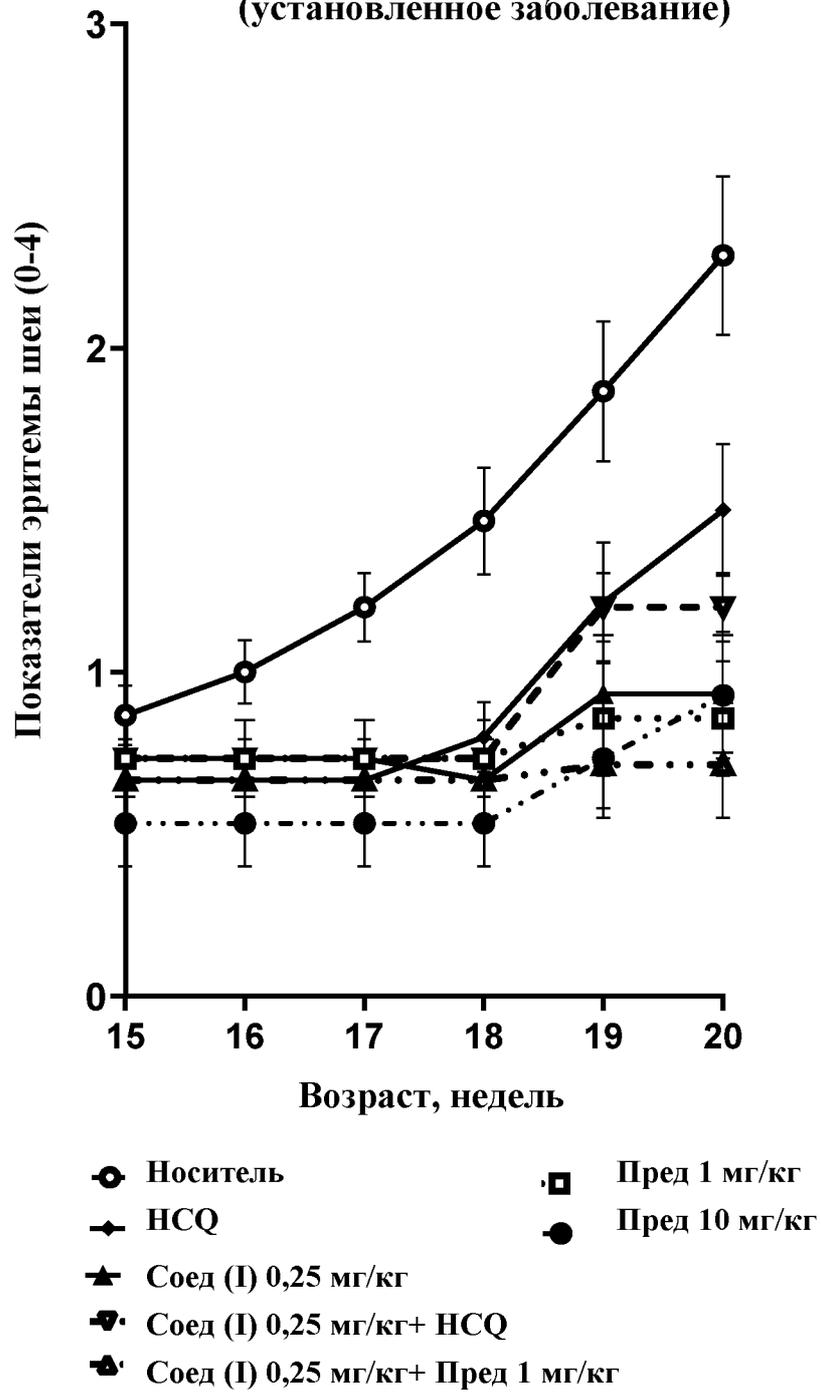
Ингибирование IL-6



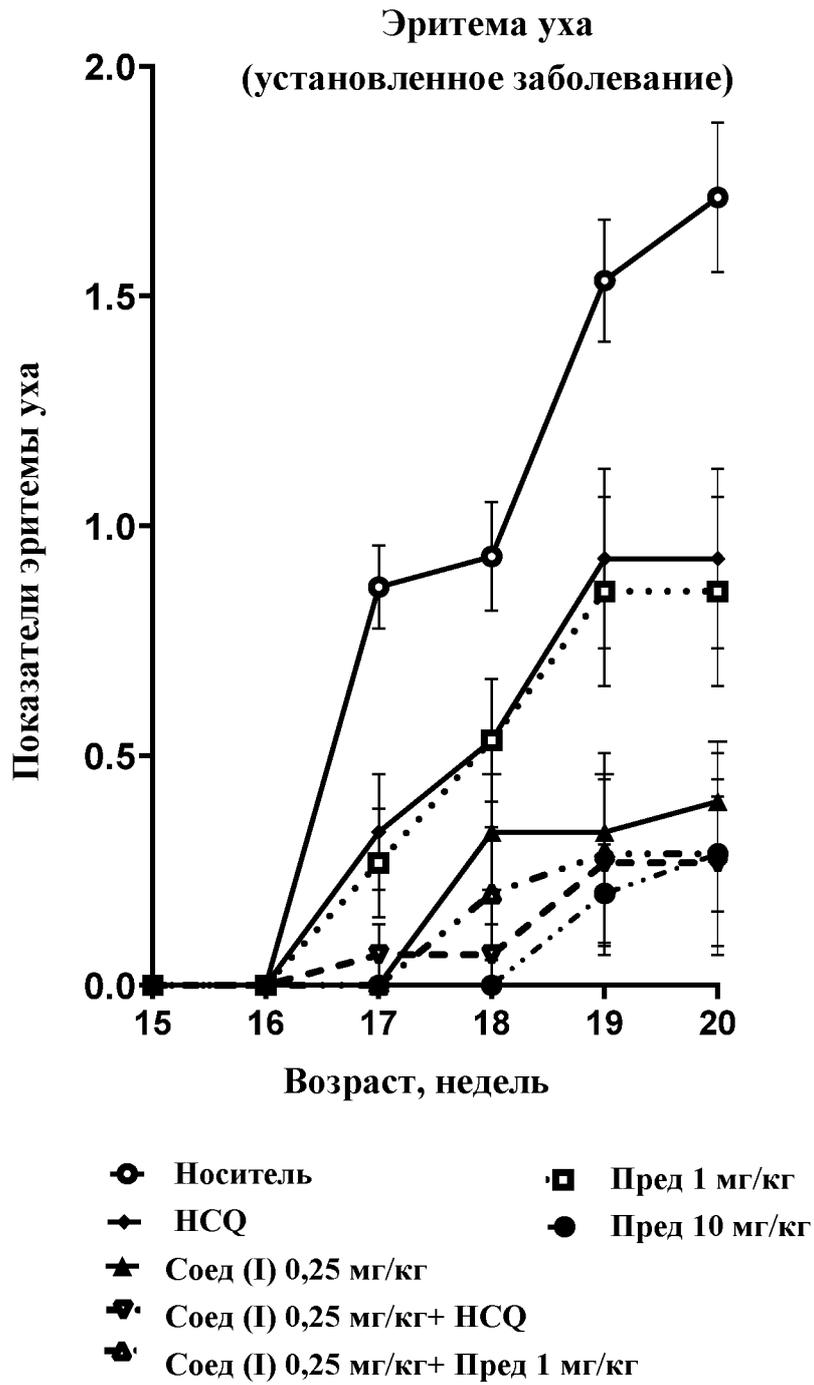
Фиг.5

Эритема шеи

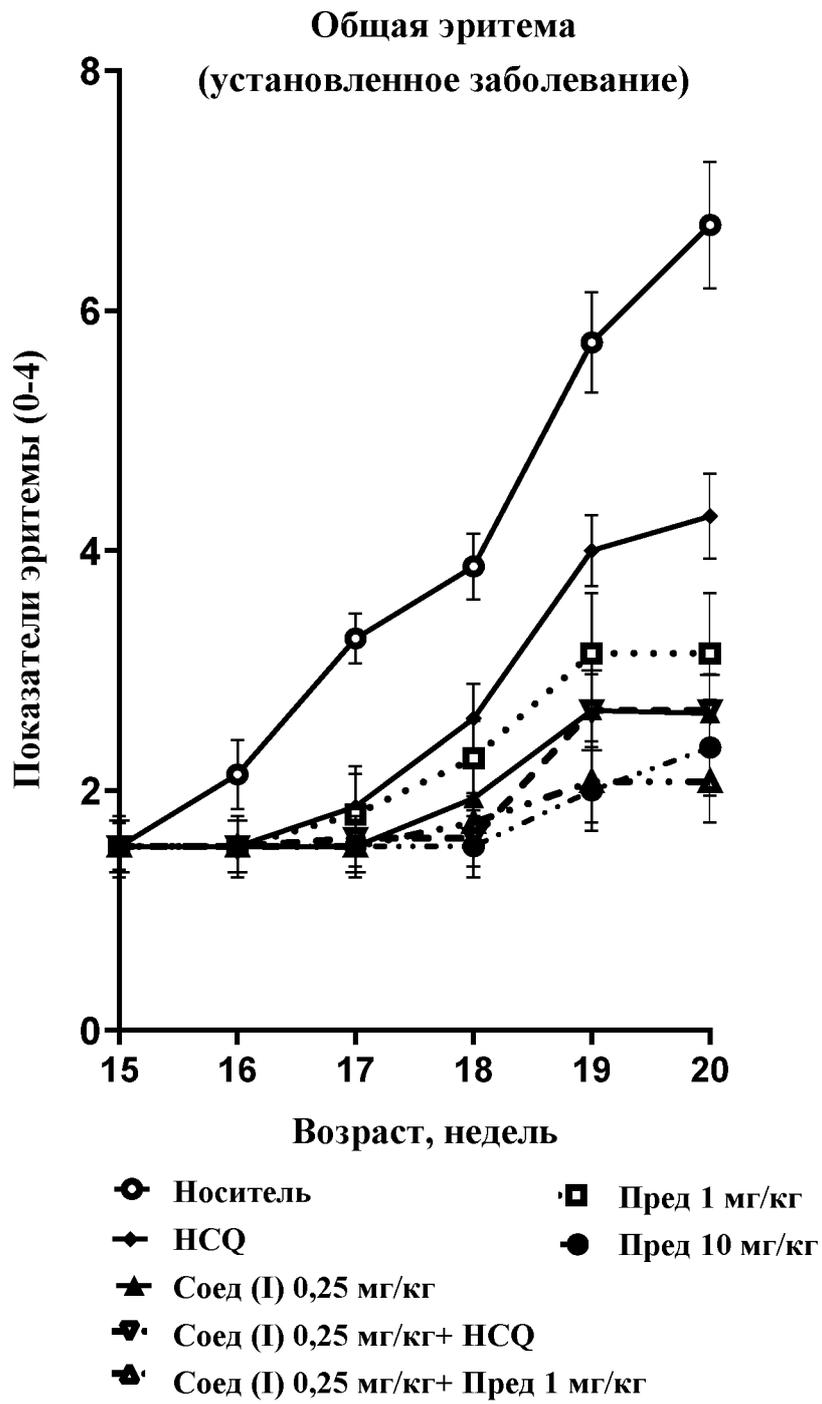
(установленное заболевание)



Фиг.7

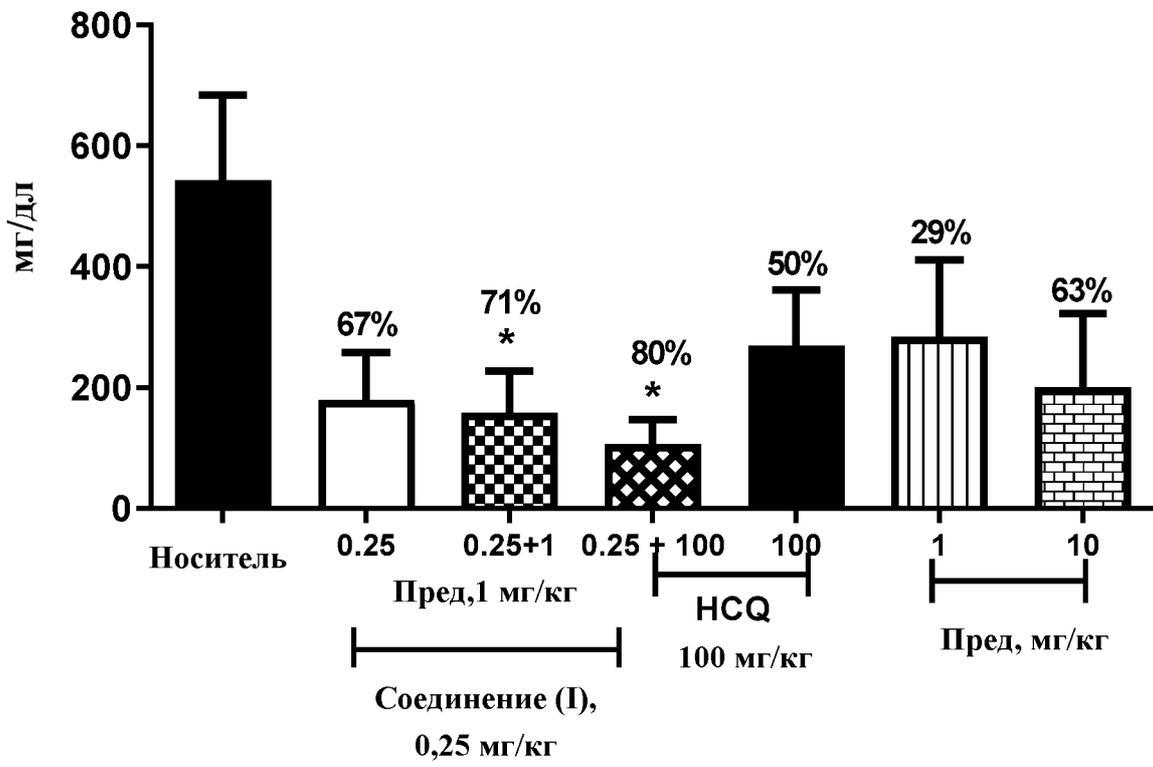


Фиг.8

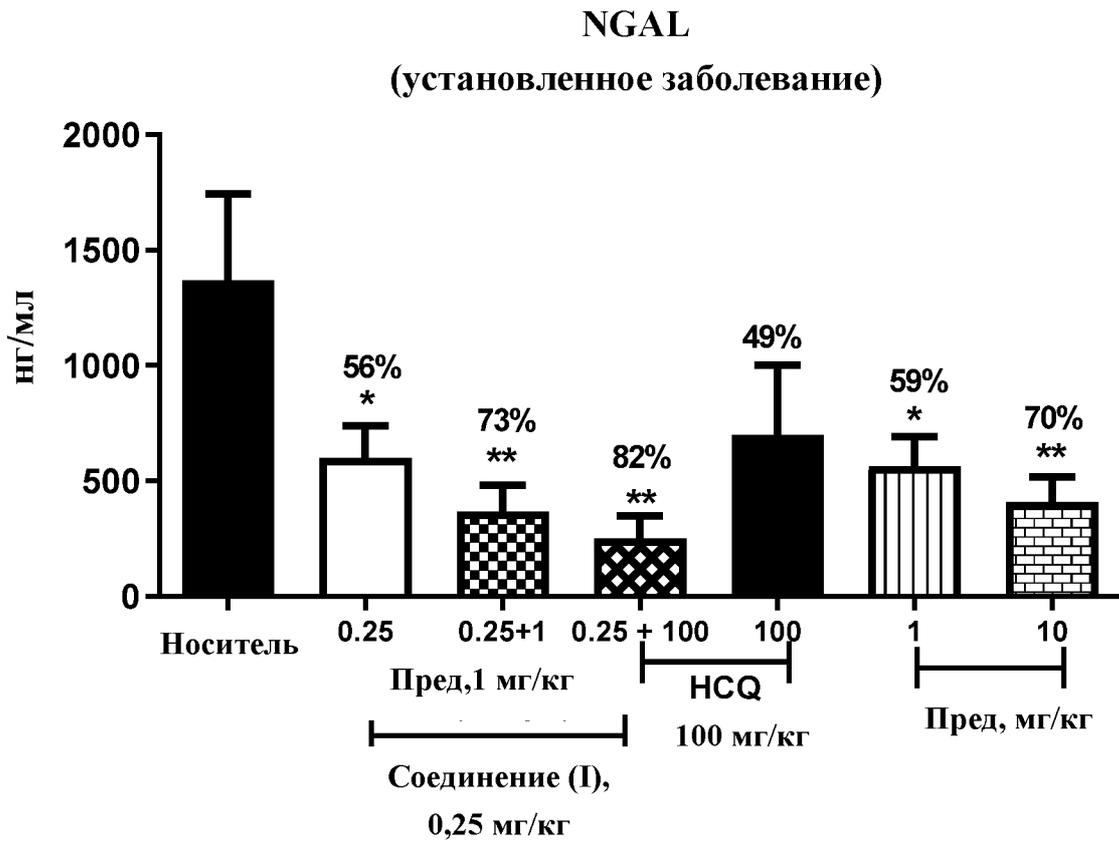


Фиг.9

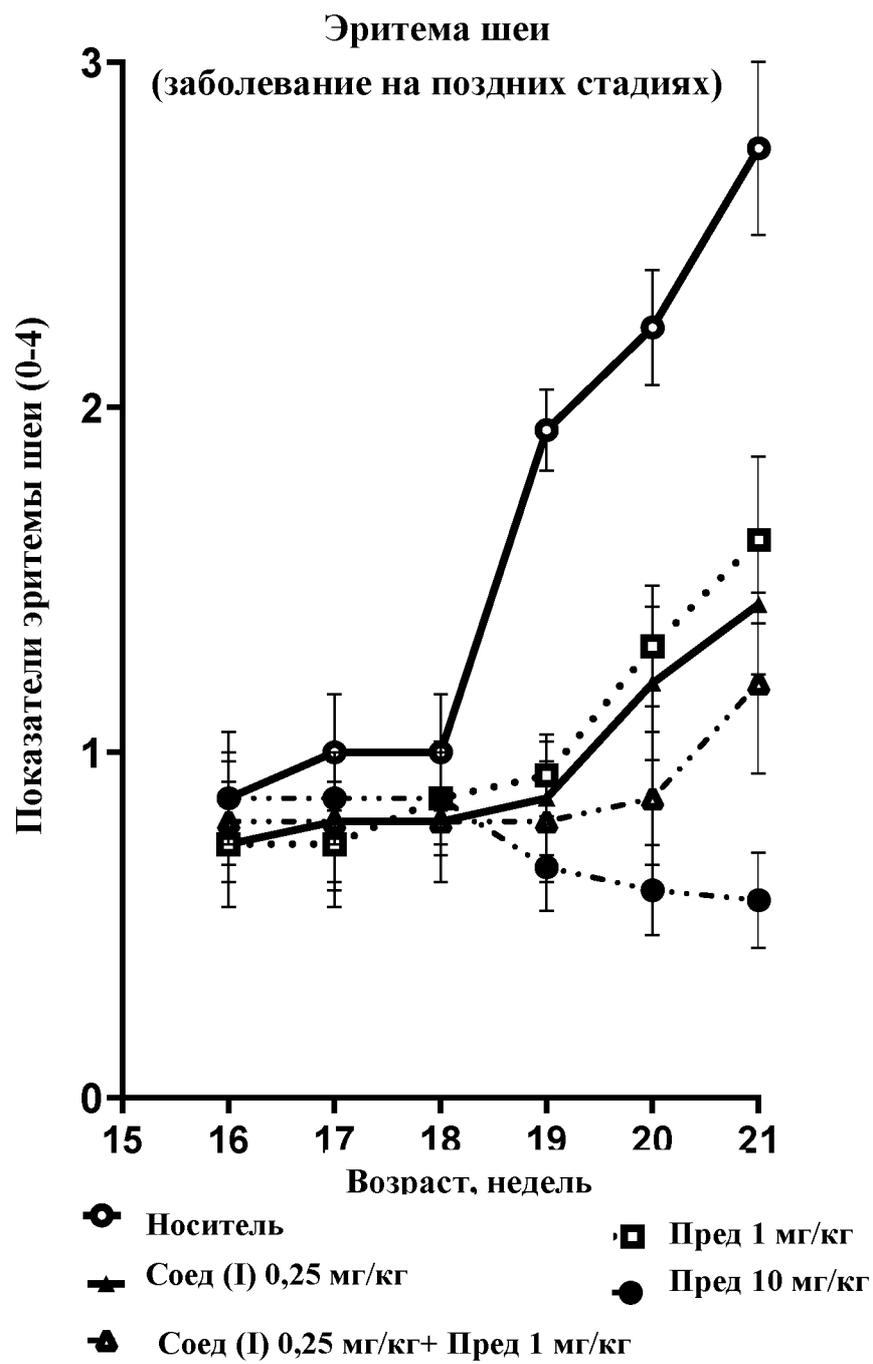
Протеинурия
(установленное заболевание)



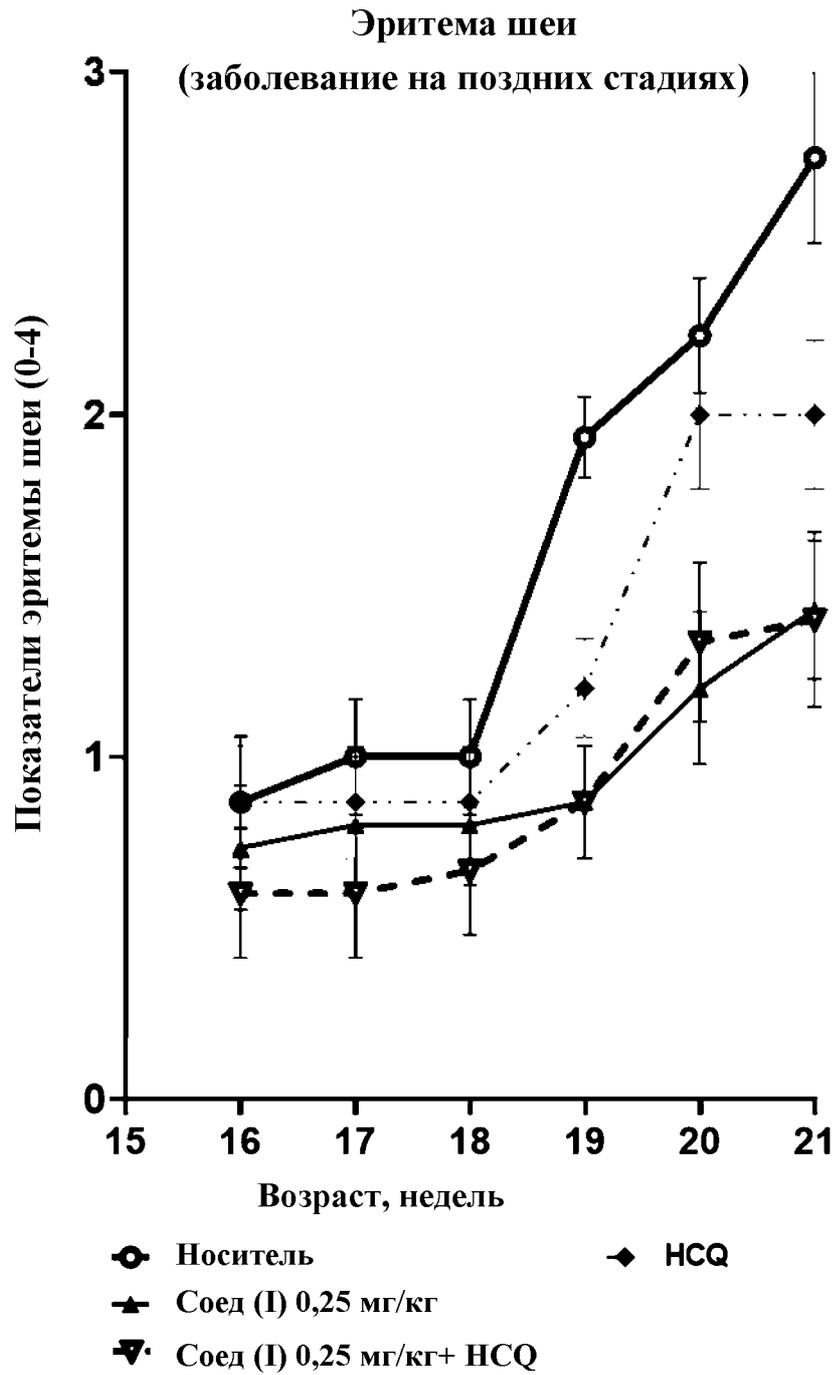
Фиг.10



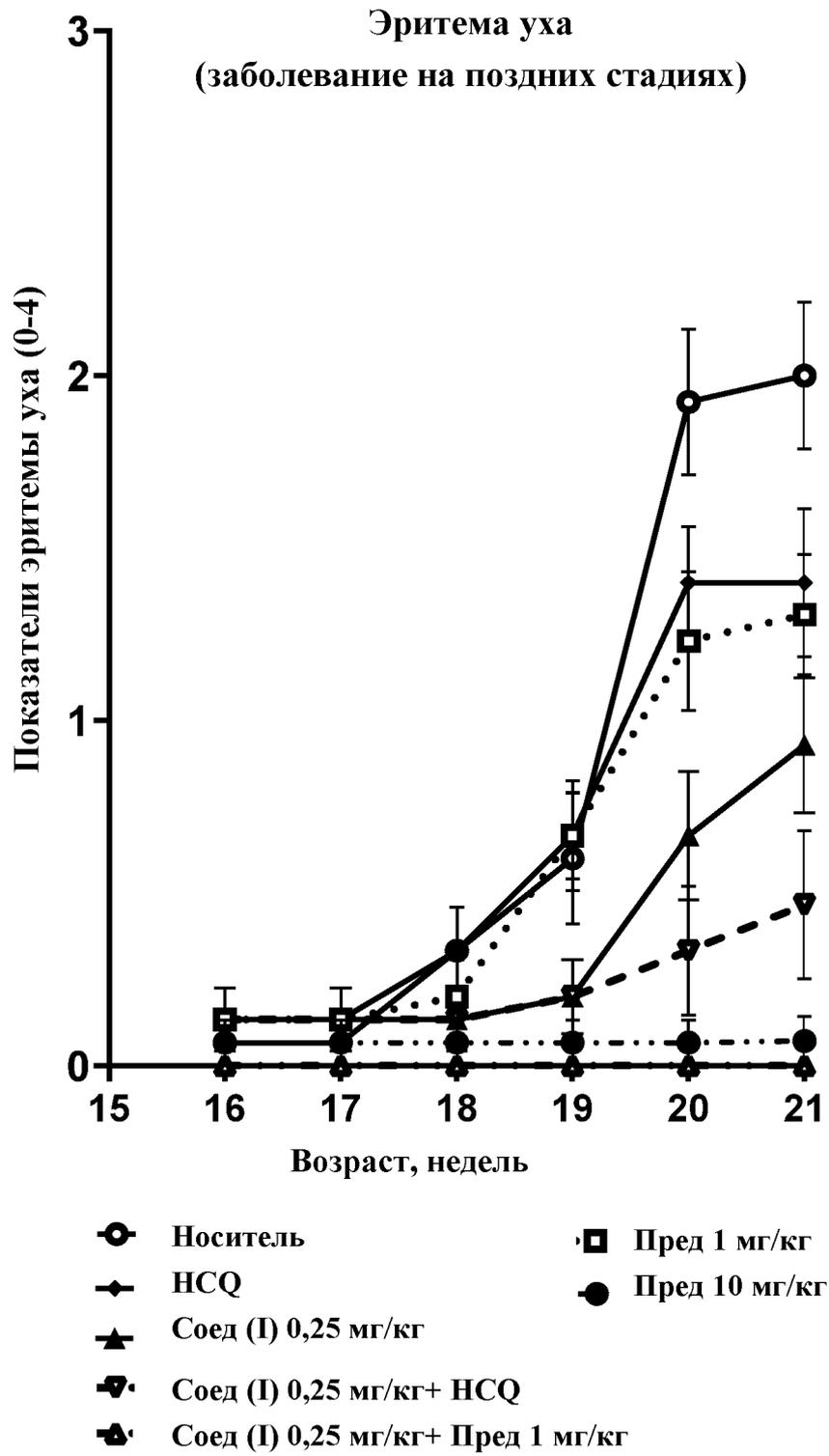
Фиг.11



Фиг.13



Фиг.14



Фиг.15

