



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115867268 A

(43) 申请公布日 2023.03.28

(21) 申请号 202180029650.7

(22) 申请日 2021.04.20

(30) 优先权数据

20170729.6 2020.04.21 EP

20184031.1 2020.07.03 EP

21164552.8 2021.03.24 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.10.20

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2021/060191 2021.04.20

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/214033 EN 2021.10.28

(71) 申请人 埃慕尼克股份公司

地址 德国格雷费尔芬

(72) 发明人 曼弗雷德·格洛佩尔

丹尼尔·维特 赫拉·科霍夫

安德烈亚斯·穆勒

(74) 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限
责任公司 11219

专利代理师 刘慧 金海霞

(51) Int.Cl.

A61K 31/196 (2006.01)

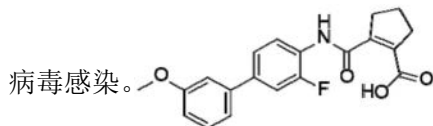
权利要求书2页 说明书30页

(54) 发明名称

用于治疗或预防病毒性疾病的维多氟拉迪
莫

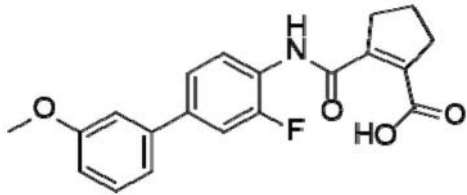
(57) 摘要

本发明涉及一种式(I)所示的化合物、或其盐、溶剂合物和/或水合物,其中所述化合物抑制二氢乳清酸脱氢酶(DHODH),用于治疗 and 预防病毒感染。优选实例是由冠状病毒、特别是乙型冠状病毒、更特别是SARS-CoV-2及其变异型引起的



式(I)

1. 一种式(I)所示的化合物,



式(I)

其药学上可接受的盐、溶剂合物、盐的溶剂合物、水合物或多晶型物,用于在哺乳动物受试者如人中预防和/或治疗由冠状病毒的病毒感染引起的疾病。

2. 根据权利要求1所述用途的化合物,其中所述病毒感染由乙型冠状病毒如HCoV-OC43、SARS-CoV-1、HCoV-HKU1、MERS-CoV或SARS-CoV-2引起。

3. 根据权利要求1或2所述用途的化合物,其中所述疾病选自呼吸道疾病、急性呼吸道疾病、败血症、急性呼吸窘迫综合征以及不良免疫反应(例如细胞因子风暴),特别是所述疾病的中度至严重病例,其中所述疾病优选选自SARS-CoV-2、特别是COVID-19引起的疾病,如急性呼吸窘迫综合征、败血症、急性呼吸窘迫综合征以及不良免疫反应如细胞因子风暴。

4. 根据权利要求1至3中任一项所述用途的化合物,其中所述预防和/或治疗与以下组合:其它DHODH抑制剂和/或标准抗病毒疗法(SAT),例如选自至少一种神经氨酸酶抑制剂(例如奥司他韦、扎那米韦),法匹拉韦,瑞德西韦,利巴韦林(三氮唑核苷),干扰素 α -2b/全身用利巴韦林,干扰素 α 2a或2b,包括其任何聚乙二醇化型式,氯喹或羟氯喹(与阿齐霉素组合给药),度鲁特韦+利匹韦林(JULUCA®),度鲁特韦+拉米夫定(DOVATO®),利托那韦+洛匹那韦(KALETRA®),比克替拉韦+替诺福韦艾拉酚胺+恩曲他滨(BIKTARVY®),度鲁特韦+阿巴卡韦+拉米夫定(TRIUMEQ®),艾维雷韦+考比司他+恩曲他滨+替诺福韦艾拉酚胺(GENVOYA®)以及艾维雷韦+考比司他+恩曲他滨+富马酸替诺福韦二吡酯+恩曲他滨(STRIBILD®)。

5. 根据权利要求4所述用途的化合物,其中标准抗病毒疗法(SAT)包含至少瑞德西韦。

6. 根据权利要求4或5所述用途的化合物,其中DHODH抑制剂的有效量与标准抗病毒疗法(SAT)的有效量的比率,也称为DHODH抑制剂/SAT,是0.1至10、0.2至10、0.2至1、或1至10。

7. 根据权利要求1至6中任一项所述用途的化合物,其中所述化合物作为合适的药物组合物如片剂、胶囊、颗粒剂、粉剂、囊剂、可重构粉剂、干粉吸入剂和/或可咀嚼剂提供。

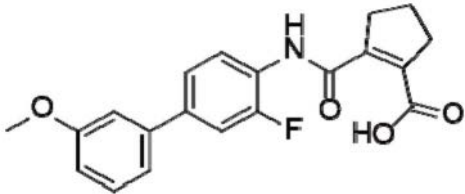
8. 根据权利要求1至7中任一项所述用途的化合物,其中所述化合物以有效剂量施用于所述受试者,例如每天45mg,作为22.5mg BID服用,早上在餐前15-60分钟,和晚上在餐后至少2小时。

9. 根据权利要求1至8中任一项所述用途的化合物,其中在检测到感染后立即或在感染后5至14天之间,优选在感染后5至11天之间,更优选在感染后7至11天对所述受试者施用所述化合物。

10. 根据权利要求1至8中任一项所述用途的化合物,其中对于预防而言,在检测到感染之后立即或在感染后8至24小时之间,优选在感染后10至20小时之间,更优选在感染后12至16小时对所述受试者施用所述化合物。

11. 根据权利要求1至10中任一项所述用途的化合物,其中所述预防和/或治疗还包括在所述受试者中监测选自以下的至少一个生物标志物:平均病毒载量、使用RT-PCR测试得到的鼻咽或呼吸道样品的定性病毒学清除率、D-二聚体、LDH、C-反应蛋白(CRP)、IL-17、IFN- γ 、IL-1 β 、IL-6、TNF α 、血清转化率以及IgM和IgG中和抗体。

12. 一种在哺乳动物受试者如人中预防和/或治疗由冠状病毒引起的病毒感染的方法,所述方法包括向所述哺乳动物施用有效量的式(I)所示的化合物,



式(I)

其药学上可接受的盐、溶剂合物、盐的溶剂合物、水合物或多晶型物。

13. 根据权利要求12所述的方法,其中所述病毒感染由乙型冠状病毒如HCoV-OC43、SARS-CoV-1、HCoV-HKU1、MERS-CoV或SARS-CoV-2引起。

14. 根据权利要求12或13所述的方法,其中所述预防和/或治疗方法与以下组合:其它DHODH抑制剂和/或标准抗病毒疗法(SAT),例如选自至少一种神经氨酸酶抑制剂(例如奥司他韦、扎那米韦),法匹拉韦,瑞德西韦,利巴韦林(三氮唑核苷),干扰素 α -2b/全身用利巴韦林,干扰素 α 2a或2b,包括其任何聚乙二醇化型式,氯喹或羟氯喹(与阿齐霉素组合给药),度鲁特韦+利匹韦林(JULUCA[®]),度鲁特韦+拉米夫定(DOVATO[®]),利托那韦+洛匹那韦(KALETRA[®]),比克替拉韦+替诺福韦艾拉酚胺+恩曲他滨(BIKTARVY[®]),度鲁特韦+阿巴卡韦+拉米夫定(TRIUMEQ[®]),艾维雷韦+考比司他+恩曲他滨+替诺福韦艾拉酚胺(GENVOYA[®])以及艾维雷韦+考比司他+恩曲他滨+富马酸替诺福韦二吡酯+恩曲他滨(STRIBILD[®])。

15. 根据权利要求14所述的方法,其中标准抗病毒疗法(SAT)包含至少瑞德西韦。

16. 根据权利要求14或15所述的方法,其中DHODH抑制剂的有效量与标准抗病毒疗法(SAT)的有效量的比率,也称为DHODH抑制剂/SAT,是0.1至10、0.2至10、0.2至1、或1至10。

17. 根据权利要求12至16中任一项所述的方法,其中所述化合物以有效剂量施用于所述受试者,例如每天45mg,作为22.5mg BID服用,早上在餐前15-60分钟,和晚上在餐后至少2小时。

18. 根据权利要求12至17中任一项所述的方法,其中在检测到感染后立即或在感染后5至14天之间,优选在感染后5至11天之间,更优选在感染后7至11天对所述受试者施用所述化合物。

19. 根据权利要求12至17中任一项所述的方法,其中对于预防而言,在检测到感染之后立即或在感染后8至24小时之间,优选在感染后10至20小时之间,更优选在感染后12至16小时对所述受试者施用所述化合物。

用于治疗或预防病毒性疾病的维多氟拉迪莫

技术领域

[0001] 本发明涉及一种式 (I) 所示的化合物或其盐、溶剂合物和/或水合物,其中所述化合物抑制二氢乳清酸脱氢酶 (DHODH),用于治疗 and 预防病毒感染,所述病毒感染优选由冠状病毒引起。本发明特别涉及由冠状病毒,特别是由乙型冠状病毒及其变异型引起的病毒感染。

背景技术

[0002] 乙型冠状病毒 (β -CoV或乙型CoV) 是巢病毒目冠状病毒科中正冠状病毒亚科的四个冠状病毒属之一。它们是人畜共患病起源的包膜正义单链RNA病毒。

[0003] 继20世纪60年代描述的人冠状病毒229E (HCoV-229E) (分类为甲型冠状病毒属) 和 HCoV-OC43 (乙型冠状病毒2a谱系成员) 之后,2003年3月出现的SARS-CoV-1 (乙型冠状病毒2b谱系成员)、2004年描述的HCoV-NL63 (甲型冠状病毒1b谱系成员)、2005年发现的HCoV-HKU1 (乙型冠状病毒2a谱系成员),最后是2012年出现的MERS-CoV (分类为乙型冠状病毒2c谱系成员),这种新型冠状病毒是迄今描述为导致呼吸道感染的第七种人冠状病毒。有证据迅速报告称,患者感染了暂定名为2019新型冠状病毒 (2019-nCoV) 的新型乙型冠状病毒。尽管采取了严厉的遏制措施,但2019-nCoV (现正式称为严重急性呼吸综合征冠状病毒2 (SARS-CoV-2)) 的传播仍在继续。对该病毒的系统发育分析表明它与SARS-CoV-1不同 (约80%核苷酸同一性) 但有关。Mavrodiev等人 (doi.org/10.1101/2020.10.17.343749) 描述了冠状病毒的分类和分类学,特别聚焦于SARS-CoV-2。

[0004] 2020年3月11日,世界卫生组织 (WHO) 宣布了严重急性呼吸综合征冠状病毒2 (SARS-CoV-2) 感染 (导致冠状病毒疾病2019,COVID-19) 大流行。主要临床症状包括发热、咳嗽、肌痛或疲劳、咳痰以及呼吸困难。虽然大多数患者没有经历严重症状,但一项荟萃分析发现,约18%的病例是重症。目前的死亡率估计为约0.5%至10%。

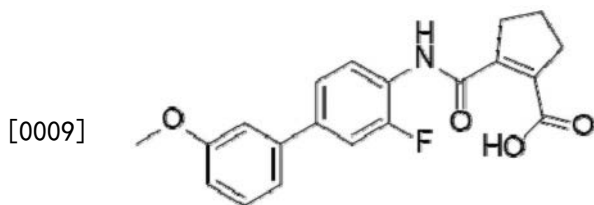
[0005] 似乎COVID-19有两个不同但重叠的病理亚型,第一个是由病毒本身触发,第二个是由宿主反应触发。初始阶段发生在接种和疾病早期形成时。对大部分人来说,这涉及与轻微且通常非特异性症状,如不适、发热和干咳相关的潜伏期。据报告,在这一阶段,病毒在上呼吸道复制。这一阶段的治疗主要以缓解症状为目标。在已形成的肺部疾病的第二阶段,病毒增殖和肺内局部炎症是常态。在这一阶段,患者会出现病毒性肺炎,伴有咳嗽、发热,可能还伴有缺氧。治疗主要由支持性措施和可用的抗病毒疗法组成。如果出现缺氧 (IIb期),患者很可能发展到需要机械通气,在这种情况下,使用抗炎治疗可能有用。少数COVID-19患者将转入第三阶段,也是疾病的最严重阶段,表现为肺外全身性高炎症综合征。在这一阶段,包括细胞因子和白介素在内的全身炎症标志物似乎升高。在这一阶段,可辨别休克、血管麻痹、呼吸衰竭甚至心肺衰竭。全身器官受累,甚至心肌炎也会在这一阶段出现。第III阶段的定制治疗依赖于使用免疫调节剂,在全身炎症压倒性地导致多器官功能障碍之前减轻全身炎症。

[0006] 截至2020年3月,尚没有疫苗可用,尽管许多药理干预措施正在进行临床研究,但

尚未确定任何药物的明确功效。基于从MERS和SARS疫情吸取的教训,缺乏能够具有泛冠状病毒抗病毒活性的药物增加了公共卫生系统对高致病性冠状病毒大流行的脆弱性(《药物发现专家观点》(Expert Opin.Drug.Discov.) 2019;14:397)。

[0007] 安万特公司(Aventis)以商品名ARAVA (EP 780128,WO 97/34600)向市场投放了一种以新作用机制对抗类风湿性关节炎的药物来氟米特。来氟米特具有免疫调节以及抗炎性能[EP 217206、DE 2524929]。作用机制是基于对嘧啶生物合成酶二氢乳清酸脱氢酶(DHODH)的抑制作用。另一种靶向DHODH的药物是特立氟胺(AUBAGIO®),它是来氟米特的代谢物。特立氟胺在一些国家被批准用于治疗多发性硬化。

[0008] 维多氟拉迪莫(式I) (2-((3-氟-3'-甲氧基-[1,1'-联苯]-4-基)氨基甲酰基)环戊-1-烯甲酸)是一种口服可用的DHODH抑制剂,与其它已知药物(包括来氟米特和特氟米特)没有结构相似性。维多氟拉迪莫的游离酸形式和钙盐制剂(维多氟拉迪莫钙)已经针对各种免疫相关适应症进行了临床试验。这两种制剂都依赖于相同的体内活性物质(维多氟拉迪莫),因此这两种制剂具有相同的作用机制、药理学和毒理学。已经在健康志愿者和患有不同免疫介导疾病的患者中研究了维多氟拉迪莫和维多氟拉迪莫钙的安全性。



式(I)。

[0010] WO 2003/006424和WO 2003/006425描述了某些具体化合物,据报告,这些化合物可用于治疗和预防疾病,在抑制DHODH方面有优势。WO 2010/128050描述了使用这些化合物作为广泛抗病毒药物,特别是人巨细胞病毒(hCMV)、人免疫缺陷病毒(HIV)、丙肝病毒(HCV)、乙肝病毒(HBV)和流感病毒,而WO 2015/154820描述了使用类似化合物作为抗病毒剂,特别是腺病毒、人疱疹病毒(HHV)、水痘带状疱疹病毒(VZV)、单纯疱疹病毒(HSV)、牛痘病毒或BK病毒。这两个申请没有提到冠状病毒。WO 2012/001148描述了抑制DHODH的式(I)化合物的钙盐及其制备(实施例4)。WO 2012/001151描述了式(I)所示的化合物的其它盐。WO 2019/175396描述了维多氟拉迪莫的新白色结晶钙盐及其溶剂合物和水合物(指定为“多晶型物A”)、其制备方法、包含其的组合物及其用于治疗慢性炎症和/或自身免疫疾病的用途。WO 2019/101888公开了维多氟拉迪莫(或其盐)用于预防或治疗慢性炎症和/或自身免疫疾病的给药方案。

[0011] Muehler等人(《药物研发》(Drugs R D) 2019;19:351)报告了维多氟拉迪莫在类风湿性关节炎患者中的II期试验(成分试验)的安全性数据,这是一项随机、双盲、安慰剂对照研究,在RA受试者中评估了维多氟拉迪莫35mg相较于安慰剂对甲氨蝶呤背景疗法的功效、安全性和药代动力学。在优先权日期之后,公开了以下数据:Muehler等人(《欧洲药物代谢和药代动力学杂志》(Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.) 2020;45:557)描述了维多氟拉迪莫钙在健康男性受试者中的安全性、耐受性和药代动力学。Muehler等人(《多发性硬化及相关疾病》(Mult. Scler. Relat. Disord.) 2020;43:102129)描述了使用维多氟拉迪莫钙治疗复发缓解型多发性硬化。

[0012] 提交之后,出现了其它数据:Kim等人(《病毒》(Viruses) 2020;12:821)描述了维多氟拉迪莫对哺乳动物病毒的抗病毒活性。Hahn等人(《病毒》(Viruses) 2020;12:1394)描述了维多氟拉迪莫的抗SARS-CoV-2和广谱抗病毒功效。

[0013] De Julian-Ortiz等人(《药物化学杂志》(J.Med.Chem.) 1999;42:3308)描述了具有环戊烯酸部分的某些潜在抗疱疹化合物。

[0014] Xiong等人(《蛋白质与细胞》(Protein Cell) 2020;11:723)首次描述了抑制DHODH以治疗RNA病毒,包括SARS-CoV-2,其他小组也提到了类似的结果,例如帕诺泰斯有限公司(新闻稿)的PP-001。然而,没有提到维多氟拉迪莫为DHODH抑制剂。在优先权日期之后,出现了关于DHODH抑制剂的其它数据,例如针对MEDS433的Calistri等人(doi.org/10.1101/2020.12.06.412759)或针对PTC299的Luban等人(《病毒研究》(Virus Res.) 2021;292:198246)。

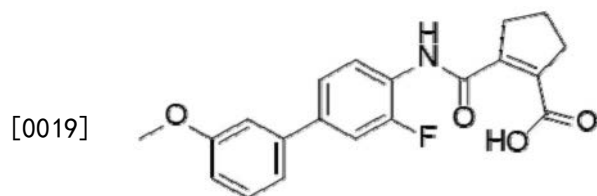
发明内容

[0015] 本发明的一个目标在于提供可用于预防和治疗可以通过抑制DHODH加以治疗/预防的病毒感染,特别是冠状病毒感染的有效剂。当研究本发明的发明描述时,技术人员将显而易见其它目标和优点。

[0016] 虽然对抗冠状病毒感染的大部分工作集中在针对病毒靶点的药物和疫苗,但探索能够减少对病毒遗传漂变(即,变异)的依赖性并与标准治疗抗病毒疗法协同作用的靶向宿主细胞因子的其它治疗选项特别重要。考虑到这一点,如本文提供的DHODH抑制剂提供了一种非常有前景的方法,所述方法是通过三种互补机制攻击疾病:a)通过耗尽核苷酸池来抑制病毒复制;b)通过不依赖干扰素信号传导进行DHODH抑制来诱导先天免疫反应;以及c)抑制“过度反应性”细胞因子高产免疫细胞。

[0017] 在人体中,DHODH催化细胞代谢特别必需的嘧啶类物质的合成。抑制DHODH导致阻断了代谢激活细胞中敏感基因的转录,而具有正常代谢活性的细胞则从嘧啶挽救途径获得其所需的嘧啶构建块,并显示出正常的转录活性。疾病相关的代谢激活淋巴细胞依赖于从头嘧啶合成,对DHODH抑制的反应特别敏感。一些抑制DHODH的物质是治疗慢性炎症和自身免疫疾病的重要药物。

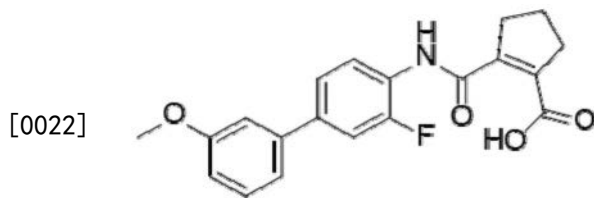
[0018] 在本发明的第一方面,这一目标的解决方式是通过式(I)所示的化合物(维多氟拉迪莫,IMU-838),



式(I)

[0020] 其药学上可接受的盐、溶剂合物、盐的溶剂合物、水合物或多晶型物,用于在哺乳动物受试者如人中预防和/或治疗由病毒感染引起的疾病。

[0021] 一个具体实施方式是式(I)所示的化合物,



式(I)

[0023] 其药学上可接受的盐、溶剂合物、盐的溶剂合物、水合物或多晶型物,用于在哺乳动物受试者如人中预防和/或治疗由冠状病毒的病毒感染引起的疾病。

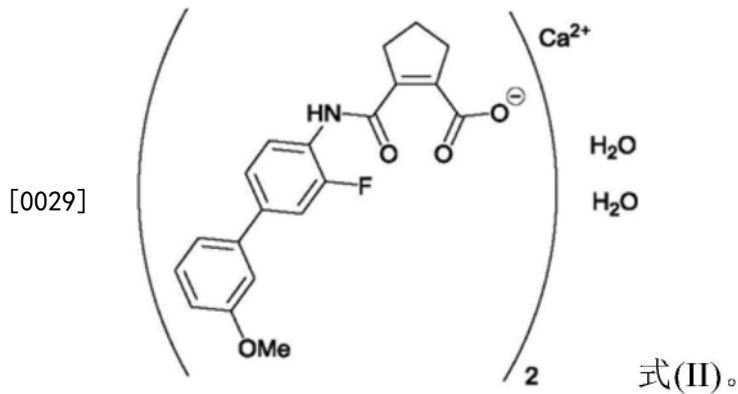
[0024] 药学上可接受的盐对技术人员是已知的,例如列出在P.H.Stahl和C.G.Wermuth(编),药用盐手册:性质、选择和使用(Handbook of Pharmaceutical Salts:Properties, Selection and Use),Weinheim/Zürich:Wiley-VCH/VHCA,2002中。在本发明的上下文中,药学上可接受的盐是生理上可接受的盐。

[0025] 令人惊讶地,发现式(I)所示的化合物(维多氟拉迪莫,IMU-838)作为DHODH抑制剂是有效的,与其它抗病毒治疗选项相比,表现出许多优点。它靶向宿主细胞(由此提供广谱抗病毒活性),阻断了病毒复制并克服了潜在病毒诱变。此外,它可以直接作用于感染细胞中的病毒复制。靶向毒性因子如细胞因子特别有益于晚期和更严重病例。DHODH抑制只对高度激活的免疫细胞和感染的细胞有选择性,因此不会导致使用抗代谢物和核苷类似物所见的广泛和难以管控的副作用。与已批准的DHODH抑制剂来氟米特和特立氟胺相比,式(I)所示的化合物不会击中其它脱靶蛋白,如EGFR或Aurora-A激酶。因此,还基于优异的药代动力学轮廓和极好的安全性轮廓,维多氟拉迪莫代表了用于病毒感染,特别是乙型冠状病毒感染,特别是中度至严重SARS-CoV-2病例的方便口服治疗选项。特别地,维多氟拉迪莫在人中已经显示出了极好的30小时血浆半衰期,这使得该药物在患者(如人)中迅速达到有效浓度。相比之下,来氟米特的血浆半衰期是16至19天,其达到治疗低谷水平的剂量给药可能需要长达2个月,这对于病毒感染的急性疾病来说不可行。

[0026] 在本发明的上下文中,术语“维多氟拉迪莫”应包括式(I)所示的化合物的游离酸形式及其药学上可接受的盐形式,如钙、钾、镁、胆碱或钠盐。该术语还应该包括药学上可接受的溶剂合物、水合物、盐的溶剂合物、晶体和多晶型物。优选维多氟拉迪莫钙或维多氟拉迪莫胆碱。

[0027] “IMU-838”(也称为“维多氟拉迪莫钙”)是维多氟拉迪莫钙盐,包括药学上可接受的溶剂合物、水合物、晶体和多晶型物。

[0028] IMU-838的优选结构是2-(((3-氟-3'-甲氧基(1,1'-联苯)-4-基)氨基)羰基)-1-环戊烯-1-甲酸钙盐二水合物(2:1),结构如下:



[0030] IMU-838的“多晶型物A”是式(II)的白色结晶材料,如WO 2019/175396所述对其进行表征。在一个特殊实施方式中,IMU-838的“多晶型物A”通过X射线粉末绕射图进行表征,特征峰在 5.91° 、 9.64° 、 16.78° 、 17.81° 、 19.81° 和 25.41° 的 2θ ($\pm 0.2^\circ$)处。在一个特定的特殊实施方式中,IMU-838的“多晶型物A”如WO 2019/175396的图1所述进行表征。

[0031] 优选根据本发明使用所述化合物,其中所述病毒感染是通过RNA病毒。RNA病毒可以是单链或双链的,优选包括在哺乳动物如人中引起疾病的病毒。优选实例是HIV、HCV、埃博拉病毒、轮状病毒、寨卡病毒、脊髓灰质炎病毒、鼻病毒、甲肝病毒、麻疹病毒、腮腺炎病毒、RSV、狂犬病毒、拉沙病毒、汉坦病毒或流感病毒,特别是单链RNA病毒,如HCoV-229E、HCoV-NL63或特别优选的乙型冠状病毒,如HCoV-OC43、SARS-CoV-1、HCoV-HKU1、MERS-CoV或SARS-CoV-2。

[0032] 一个特殊的实施方式是根据本发明使用的化合物,其中所述病毒感染是由RNA病毒引起。RNA病毒可以是单链或双链的,优选包括在哺乳动物如人中引起疾病的病毒。优选实例是单链RNA病毒如HCoV-229E、HCoV-NL63或特别优选的乙型冠状病毒如HCoV-OC43、SARS-CoV-1、HCoV-HKU1、MERS-CoV或SARS-CoV-2。

[0033] 一个特别特殊的实施方式是根据本发明使用的化合物,其中所述病毒感染是由乙型冠状病毒如HCoV-OC43、SARS-CoV-1、HCoV-HKU1、MERS-CoV或SARS-CoV-2引起。

[0034] 一个甚至更特殊的实施方式是根据本发明使用的化合物,其中所述病毒感染是由SARS-CoV-2或SARS-CoV-2的变异型引起。

[0035] 一个特殊实施方式是根据本发明使用的化合物,其中所述病毒感染是由SARS-CoV-2的变异型引起。

[0036] 一个更特殊的实施方式是根据本发明使用的化合物,其中所述病毒感染是由SARS-CoV-2的变异型引起,其中所述毒株选自B.1.1.7、B.1.351、P.1和B.1.617。

[0037] 一个最特殊的实施方式是根据本发明使用的化合物,其中所述病毒感染是由SARS-CoV-2引起。

[0038] 已经针对若干种RNA和DNA病毒,如埃博拉、HIV、HCV、hCMV和流感描述了DHODH抑制的抗病毒作用。甚至已经证明,虽然其它抗病毒药物能够在感染后长达4小时内抑制病毒感染,但DHODH抑制剂在体外测定中在感染后长达12至16小时内仍有效(Hoffmann等人,《美国国家科学院院刊》(Proc.Natl.Acad.Sci.) 2011;108:5777;Wang等人,《病毒学杂志》(J.Virol.) 2011;85:6548)。已经报告了DHODH抑制剂的直接以及间接抗病毒作用。这些作用都与阻断嘧啶从头合成有关。在直接途径中,嘧啶新合成的减少干扰了病毒转录和复制。

[0039] 然而, Lucas-Hourani 等人(《公共科学图书馆病原体》(PLoS Pathog.) 2013;9:e1003678) 报告了主要抗病毒作用可能反而是通过由于嘧啶合成减少导致的诱导或扩增干扰素刺激的基因的间接作用。这些基因大部分在宿主对病毒的先天免疫防御中发挥作用。有趣的是, 虽然这些基因通常由干扰素诱导, 但DHODH抑制剂上调这些基因与干扰素无关。

[0040] Xiong 等人(《蛋白质与细胞》(Protein Cell) 2020;11:723) 提出, 在体外细胞研究中, DHODH抑制剂对SARS-CoV-2病毒具有强活性。所测试的DHODH抑制剂是来氟米特/特立氟胺和布喹那。然而, 由于不良药代动力学轮廓(来氟米特/特立氟胺) 和毒性(布喹那), 这些药物被认为不合作为急性抗病毒治疗。有趣的是, 在感染A型流感病毒(WSN或2009大流行H1N1病毒) 的小鼠中, 单独用DHODH抑制剂治疗时的晚期存活率是50%, 而用组合疗法(DHODH抑制剂+奥司他韦) 治疗时是100%。

[0041] 根据本发明, 哺乳动物受试者可以优选选自小鼠、大鼠、猫、狗、兔、山羊、绵羊、马、骆驼、羊驼、奶牛、猴、农场动物、竞技动物以及宠物和人。在一个特殊实施方式中, 物种是人。

[0042] 所述受试者感染了病毒, 已经暴露于病毒, 或者有暴露于病毒的风险。

[0043] 根据本发明, 所述化合物用于病毒感染, 因此用于治疗 and/或预防相关疾病或综合征, 例如AIDS、肝炎、埃博拉、脊髓灰质炎、腹泻、麻疹、腮腺炎、狂犬病、拉沙热病、病毒性流感、呼吸道疾病、急性呼吸道疾病、败血症、急性呼吸窘迫综合征和不良免疫反应, 特别是所述疾病的中度至严重病例, 其中所述疾病优选选自SARS-CoV-2、特别是COVID-19引起的疾病, 如急性呼吸道疾病、败血症、急性呼吸窘迫综合征以及不良免疫反应, 如细胞因子风暴。

[0044] 根据本发明使用的化合物, 其中所述疾病选自呼吸道疾病、急性呼吸道疾病、败血症、急性呼吸窘迫综合征以及不良免疫反应(例如细胞因子风暴), 特别是所述疾病的中度至严重病例, 其中所述疾病优选选自SARS-CoV-2、特别是COVID-19引起的疾病, 如急性呼吸窘迫综合征、败血症、急性呼吸窘迫综合征以及不良免疫反应, 如细胞因子风暴。

[0045] “治疗(treatment或treating)”意指对哺乳动物的疾病或病症的任何治疗, 包括: 预防或防止所述疾病或病症, 即, 使疾病的临床症状不发生; 抑制所述疾病, 即, 阻止或抑制临床症状的发展; 和/或缓解所述疾病, 即, 使临床症状消退。“改善”意指预防、减轻或缓解受试者的状态或改善受试者的状态; 改善应激是抵消应激的消极方面。改善包括但不要求完全恢复或完全预防应激。

[0046] 术语“有机酸衍生物”意指羧酸部分可以作为游离酸或“前药”存在, 所述前药本身可以有生物活性或无活性但在其体内停留时间过程中转化(例如代谢或水解)为根据本发明的化合物。前药的一个实例是羧酸的乙基酯。

[0047] 术语“药学上可接受的盐”(也称为“生理上可接受的盐”)是指由药学上可接受的碱, 包括无机碱和有机碱制备的盐。本公开提供了本文所述的任何化合物的药学上可接受的盐的用途。因此, 本公开的含有酸性基团的化合物可以在这些基团上例如以碱金属盐、碱土金属盐或铵盐形式存在且可以根据本公开以碱金属盐、碱土金属盐或铵盐形式使用。此类盐的更确切实例包括钠盐、钾盐、钙盐、镁盐, 或者含有氨或有机胺如乙胺、乙醇胺、三乙醇胺或氨基酸的盐。

[0048] 金属盐可以由向本公开的化合物加入无机碱而产生。无机碱由金属阳离子与碱性

反离子如氢氧根、碳酸根、碳酸氢根或磷酸根配对组成。金属可以是碱金属、碱土金属、过渡金属或主族金属。在一些实施方式中，金属是锂、钠、钾、铯、铷、铈、镁、锰、铁、钙、锶、钴、钛、铝、铜或锌。

[0049] 在一些情况下，金属盐是锂盐、钠盐、钾盐、铯盐、铷盐、铈盐、镁盐、锰盐、铁盐、钙盐、锶盐、钴盐、钛盐、铝盐、铜盐或锌盐。

[0050] 铵盐可以由向本公开的化合物加入氨或有机胺来产生。在一些实施方式中，有机胺是三乙胺、二异丙胺、乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、吗啉、N-甲基吗啉、哌啶、N-甲基哌啶、N-乙基哌啶、二苄胺、哌嗪、吡啶、吡啶、咪唑或吡嗪。

[0051] 在一些情况下，铵盐是三乙胺盐、二异丙胺盐、乙醇胺盐、二乙醇胺盐、三乙醇胺盐、吗啉盐、N-甲基吗啉盐、哌啶盐、N-甲基哌啶盐、N-乙基哌啶盐、二苄胺盐、哌嗪盐、吡啶盐、吡啶盐、咪唑盐或吡嗪盐。

[0052] 相应盐可以通过本领域技术人员已知的惯用方法来获得，如通过在溶剂或分散剂中使这些与有机或无机碱接触，或通过与其它盐进行阳离子交换。本公开还包括本公开的化合物的所有盐，所述盐由于生理相容性低而不能直接用于药物，但可用作例如化学反应的中间体或用于制备药学上可接受的盐。

[0053] 此外，本公开的化合物可以以溶剂合物形式存在，如包括水的溶剂合物或药学上可接受的溶剂合物，如醇，特别是乙醇。化学计量或非化学计量的量的溶剂被非共价分子间力束缚。当溶剂是水时，“溶剂合物”是“水合物”。

[0054] 如本文所用，术语“多晶型物”是指化合物或其盐、水合物或溶剂合物在特定晶体堆积排列下的结晶形式。所有多晶型物都有相同的元素组成。如本文所用，术语“结晶”是指由有序排列的结构单元组成的固态形式。同一化合物或其盐、水合物或溶剂合物的不同结晶形式由固体状态中分子的不同堆积产生，这导致不同的晶体对称性和/或单位晶胞参数。不同的结晶形式通常具有不同的X射线衍射图、红外光谱、熔点、密度、硬度、晶体形状、光学和电学性质、稳定性以及溶解度。

[0055] 术语“有效量”意在包括当施用时足以防止所治疗的病症、疾病或疾患的一种或多种症状的发展或在一定程度上减轻所述症状的化合物用量。术语“有效量”还指足以引起研究人员、兽医、医生或临床医生正在寻求的细胞、组织、系统、动物或人的生物或医学反应的化合物用量。

[0056] 在根据本发明的关于化合物使用的另一个重要方面，所述预防和/或治疗与以下组合：其它治疗剂如其它DHODH抑制剂（例如，如本文所述）和/或标准抗病毒疗法（SAT），例如选自至少一种神经氨酸酶抑制剂（例如奥司他韦、扎那米韦）、法匹拉韦、瑞德西韦、利巴韦林（三氮唑核苷）、干扰素 α -2b/全身用利巴韦林、干扰素 α 2a或2b，包括其任何聚乙二醇化型式、氯喹或羟氯喹（与阿齐霉素组合给药）、度鲁特韦+利匹韦林（JULUCA®）、度鲁特韦+拉米夫定（DOVATO®）、利托那韦+洛匹那韦（KALETRA®）、比克替拉韦+替诺福韦艾拉酚胺+恩曲他滨（BIKTARVY®）、度鲁特韦+阿巴卡韦+拉米夫定（TRIUMEQ®）、艾维雷韦+考比司他+恩曲他滨+替诺福韦艾拉酚胺（GENVOYA®）以及艾维雷韦+考比司他+恩曲他滨+富马酸替诺福韦二吡酯+恩曲他滨（STRIBILD®）。优选与瑞德西韦、氯喹或羟氯喹组合。

[0057] 根据本发明使用的优选组合是DHODH抑制剂(例如,如本文所述)与至少瑞德西韦、氯喹或羟氯喹,更优选IMU-838+瑞德西韦、氯喹或羟氯喹。

[0058] 在一个特殊实施方式中,所述组合是IMU-838的“多晶型物A”与瑞德西韦。

[0059] 在一些实施方式中,本公开的DHODH抑制剂与核苷三磷酸抑制剂如病毒RNA依赖性RNA聚合酶(RdRp)抑制剂的前药组合施用。在一些实施方式中,所述前药是瑞德西韦。瑞德西韦是对多种病毒性疾病表现出抗病毒活性的1'-氰基取代的腺嘌呤C-核苷核糖类似物前药,所述病毒包括胡宁病毒、SARS-CoV、SARS-CoV-2、MERS-CoV、马尔堡病毒、埃博拉病毒、尼帕病毒和拉沙热病毒。在瑞德西韦施用和进入细胞后,瑞德西韦可以被酯酶如羧酸酯酶1(CES1)和组织蛋白酶A(CTSA)转化为相应的羧酸酯。所得羧酸酯可以进一步分解为单磷酸酯,然后通过细胞内合成代谢加工成活性核苷三磷酸(NTP)GS-443902。GS-443902然后可以并入病毒RNA依赖性RNA聚合酶中,导致病毒RNA链提前终止。可用于主题组合物和方法的其它实例包括瑞德西韦的母体核苷(2R,3R,4S,5R)-2-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-3,4-二羟基-5-(羟甲基)四氢呋喃-2-甲腈(GS-441524)。

[0060] 在根据本发明的关于化合物使用的另一个重要方面,所述预防和/或治疗与其它DHODH抑制剂(例如,如本文所述)和/或标准抗病毒疗法(SAT)组合。

[0061] 优选的是与根据本发明使用的其它DHODH抑制剂(例如,如本文所述)和/或标准抗病毒疗法(SAT)组合,其中所述病毒感染是由RNA病毒引起。RNA病毒可以是单链或双链的,优选包括在哺乳动物如人中引起疾病的病毒。优选实例是HIV、HCV、埃博拉病毒、轮状病毒、寨卡病毒、脊髓灰质炎病毒、鼻病毒、甲肝病毒、麻疹病毒、腮腺炎病毒、RSV、狂犬病毒、拉沙病毒、汉坦病毒或流感病毒,特别是单链RNA病毒,如HCoV-229E、HCoV-NL63或特别优选的乙型冠状病毒,如HCoV-OC43、SARS-CoV-1、HCoV-HKU1、MERS-CoV或SARS-CoV-2。

[0062] 对于乙型冠状病毒感染,特别是SARS-CoV-2,根据本发明使用的优选组合是DHODH抑制剂(例如,如本文所述)与至少瑞德西韦、氯喹或羟氯喹,更优选IMU-838+至少瑞德西韦、氯喹或羟氯喹。

[0063] 关于化合物使用的一个实施方式,所述预防和/或治疗与包含至少瑞德西韦的标准抗病毒疗法(SAT)组合。

[0064] 根据本发明使用的一个实施方式是IMU-838与奥司他韦组合用于治疗乙型冠状病毒感染,特别是SARS-CoV-2。在一个特殊实施方式中,所述组合是IMU-838的“多晶型物A”与奥司他韦。

[0065] 在本发明的另一个方面,在与标准抗病毒疗法(SAT)组合以根据本发明使用时,DHODH抑制剂的有效量与标准抗病毒疗法(SAT)的有效量的比率(本文还称为DHODH抑制剂/SAT)是0.1至10、0.2至10、0.2至1或1至10。

[0066] 在本发明的另一个方面,在与标准抗病毒疗法(SAT)组合以根据本发明使用时,DHODH抑制剂的有效量与标准抗病毒疗法(SAT)的有效量的比率(本文还称为DHODH抑制剂/SAT)是0.1至10,更优选0.2至10,更优选0.2至1或1至10。IMU-838+至少瑞德西韦组合的更优选比率是10或0.2。

[0067] 在本发明的另一方面,使用的化合物可以作为合适的药物组合物如片剂、胶囊、颗粒剂、粉剂、囊剂、可重构粉剂、干粉吸入剂和/或可咀嚼剂提供和/或施用。此种固体制剂可以包含合适量的赋形剂和其它成分。此类固体制剂可以含有例如纤维素、纤维素微晶、聚维

酮(特别是FB聚维酮)、硬脂酸镁等。然而,施用还可以经直肠进行,例如呈栓剂形式,或经肠胃外进行,例如呈注射或输注形式,或经皮进行,例如呈软膏、乳膏或酊剂形式。

[0068] 应理解,本发明化合物和/或包含本发明化合物的药物组合物用于施用于人类患者。术语“施用”意指施用单独的治疗剂或与另一治疗剂的组合。因此,设想本发明的药物组合物用于共同治疗方法,即,与在本发明方法的背景下可能有益的其它药剂或药物和/或任何其它治疗剂共同施用。然而,需要时,其它药剂或药物和/或任何其它治疗剂可以与所使用的化合物分开施用,只要它们与所使用的本发明化合物组合(即,直接和/或间接,优选协同)作用。

[0069] 因此,本发明所使用的化合物可以单独与其它活性化合物,例如与已经用于治疗上述疾病的药剂组合使用,因此在后一种情况下,注意到有利的加和作用、增强作用或优选协同作用。

[0070] 本文公开的欲施用于人的DODH抑制剂的合适用量可以在5至500mg,特别是10mg至100mg的范围内。例如,本文所述的DODH抑制剂施用于人的治疗有效剂量可以是约1mg至约5mg、约5mg至约10mg、约10mg至约15mg、约15mg至约20mg、约15mg至约25mg、约15mg至约30mg、约15mg至约35mg、约15mg至约40mg、约15mg至约45mg、约15mg至约50mg、约15mg至约55mg、约15mg至约60mg、约20mg至约25mg、约20mg至约30mg、约20mg至约35mg、约20mg至约40mg、约20mg至约45mg、约20mg至约50mg、约20mg至约55mg、约20mg至约60mg、约25mg至约30mg、约30mg至约35mg、约35mg至约40mg、约40mg至约45mg、约45mg至约50mg、约50mg至约55mg、约55mg至约60mg、约60mg至约65mg、约65mg至约70mg、约70mg至约75mg、约75mg至约80mg、约80mg至约85mg、约85mg至约90mg、约90mg至约95mg或约95mg至约100mg。在一些实施方式中,治疗有效量是约10mg、约15mg、约20mg、约25mg、约30mg、约35mg、约40mg、约45mg、约50mg、约55mg或约60mg。

[0071] 所使用的药物组合物可以任选地包含药学上可接受的载体。药学上可接受的载体或赋形剂包括稀释剂(填料、增量剂,例如乳糖、微晶纤维素)、崩解剂(例如淀粉乙醇酸钠、交联羧甲基纤维素钠)、粘合剂(例如PVP、HPMC)、润滑剂(例如硬脂酸镁)、助流剂(例如胶态SiO₂)、溶剂/共溶剂(例如水性媒剂、丙二醇、甘油)、缓冲剂(例如柠檬酸盐、葡萄糖酸盐、乳酸盐)、防腐剂(例如苯甲酸钠、对羟基苯甲酸酯(Me、Pr和Bu)、BKC)、抗氧化剂(例如BHT、BHA、抗坏血酸)、润湿剂(例如聚山梨醇酯、脱水山梨醇酯)、增稠剂(例如甲基纤维素或羟乙基纤维素)、甜味剂(例如山梨醇、糖精、阿斯巴甜、安赛蜜)、调味剂(例如薄荷油、柠檬油、奶油糖等)、保湿剂(例如丙烯、乙二醇、甘油、山梨醇)。其它合适的药学上可接受的赋形剂尤其描述于《雷明顿制药科学》(Remington's Pharmaceutical Sciences),第15版,新泽西州麦克出版公司(1991)和Bauer等人,《制药技术》(Pharmazeutische Technologie),第5版,法兰克福Govi-Verlag公司(1997)。本领域技术人员知道维多氟拉迪莫的合适制剂,并能够取决于例如药物组合物的配方和施用途径而容易地选择合适的药学上可接受的载体或赋形剂。

[0072] 所述治疗剂可以口服施用,例如以丸剂、片剂、包衣片剂、糖包衣片剂、硬明胶胶囊和软明胶胶囊、溶液、糖浆、乳液或悬浮液或气雾剂混合物的形式。然而,施用还可以经直肠进行,例如呈栓剂形式,或经肠胃外进行,例如呈注射或输注形式,或经皮进行,例如呈软膏、乳膏或酊剂形式。维多氟拉迪莫胆碱由于其溶解度有所改善而特别优选作为静脉内制

剂。

[0073] 根据本发明的一个实施方式是口服或静脉内施用IMU-838。根据本发明的一个特殊实施方式是口服或静脉内施用IMU-838的“多晶型物A”。根据本发明的一个特别实施方式是口服施用IMU-838。根据本发明的一个特别特殊的实施方式是口服施用IMU-838的“多晶型物A”。

[0074] 除了本发明使用的上述化合物以外,所述药物组合物还可以含有其它惯用的、通常惰性的载体材料或赋形剂。此类载体可用于配制片剂、粉剂、丸剂、糖衣丸、胶囊、液体、凝胶、糖浆、酏剂、浆液、悬浮液等以供受试者口服摄入。因此,药物制剂还可以含有添加剂,如填料、增量剂、崩解剂、粘合剂、助流剂、润湿剂、稳定剂、乳化剂、防腐剂、甜味剂、着色剂、调味剂或芳香剂、缓冲物质,以及其它溶剂或增溶剂或用于实现贮库效果的剂,以及用于改变渗透压的盐、包衣剂或抗氧化剂。它们还可以含有上述本发明使用的两种以上化合物的盐,以及上述其它治疗活性物质。

[0075] 药物组合物可以以局部或全身方式施用,例如,通过任选地以贮库或持续释放制剂的形式将化合物直接注入器官中。药物组合物可以以快速释放制剂的形式、以延长释放制剂的形式或以中间释放制剂的形式提供。快速释放形式可以提供立即释放。延长释放制剂可以提供控制释放或持续延迟释放。

[0076] 对于口服施用,药物组合物可以通过将活性化合物与药学上可接受的载体或赋形剂组合而容易地配制。

[0077] 口服使用的药物制剂可以通过混合一种或多种固体赋形剂与一种或多种本文所述的化合物,任选地研磨所得混合物,需要在加入合适的助剂之后处理颗粒混合物,以获得片剂或糖衣丸核心来获得。核心可以具有合适的包衣。出于这个目的,可以使用浓缩的糖溶液,所述溶液可以含有赋形剂如阿拉伯胶、滑石、聚乙烯吡咯烷酮、卡波姆凝胶、聚乙二醇或二氧化钛、漆树液和合适的有机溶剂或溶剂混合物。染料或颜料可以加入到片剂或糖衣丸包衣中,例如,以鉴定或表征活性化合物剂量的不同组合。

[0078] 可以口服使用的药物制剂包括由明胶制成的推入配合胶囊以及由明胶和增塑剂如甘油或山梨醇制成的软密封胶囊。在一些实施方式中,胶囊包括包含一种或多种药用明胶、牛明胶和植物明胶的硬明胶胶囊。可以对明胶进行碱加工。推入配合胶囊可以含有活性成分与填充剂如乳糖、粘合剂如淀粉或润滑剂如滑石或硬脂酸镁以及稳定剂的混合物。在软胶囊中,活性化合物可以溶解或悬浮在合适的液体如脂肪油、液体石蜡或液体聚乙二醇中。可以加入稳定剂。口服施用的所有制剂都以适合这种施用的剂量提供。

[0079] 对于口腔或舌下施用,组合物可以是片剂、含片或凝胶。可以配制肠胃外注射液以供浓集注射或连续输注。药物组合物可以呈适合作为在油性或水性媒剂中的无菌悬浮液、溶液或乳液经肠胃外注射的形式,并且可以含有配制剂如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂。用于肠胃外施用的药物制剂包括呈水溶性形式的活性化合物的水溶液。活性化合物的悬浮液可以制备为油性注射悬浮液。合适的亲脂性溶剂或媒剂包括脂肪油如芝麻油,或合成脂肪酸酯如油酸乙酯或甘油三酯,或脂质体。水性注射悬浮液可以含有能增加悬浮液的粘度的物质,如羧甲基纤维素钠、山梨醇或右旋糖酐。悬浮液还可以含有合适的稳定剂或能增加化合物的溶解度以允许制备高度浓缩溶液的试剂。替代地,活性成分可以呈粉末形式以便在使用前用合适的媒剂,例如无菌无热原水重构。

[0080] 活性化合物可以局部施用,并且可以配制成多种局部施用组合物,如溶液、悬浮液、洗液、凝胶、糊剂、投药棒、香膏、乳膏和软膏。这种药物组合物可以含有增溶剂、稳定剂、张力增强剂、缓冲剂和防腐剂。

[0081] 适合经皮施用活性化合物的制剂可以采用经皮递送装置和经皮递送贴片,并且可以是溶解或分散在聚合物或粘合剂中的亲脂性乳液或缓冲水溶液。可以构建这种贴片用于药物化合物的连续、脉冲式或按需递送。经皮递送可以通过离子电渗贴片来实现。此外,经皮贴片可以提供控制递送。可以通过使用速率控制膜或通过化合物捕获在聚合物基质或凝胶内来减缓吸收速率。相反,可以使用吸收增强剂来增加吸收。吸收增强剂或载体可以包括可吸收的药学上可接受的溶剂以辅助通过皮肤。例如,经皮装置可以呈绷带的形式,包括衬垫构件、含有化合物和载体的储存器、在延长时间段内以受控的预定速率向受试者的皮肤递送化合物的速率控制屏障以及将所述装置固定至皮肤或眼睛的粘合剂。

[0082] 在实践本文所提供的治疗或使用方法时,将治疗有效量的本文所述的化合物以药物组合物的形式施用于患有欲治疗的疾病或疾患的受试者。在一些实施方式中,所述受试者是哺乳动物,如人。治疗有效量可以取决于疾病的严重程度、受试者的年龄和相对健康状况、所用化合物的效力和其它因素而广泛变化。化合物可以单独或与作为混合物组分的一种或多种治疗剂组合使用。

[0083] 药物组合物可以使用一种或多种生理上可接受的载体配制,所述载体包括赋形剂和助剂,它们有助于将活性化合物加工成药学上可使用的制剂。配方可以取决于所选施用途径进行修改。包含本文所述的化合物的药物组合物可以例如通过混合、溶解、粒化、糖衣丸制造、磨细、乳化、包囊、包封或压缩工艺来制造。

[0084] 药物组合物可以包括至少一种药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂以及呈游离酸或药学上可接受的盐形式的本文所述的化合物。本文所述的方法和药物组合物包括使用这些化合物的具有相同类型活性的结晶形式(例如“多晶型物A”)以及活性代谢物。

[0085] 制备包含本文所述的化合物的组合物的方法包括配制所述化合物与一种或多种惰性药学上可接受的赋形剂或载体,以形成固体、半固体或液体组合物。固体组合物包括例如粉剂、片剂、可分散颗粒剂、胶囊、扁囊和栓剂。液体组合物包括例如溶解有化合物的溶液、包含化合物的乳液或含有包含如本文公开的化合物的脂质体、胶束或纳米粒子的溶液。半固体组合物包括例如凝胶、悬浮液和乳膏。所述组合物可以呈液体溶液或悬浮液形式、适合在使用前溶解或悬浮于液体中的固体形式或呈乳液形式。这些组合物还可以含有微量无毒助剂物质,如润湿剂或乳化剂、pH缓冲剂和其它药学上可接受的添加剂。

[0086] 适用于本公开的剂型的非限制性实例包括饲料、食物、团粒、含片、液体、酏剂、气雾剂、吸入剂、喷雾剂、粉剂、片剂、丸剂、胶囊、凝胶、凝胶片、纳米悬浮液、纳米粒子、微凝胶、栓剂片、水性或油性悬浮液、软膏、贴片、洗剂、牙膏、乳液、乳膏、滴剂、可分散粉剂或颗粒剂、硬或软凝胶胶囊中的乳液、糖浆、植物制剂、营养制剂及其任何组合。

[0087] 优选根据本发明使用的化合物,其中所述化合物以有效剂量施用于所述受试者,例如每天45mg,作为22.5mg BID服用,早上在餐前约15-60分钟如至少约15分钟、至少约30分钟、至少约45分钟或至少约60分钟,晚上在餐后至少2小时。然而,这种示例性剂量可以在很大范围内变化并且应适合各个别情况的个别疾患。对于上述用途,适当的剂量将取决于施用模式、所治疗的特定疾患和所期望的效果而变化。然而,一般来说,在约1至100mg/kg动

物(特别是哺乳动物,包括人)体重,特别是1至50mg/kg的剂量率下实现了令人满意的结果。适合大型哺乳动物(例如人)的剂量率可以是约10mg至3g/天,方便地一次性施用或以分次剂量施用,例如每天2至4次,或以持续释放形式施用。例如,本公开的DODH抑制剂的治疗有效量可以以每天一个剂量、每天两个剂量、每天三个剂量或每天四个剂量施用。在一些实施方式中,治疗有效量是每天两次约5mg、每天两次约7.5mg、每天两次约10mg、每天两次约12.5mg、每天两次约15mg、每天两次约17.5mg、每天两次约20mg、每天两次约22.5mg、每天两次约25mg、每天两次约27.5mg或每天两次约30mg。

[0088] 化合物(例如DODH抑制剂)可以在检测到或疑似疾病或疾患发作后一旦可行就施用,并持续必要的时间长度以治疗疾病,例如约1周至约3周。在一些实施方式中,本文公开的化合物对受试者终生施用。在一些实施方式中,可以施用本公开的DODH抑制剂的时间长度可以是约1天、约2天、约3天、约4天、约5天、约6天、约1周、约2周、约3周、约4周、约1个月、约5周、约6周、约7周、约8周、约2个月、约9周、约10周、约11周、约12周、约3个月、约13周、约14周、约15周、约16周、约4个月、约17周、约18周、约19周或约20周。治疗长度因各受试者而异。

[0089] 一般来说,在口服施用的情况下,每个人类个体约10mg至100mg,特别是10至50mg的每日剂量是适当的。在其它施用形式的情况下,发现每日剂量也在类似的范围内。理想的是所使用的化合物的血浆水平达到0.1至50 μ M之间。

[0090] 在本发明的背景下,惊讶地发现根据本发明使用的化合物维多氟拉迪莫在预防病毒感染(特别是冠状病毒)以及治疗疾病的晚期阶段方面都显示出特别的优势,这大概是因为DHODH抑制剂靶向宿主细胞因子,特别是作为组合治疗。因此,本文所述的化合物可以在疾病或疾患发生之前、期间或之后施用,并且施用含有化合物的组合物的时机可以变化。例如,所述化合物可以用作预防剂,并且可以持续施用于有疾患或疾病倾向的受试者以减轻或降低疾病或疾患发生的可能性。所述化合物和组合物可以在症状发作期间或之后尽快施用于受试者。初始施用可以通过任何可行的途径,如通过使用本文所述的任何制剂的本文所述的任何途径。

[0091] 在预防方法中,根据本发明使用的化合物可以在检测到感染后立即施用于受试者。

[0092] 在预防方法中,根据本发明使用的化合物可以“晚”施用于受试者但仍然有效,例如当在感染后8至24小时之间,优选在感染后10至20小时之间,更优选在感染后12至16小时施用时。这个方案仍提供了令人惊讶的低病毒载量。

[0093] 由于在冠状病毒感染的情况下可能难以确定确切的感染时间点,所以根据本发明使用的化合物可能“晚”施用于受试者但仍然有效,例如当在冠状病毒检测呈阳性或出现最初症状迹象后8至24小时之间施用时。

[0094] 在治疗方法中,根据本发明使用的化合物可以在感染后立即施用于受试者。

[0095] 在治疗方法中,根据本发明使用的化合物可以在感染周期的“晚”施用于受试者并仍然有效,特别是作为(协同)组合疗法,例如当在感染后5至14天之间,优选在感染后5至11天之间,更优选在感染后7至11天之间施用时。这个方案提供了惊人有效的治疗效果,而且还有助于控制过度免疫反应,如细胞因子风暴。

[0096] 即使在感染后数周,所述治疗方法也适用于治疗“长COVID”症状。最常报告的“长

COVID”症状包括疲劳、呼吸困难、咳嗽、关节痛和胸痛。其它报告的症状包括认知障碍、抑郁、肌痛、头痛、发热和心悸。“长COVID”症状的生物标志物描述于例如Doykov等人, F1000Research 2021;9:1349中。

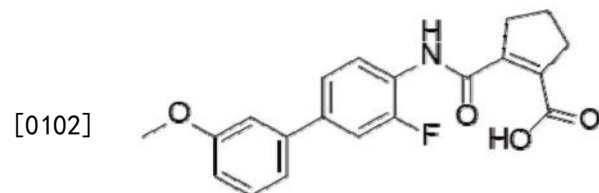
[0097] 根据本发明的一个实施方式是口服施用IMU-838以治疗“长COVID”症状。根据本发明的一个特殊实施方式是口服施用IMU-838的“多晶型物A”以治疗“长COVID”症状。

[0098] 在病毒感染的细胞中,先天免疫的激活主要由于干扰素诱导,但像SARS-CoV-2等病毒能够通过病毒产生的干扰素拮抗剂阻断干扰素。在受感染和DHODH治疗的细胞中,诱导先天免疫反应的基因的诱导不依赖于干扰素,但依赖于干扰素调节转录因子(IRF1),可能通过由细胞应激信号诱导的共济失调毛细血管扩张变异(ATM)表达。

[0099] 在根据本发明使用的化合物的另一个方面,所述预防和/或治疗还包括在所述受试者中监测选自以下的至少一个生物标志物:平均病毒载量、使用RT-PCR测试得到的鼻咽或呼吸道样品的定性病毒学清除率、D-二聚体、LDH、C-反应蛋白(CRP)、IL-17、IFN- γ 、IL-1 β 、IL-6、TNF α 、血清转化率以及IgM和IgG中和抗体。这种监测通常是对取自哺乳动物受试者的生物样品进行,包括通常已知的测试,例如基于抗体的测试、基于PCR的测试等。所述测试随时间推移重复进行,并可以与对照样品和/或早期取自哺乳动物受试者的样品进行比较。结果有助于主治医生保持或修改治疗过程,通常基于所治疗的病毒性疾病的临床症状的严重程度。

[0100] 在根据本发明使用的化合物的另一个方面,“长COVID”症状的预防和/或治疗还包括用合适的生物标志物,例如过氧化物还原酶3(PRD3)、氨甲酰磷酸合成酶(CPS1)、N-Myc下游调控基因1(NDRG1)、含胶原三螺旋重复蛋白1(CTHRC1)、胱抑素C(CYTC)或颗粒体蛋白前体(GRN)在所述受试者中进行监测。

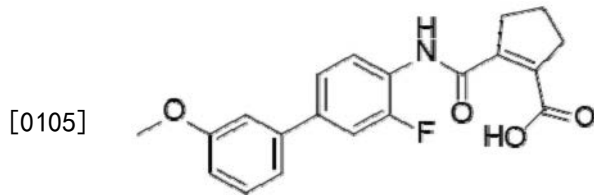
[0101] 在其另一个方面,本发明提供了在哺乳动物受试者如人中预防和/或治疗病毒感染的方法,所述方法包括向所述哺乳动物施用有效量的式(I)所示的化合物(维多氟拉迪莫,IMU-838),



式(I)

[0103] 其药学上可接受的盐、溶剂合物、盐的溶剂合物、水合物或多晶型物。优选维多氟拉迪莫钙或胆碱。

[0104] 在其另一个方面,本发明提供了在哺乳动物受试者如人中预防和/或治疗由冠状病毒引起的病毒感染的方法,所述方法包括向所述哺乳动物施用有效量的式(I)所示的化合物,



式(I)

[0106] 其药学上可接受的盐、溶剂合物、盐的溶剂合物、水合物或多晶型物。

[0107] 所述方法包括在哺乳动物受试者中治疗和/或改善与病毒感染相关的症状,包括向所述受试者施用有效量的维多氟拉迪莫(IMU-838),通过所述施用,减轻了与所述病毒感染相关的症状,如AIDS、肝炎、埃博拉、脊髓灰质炎、腹泻、麻疹、腮腺炎、狂犬病、拉沙热、病毒性流感、呼吸道疾病、急性呼吸道疾病、败血症、急性呼吸窘迫综合征和不良免疫反应,特别是所述疾病的中度至严重病例的症状,其中所述疾病优选选自SARS-CoV-2、特别是COVID-19引起的疾病,如急性呼吸道疾病、败血症、急性呼吸窘迫综合征,以及不良免疫反应如细胞因子风暴。

[0108] 优选根据本发明的方法,其中所述病毒感染是由RNA病毒引起。RNA病毒可以是单链或双链的,优选包括在哺乳动物如人中引起疾病的病毒。优选实例是HIV、HCV、埃博拉病毒、轮状病毒、寨卡病毒、脊髓灰质炎病毒、鼻病毒、甲肝病毒、麻疹病毒、腮腺炎病毒、RSV、狂犬病毒、拉沙病毒、汉坦病毒或流感病毒,特别是单链RNA病毒,如HCoV-229E、HCoV-NL63或特别优选的乙型冠状病毒,如HCoV-OC43、SARS-CoV-1、HCoV-HKU1、MERS-CoV或SARS-CoV-2。

[0109] 一个特殊的实施方式是根据本发明的方法,其中所述病毒感染是由RNA病毒引起。RNA病毒可以是单链或双链的,优选包括在哺乳动物如人中引起疾病的病毒。优选实例是单链RNA病毒如HCoV-229E、HCoV-NL63或特别优选的乙型冠状病毒如HCoV-OC43、SARS-CoV-1、HCoV-HKU1、MERS-CoV或SARS-CoV-2。

[0110] 一个特别特殊的实施方式是根据本发明的方法,其中所述病毒感染是由乙型冠状病毒如HCoV-OC43、SARS-CoV-1、HCoV-HKU1、MERS-CoV或SARS-CoV-2引起。

[0111] 一个甚至更特殊的实施方式是根据本发明的方法,其中所述病毒感染是由SARS-CoV-2或SARS-CoV-2的变异型引起。

[0112] 一个最特殊的实施方式是根据本发明的方法,其中所述病毒感染是由SARS-CoV-2引起。

[0113] 组合或交替疗法

[0114] 如本文所述的化合物或其药学上可接受的盐可以在COVID患者的当前护理标准之上施用,或与医疗保健提供者认为对患者有益的任何其它化合物或疗法组合或交替使用。组合和/或交替疗法可以是治疗性的、辅助性的或姑息性的。

[0115] 已经观测到COVID患者可以经历不同的疾病阶段,基于患者呈现或发展到哪个疾病阶段,护理标准可能不同。COVID对于免疫系统与凝血系统之间的“相互作用(cross-talk)”的发展是值得注意的。随着疾病发展,患者可以通过免疫系统产生过度反应,这可能会导致许多严重后果,包括细胞因子风暴。通过免疫系统与凝血系统之间的相互作用(cross-talk),患者可能开始在身体的不同部位凝血,包括呼吸系统、脑、心脏和其它器官。已经在COVID患者中观察到全身出现多处血块,从而需要抗凝治疗。认为如果不治疗和缓解

疾病,这些血块可能造成长期或甚至永久性损伤。

[0116] 更具体来说,已经描述COVID-19经历了四个一般疾病阶段:第1阶段(早期感染)、第2阶段(肺部阶段)、第3阶段(高炎症阶段/细胞因子风暴)和第4阶段(典型恢复期后持续的长期后遗症)。

[0117] 第1阶段的特征是非特异性且通常轻微的症状。病毒复制正在发生,适合立即开始用本文所述的化合物进行治疗,或许与另一种抗病毒疗法组合或交替。还可以施用干扰素- β 以增强对病毒的先天免疫反应。因此,在一个实施方式中,式(I)的化合物或其药学上可接受的盐以有效量与干扰素- β 和或其它抗病毒药物组合或交替使用。在这个阶段或随着疾病发展,有时还施用锌补充剂和或维生素C。

[0118] COVID-19的第2阶段是肺部阶段,其中患者可能经历急性低血氧性呼吸衰竭。事实上,COVID-19的主要器官衰竭是低血氧性呼吸衰竭。已经证明,通过类固醇(例如地塞米松)进行适度免疫抑制可能有益于急性低血氧性呼吸衰竭患者和/或机械通气患者。在一个实施方式中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐以有效量与皮质类固醇组合使用,所述皮质类固醇可以是糖皮质激素。非限制性实例是布地奈德、倍他米松、泼尼松、泼尼松龙、曲安奈德、甲泼尼龙、氢可的松、醋酸氟氢可的松、醋酸脱氧皮质酮、醛固酮、倍氯米松或地塞米松。

[0119] 第3阶段是疾病的终末阶段,其特征在于进行性弥散性血管内凝血(DIC),即血流中形成小血块的状态。这个阶段还可以包括多器官衰竭(如血管舒张性休克、心肌炎)。还观察到许多患者以“细胞因子风暴”响应于COVID-19感染的这一严重阶段。DIC与细胞因子风暴之间似乎存在双向协同关系。为了对抗DIC,通常对患者施用抗凝剂,所述抗凝剂可以是例如间接凝血抑制剂或直接口服抗凝剂(“DOAC”)。非限制性实例是低分子量肝素、华法林、比伐卢定、利伐沙班、达比加群、阿哌沙班或依度沙班。在一个实施方式中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与抗凝剂疗法组合或交替施用。在COVID患者的一些严重凝血病例中,可以施用TPA(组织纤溶酶原激活剂)。

[0120] 已经观察到细胞因子白介素-6(IL-6)水平高是COVID-19患者呼吸衰竭和死亡的前兆。为了治疗这种可能构成细胞因子风暴的免疫反应的激增,可以对患者施用靶向IL-6的单克隆抗体、药物抑制剂或蛋白质降解剂如结合至IL-6和介导降解的蛋白质的双特异性化合物。抗体的实例包括托珠单抗、沙立芦单抗、司妥昔单抗、奥洛珠单抗和克拉扎珠单抗。在一个实施方式中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与托珠单抗或沙立芦单抗组合或交替施用。用于治疗过度反应免疫系统的免疫抑制药物的其它非限制性实例包括Janus激酶抑制剂(托法替尼、巴瑞替尼、非戈替尼);钙调磷酸酶抑制剂(环孢霉素)、他克莫司、mTOR抑制剂(西罗莫司、依维莫司)和IMDH抑制剂(硫唑嘌呤)。其它抗体和生物制剂包括阿巴西普、阿达木单抗、阿那白滞素、赛妥珠单抗、依那西普、戈利木单抗、英利昔单抗、依奇珠单抗、那他珠单抗、利妥昔单抗、苏金单抗、托珠单抗、优特克单抗、维多珠单抗、巴利昔单抗和达利珠单抗。

[0121] IL-1阻断IL-6和其它促炎性细胞因子的产生。COVID患者有时还用IL-1疗法进行治疗以减少高炎症反应,例如静脉内施用阿那白滞素。抗IL-1疗法通常可以是例如靶向单克隆抗体、药物抑制剂或蛋白质降解剂,如结合至IL-1以及介导降解的蛋白质的双特异性化合物。

[0122] COVID患者通常会发展成病毒性肺炎,从而可以导致细菌性肺炎。严重COVID-19患

者还会受败血症或“败血性休克”影响。针对COVID继发性细菌性肺炎或针对败血症的治疗包括施用抗生素,例如大环内酯类抗生素,包括阿齐霉素、克拉霉素、红霉素或罗红霉素。其它抗生素包括阿莫西林、多西环素、头孢氨苄、环丙沙星、克林霉素、甲硝唑、磺胺甲恶唑、甲氧苄啶、阿莫西林、克拉维酸或左氧氟沙星。在一个实施方式中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐因此与抗生素,例如阿齐霉素组合或交替施用。这些抗生素中有一些如阿齐霉素具有独立的抗炎特性。这种药物既可以用作用于COVID患者的抗炎剂,又对继发性细菌感染具有治疗效果。

[0123] 治疗感染COVID-19的患者一个独特挑战是如果患者需要可能持续5天、10天甚至14天以上的机械通气,则需要相对长期的镇静。对于此治疗过程中的持续疼痛,可以依次加入止痛剂,对于持续焦虑,可以依次加入镇静剂。止痛药的非限制性实例包括对乙酰氨基酚、氯胺酮和PRN阿片类药物(氢吗啡酮、芬太尼和吗啡)。镇静剂的非限制性实例包括褪黑素、具有镇静性能为主的非典型抗精神病药(奥氮平、喹硫平)、异丙酚或右美托咪定、氟哌啶醇和苯巴比妥。在一个实施方式中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物、盐的溶剂合物、水合物或其多晶型物与止痛药如对乙酰氨基酚、氯胺酮、氢吗啡酮、芬太尼或吗啡组合或交替施用。在一个实施方式中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物、盐的溶剂合物、水合物或其多晶型物与镇静剂如褪黑素、奥氮平、喹硫平、异丙酚、右美托咪定、氟哌啶醇或苯巴比妥组合或交替施用。

[0124] 在一个实施方式中,本发明的化合物以有效量与蛋白酶抑制剂如PF-07304814、PF-00835231、PF-07321332、洛匹那韦或利托那韦组合使用。

[0125] 在一个实施方式中,本发明的化合物以有效量与RNA复制调节剂组合使用,如还可以施用N4-羟基胞苷或其前药。在一个特殊的实施方式中,RNA复制调节剂是WO 2019/113462所述的N4-羟基胞苷前药。在一个更特殊的实施方式中,所述RNA复制调节剂是莫诺拉韦(molnupiravir)。

[0126] 可用于治疗COVID患者的其它药物包括但不限于阿司匹林、秋水仙碱、富马酸二甲酯、阿卡替尼、法匹拉韦、芬戈莫德、甲泼尼龙、贝伐珠单抗、托珠单抗、乌芬诺韦、氯沙坦以及REGN3048和REGN3051或利巴韦林的单克隆抗体组合。这些药物或疫苗中的任一种都可以与本文提供的活性化合物组合或交替使用,以治疗易受此类药物影响的病毒感染。

[0127] 在一个实施方式中,本发明化合物以有效量与抗冠状病毒疫苗疗法组合使用,包括但不限于mRNA-1273(莫德纳公司)、AZD-1222(阿斯利康公司和牛津大学)、BNT162b2(生物新技术公司)、CoronaVac(科兴公司)、NVX-CoV 2372(诺瓦瓦克斯公司)、SCB-2019(赛诺菲公司和GSK)、ZyCoV-D(卡迪拉公司)和CoVaxin(巴拉特生物技术)。在另一个实施方式中,本发明的化合物以有效量与被动抗体疗法或恢复期血浆疗法组合使用。

[0128] SARS-CoV-2不断发生变异,其中许多增加了毒性和传播速率。用抗病毒剂长期治疗后,可能出现耐药性病毒变种。抗药性可能因编码病毒复制所用的酶的基因变异而产生。在某些情况下,药物对RNA病毒感染的功效可以通过所述化合物与另一种可能甚至两种或三种诱导与主要药物不同的变异或通过不同的途径起作用的其它抗病毒化合物组合或交替施用而得到延长、增强或恢复。已知病毒的变体可以指与已知病毒相比在病毒基因组中携带一个或多个核苷酸变异,例如至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30、40、60、100、200、300或甚至更多个核苷酸变异的病毒。变异可以指核苷酸缺失、插入或取代。在一些情况下,

变体病毒基因组与已知病毒基因组可以有最多50%、40%、30%、20%、10%、5%、4%、3%、2%或1%不同。

[0129] 或者,药物的药代动力学、生物分布、半衰期或其它参数可以通过这种组合治疗(如果考虑协调,则可以包括交替疗法)加以改变。

[0130] 可以与式(I)化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物、盐的溶剂合物、水合物或其多晶型物组合(分别施用或在同一药物组合物中施用)的其它治疗剂的实例包括但不限于:

[0131] (1) 蛋白酶抑制剂;

[0132] (2) 聚合酶抑制剂;

[0133] (3) 变构聚合酶抑制剂;

[0134] (4) 可能聚乙二醇化或以其它方式修饰的干扰素 α -2a和/或利巴韦林;

[0135] (5) 非基于底物的抑制剂;

[0136] (6) 解旋酶抑制剂;

[0137] (7) 引发酶-解旋酶抑制剂;

[0138] (8) 反义寡核苷酸(S-ODN);

[0139] (9) 适体;

[0140] (10) 核酸酶抗性核糖酶;

[0141] (11) iRNA,包括微RNA和siRNA;

[0142] (12) 所述病毒的抗体、部分抗体或结构域抗体;

[0143] (13) 诱导宿主抗体反应的病毒抗原或部分抗原;

[0144] (14) 含NOD、LRR和pyrin结构域的蛋白3(NLRP3);或

[0145] (15) 其它DHODH抑制剂(例如布喹那、特立氟胺、来氟米特、PTC299、MEDS433、AG-636、ASLAN003、JNJ-74856665、RP7214、PP-001和BAY2402234)。

[0146] 在另一种优选的根据本发明的方法中,所述预防和/或治疗与以下组合:其它DHODH抑制剂(例如,如本文所述)和/或标准抗病毒疗法(SAT),例如选自至少一种神经氨酸酶抑制剂(例如奥司他韦、扎那米韦)、法匹拉韦、瑞德西韦、利巴韦林(三氮唑核苷)、干扰素 α -2b/全身用利巴韦林、干扰素 α 2a或2b,包括其任何聚乙二醇化型式、氯喹或羟氯喹(与阿齐霉素组合给药)、度鲁特韦+利匹韦林(JULUCA®)、度鲁特韦+拉米夫定(DOVATO®)、利托那韦+洛匹那韦(KALETRA®)、比克替拉韦+替诺福韦艾拉酚胺+恩曲他滨(BIKTARVY®)、度鲁特韦+阿巴卡韦+拉米夫定(TRIUMEQ®)、艾维雷韦+考比司他+恩曲他滨+替诺福韦艾拉酚胺(GENVOYA®)以及艾维雷韦+考比司他+恩曲他滨+富马酸替诺福韦二吡酯+恩曲他滨(STRIBILD®)。优选与瑞德西韦、氯喹或羟氯喹组合。

[0147] 在更优选的根据本发明的方法中,所述组合是:DHODH抑制剂(例如,如本文所述)与至少瑞德西韦、氯喹或羟氯喹,更优选IMU-838+瑞德西韦、氯喹或羟氯喹。

[0148] 关于预防和/或治疗方法的一个实施方式是与包含至少瑞德西韦的标准抗病毒疗法(SAT)组合。

[0149] 在一个特殊实施方式中,所述组合是IMU-838的“多晶型物A”与瑞德西韦。

[0150] 优选所述方法与根据本发明使用的其它DHODH抑制剂(例如,如本文所述)和/或标

准抗病毒疗法 (SAT) 组合, 其中所述病毒感染是由RNA病毒引起。RNA病毒可以是单链或双链的, 优选包括在哺乳动物如人中引起疾病的病毒。优选实例是HIV、HCV、埃博拉病毒、轮状病毒、寨卡病毒、脊髓灰质炎病毒、鼻病毒、甲肝病毒、麻疹病毒、腮腺炎病毒、RSV、狂犬病毒、拉沙病毒、汉坦病毒或流感病毒, 特别是单链RNA病毒, 如HCoV-229E、HCoV-NL63或特别优选的乙型冠状病毒, 如HCoV-OC43、SARS-CoV-1、HCoV-HKU1、MERS-CoV或SARS-CoV-2。对于乙型冠状病毒感染, 特别是SARS-CoV-2, 根据本发明使用的更优选组合是DHODH抑制剂(例如, 如本文所述) 与至少瑞德西韦、氯喹或羟氯喹, 更优选IMU-838+至少瑞德西韦、氯喹或羟氯喹。

[0151] 在本发明的另一个方面, 在与标准抗病毒疗法 (SAT) 组合使用的优选方法中, DHODH抑制剂的有效量与标准抗病毒疗法 (SAT) 的有效量的比率(本文还称为DHODH抑制剂/SAT) 是0.1至10, 更优选0.2至10, 更优选0.2至1或1至10。IMU-838+至少瑞德西韦组合的更优选比率是10或0.2。

[0152] 在所述方法中, 所使用的化合物可以作为上文讨论的合适的药物组合物提供和/或施用。所述化合物可以单独与其它活性化合物, 例如与已经用于治疗上述疾病的药剂组合施用, 其中在后一种情况下, 注意到有利的加和作用、增强作用或优选协同作用。施用于哺乳动物(特别是人)的适当用量和剂量如上所述, 并且可以在5至500mg, 特别是10mg至100mg的范围内。

[0153] 优选根据本发明的方法, 其中所述预防和/或治疗方法与以下组合: 其它DHODH抑制剂和/或标准抗病毒疗法 (SAT), 例如选自至少一种神经氨酸酶抑制剂(例如奥司他韦、扎那米韦)、法匹拉韦、瑞德西韦、利巴韦林(三氮唑核苷)、干扰素 α -2b/全身用利巴韦林、干扰素 α 2a或2b, 包括其任何聚乙二醇化型式、氯喹或羟氯喹(与阿齐霉素组合给药)、度鲁特韦+利匹韦林(JULUCA®)、度鲁特韦+拉米夫定(DOVATO®)、利托那韦+洛匹那韦(KALETRA®)、比克替拉韦+替诺福韦艾拉酚胺+恩曲他滨(BIKTARVY®)、度鲁特韦+阿巴卡韦+拉米夫定(TRIUMEQ®)、艾维雷韦+考比司他+恩曲他滨+替诺福韦艾拉酚胺(GENVOYA®)以及艾维雷韦+考比司他+恩曲他滨+富马酸替诺福韦二吡酯+恩曲他滨(STRIBILD®)。优选与瑞德西韦、氯喹或羟氯喹组合。

[0154] 在根据本发明的方法的一个优选实施方式中, 所述化合物以有效剂量施用于所述受试者, 例如每天45mg, 作为22.5mg BID服用, 早上在餐前15-60分钟, 和晚上在餐后至少2小时。理想的是所使用的化合物的血浆水平达到0.1至50 μ M之间。

[0155] 在本发明方法的背景下, 惊讶地发现化合物维多氟拉迪莫在预防病毒感染时以及在治疗疾病后期阶段时显示出了特别的优势, 特别是作为组合治疗时。

[0156] 在根据本发明的方法的预防方法中, 所述化合物可以在检测到感染后立即施用于受试者。

[0157] 在根据本发明的方法的预防方法中, 所述化合物可以在“晚”施用于受试者并且仍然有效, 例如当在感染后8至24小时之间, 优选在感染后10至20小时之间, 更优选在感染后12至16小时施用时。这个方案仍提供了令人惊讶的低病毒载量。

[0158] 在根据本发明的方法的治疗方法中, 所述化合物可以在感染后立即施用于受试者。

[0159] 在根据本发明的方法的治疗方法中, 所述化合物可以在感染周期中“晚”施用于受

试者并且仍然有效,特别是作为(协同)组合疗法,例如当在感染后5至14天之间,优选在感染后5至11天之间,更优选在感染后7至11天施用。这个方案提供了惊人有效的治疗效果,而且还有助于控制过度免疫反应,如细胞因子风暴。

[0160] 在预防方法中,还可以预防性地施用所述化合物,以防止冠状病毒感染或减少冠状病毒繁殖。

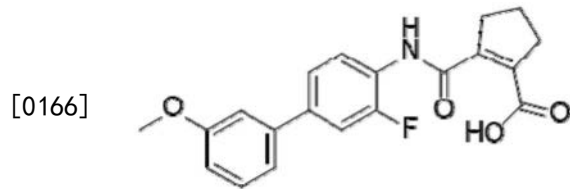
[0161] 在根据本发明的方法的另一个实施方式中,所述化合物施用于受试者持续14天以上。

[0162] 在根据本发明的方法的一个优选实施方式中,所述化合物施用于受试者持续14天。

[0163] 现在在以下实施例中进一步描述本发明,但本发明不限于此。为了本发明的目的,本文引用的所有参考文献都以引用的方式整体并入。

[0164] 在上述背景下,本发明的具体实施方式由以下连续编号的实施方式表示:

[0165] 1. 一种式(I)所示的化合物,



式(I)

[0167] 其有机酸衍生物、生理上可接受的盐、溶剂合物、水合物或其多晶型物,用于在哺乳动物受试者如人中预防和/或治疗由病毒感染引起的疾病。

[0168] 2. 根据实施方式1使用的化合物,其中所述病毒感染是由RNA病毒如HIV、HCV、埃博拉病毒、轮状病毒、寨卡病毒、脊髓灰质炎病毒、鼻病毒、甲肝病毒、麻疹病毒、腮腺炎病毒、RSV、狂犬病、拉沙病毒、汉坦病毒或流感病毒,特别是单链RNA病毒如HCoV-229E、HCoV-NL63或乙型冠状病毒如HCoV-OC43、SARS-CoV-1、HCoV-HKU1、MERS-CoV或SARS-CoV-2引起。

[0169] 3. 根据实施方式1或2使用的化合物,其中所述疾病选自AIDS、肝炎、埃博拉、脊髓灰质炎、腹泻、麻疹、腮腺炎、狂犬病、拉沙热、病毒性流感、呼吸道疾病、急性呼吸道疾病、败血症、急性呼吸窘迫综合征和不良免疫反应,特别是所述疾病的中度至严重病例,其中所述疾病优选选自SARS-CoV-2、特别是COVID-19引起的疾病,如急性呼吸道疾病、败血症、急性呼吸窘迫综合征,以及不良免疫反应如细胞因子风暴。

[0170] 4. 根据实施方式1至3中任一个使用的化合物,其中所述预防和/或治疗与以下组合:其它DHODH抑制剂和/或标准抗病毒疗法(SAT),例如选自至少一种神经氨酸酶抑制剂(例如奥司他韦、扎那米韦),法匹拉韦,瑞德西韦,利巴韦林(三氮唑核苷),干扰素 α -2b/全身用利巴韦林,干扰素 α 2a或2b、包括其任何聚乙二醇化型式,氯喹或羟氯喹(与阿齐霉素组合给药),度鲁特韦+利匹韦林(JULUCA®),度鲁特韦+拉米夫定(DOVATO®),利托那韦+洛匹那韦(KALETRA®),比克替拉韦+替诺福韦艾拉酚胺+恩曲他滨(BIKTARVY®),度鲁特韦+阿巴卡韦+拉米夫定(TRIUMEQ®),艾维雷韦+考比司他+恩曲他滨+替诺福韦艾拉酚胺(GENVOYA®)以及艾维雷韦+考比司他+恩曲他滨+富马酸替诺福韦二吡酯+恩曲他滨(STRIBILD®)。

[0171] 5. 根据实施方式4使用的化合物,其中标准抗病毒疗法 (SAT) 包含至少瑞德西韦。

[0172] 6. 根据实施方式4或5中任一个使用的化合物,其中DHODH抑制剂的有效量与标准抗病毒疗法 (SAT) 的有效量的比率 (本文还称为DHODH抑制剂/SAT) 是0.1至10、0.2至10、0.2至1、或1至10。

[0173] 7. 根据实施方式1至6中任一个使用的化合物,其中所述化合物作为合适的药物组合物如片剂、胶囊、颗粒剂、粉剂、囊剂、可重构粉剂、干粉吸入剂和/或可咀嚼剂提供。

[0174] 8. 根据实施方式1至7中任一个使用的化合物,其中所述化合物以有效剂量施用于所述受试者,例如每天45mg,作为22.5mg BID服用,早上在餐前15-60分钟,和晚上在餐后至少2小时。

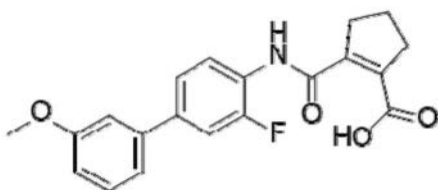
[0175] 9. 根据实施方式1至8中任一个使用的化合物,其中所述化合物在感染后5至14天之间,优选在感染后5至11天之间,更优选在感染后7至11天施用于所述受试者。

[0176] 10. 根据实施方式1至8中任一个使用的化合物,其中对于预防而言,所述化合物在感染后8至24小时之间,优选在感染后10至20小时之间,更优选在感染后12至16小时施用于所述受试者。

[0177] 11. 根据实施方式1至10中任一个使用的化合物,其中所述预防和/或治疗还包括在所述受试者中监测选自以下的至少一个生物标志物:平均病毒载量、使用RT-PCR测试得到的鼻咽或呼吸道样品的定性病毒学清除率、D-二聚体、LDH、C-反应蛋白 (CRP)、IL-17、IFN- γ 、IL-1 β 、IL-6、TNF α 、血清转化率以及IgM和IgG中和抗体。

[0178] 12. 一种在哺乳动物受试者如人中预防和/或治疗病毒感染的方法,所述方法包括向所述哺乳动物施用有效量的式 (I) 所示的化合物,

[0179]



式(I)

[0180] 其有机酸衍生物、生理上可接受的盐、溶剂合物、水合物或其多晶型物。

[0181] 13. 根据实施方式12所述的方法,其中所述病毒感染是由RNA病毒如HIV、HCV、埃博拉病毒、轮状病毒、寨卡病毒、脊髓灰质炎病毒、鼻病毒、甲肝病毒、麻疹病毒、腮腺炎病毒、RSV、狂犬病、拉沙病毒、汉坦病毒或流感病毒,特别是单链RNA病毒如HCoV-229E、HCoV-NL63或乙型冠状病毒如HCoV-OC43、SARS-CoV-1、HCoV-HKU1、MERS-CoV或SARS-CoV-2引起。

[0182] 14. 根据实施方式12或13所述的方法,其中所述预防和/或治疗方法与以下组合:其它DHODH抑制剂和/或标准抗病毒疗法 (SAT),例如选自至少一种神经氨酸酶抑制剂(例如奥司他韦、扎那米韦),法匹拉韦,瑞德西韦,利巴韦林(三氮唑核苷),干扰素 α -2b/全身用利巴韦林,干扰素 α 2a或2b、包括其任何聚乙二醇化型式,氯喹或羟氯喹(与阿齐霉素组合给药),度鲁特韦+利匹韦林(JULUCA®),度鲁特韦+拉米夫定(DOVATO®),利托那韦+洛匹那韦(KALETRA®),比克替拉韦+替诺福韦艾拉酚胺+恩曲他滨(BIKTARVY®),度鲁特韦+阿巴卡韦+拉米夫定(TRIUMEQ®),艾维雷韦+考比司他+恩曲他滨+替诺福韦艾拉酚胺(GENVOYA®)以及艾维雷韦+考比司他+恩曲他滨+富马酸替诺福韦二吡酯+恩曲他

滨(STRIBILD®)。

[0183] 15. 根据实施方式14所述的方法,其中标准抗病毒疗法(SAT)包含至少瑞德西韦。

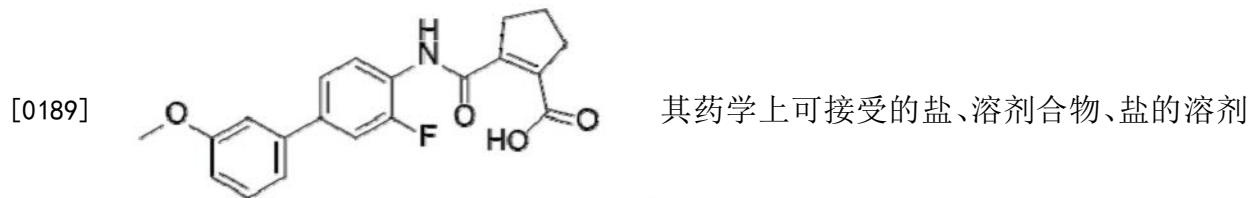
[0184] 16. 根据实施方式14或15中任一个所述的方法,其中DHODH抑制剂的有效量与标准抗病毒疗法(SAT)的有效量的比率(本文还称为DHODH抑制剂/SAT)是0.1至10、0.2至10、0.2至1或1至10。

[0185] 17. 根据实施方式12至16中任一个所述的方法,其中所述化合物以有效剂量施用于所述受试者,例如每天45mg,作为22.5mg BID服用,早上在餐前15-60分钟,和晚上在餐后至少2小时。

[0186] 18. 根据实施方式12至17中任一个所述的方法,其中所述化合物在感染后5至14天之间,优选在感染后5至11天之间,更优选在感染后7至11天施用于所述受试者。

[0187] 19. 根据实施方式12至17中任一个所述的方法,其中对于预防而言,所述化合物在感染后8至24小时之间,优选在感染后10至20小时之间,更优选在感染后12至16小时施用于所述受试者。

[0188] 20. 一种在有需要的受试者中治疗病毒感染的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的以下结构的DHODH抑制剂:



合物、水合物或多晶型物,其中所述病毒感染是由冠状病毒引起。

[0190] 21. 根据实施方式20所述的方法,其中所述冠状病毒是乙型冠状病毒。

[0191] 22. 根据实施方式20或实施方式21所述的方法,其中所述冠状病毒是SARS-CoV-2。

[0192] 23. 根据实施方式20所述的方法,其中所述DHODH抑制剂是药学上可接受的盐,其中所述药学上可接受的盐是钙盐。

[0193] 24. 根据实施方式20至23中任一个所述的方法,其中所述DHODH抑制剂每天两次施用于所述受试者,持续至少两周。

[0194] 25. 根据实施方式20至23中任一个所述的方法,其中所述DHODH抑制剂每天两次施用于所述受试者,持续至少约两周,其中所述DHODH在每一次施用是在餐前至少约15分钟至约60分钟施用。

[0195] 26. 根据实施方式20至25中任一个所述的方法,其中所述DHODH抑制剂是在感染冠状病毒后约5天至约14天之间施用于所述受试者。

[0196] 27. 根据实施方式20至27中任一个所述的方法,其中所述DHODH抑制剂经过配制以用于口服施用。

[0197] 28. 根据实施方式20至27中任一个所述的方法,其中所述DHODH抑制剂是作为片剂施用于所述受试者。

[0198] 29. 根据实施方式20至28中任一个所述的方法,其中所述DHODH抑制剂的治疗有效量是约20mg至约50mg。

[0199] 30. 根据实施方式20至29中任一个所述的方法,其中所述DHODH抑制剂的治疗有效

量是约45mg。

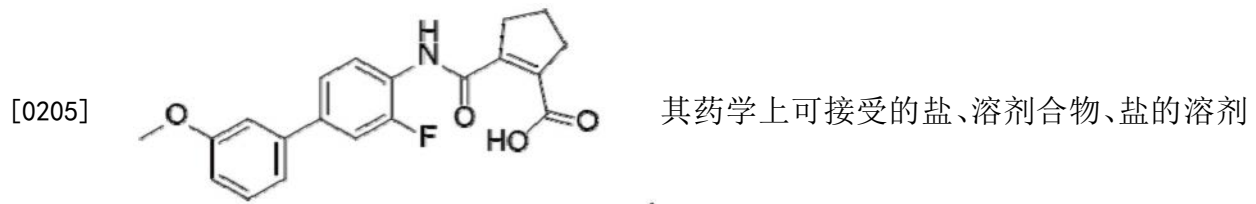
[0200] 31. 根据实施方式20至30中任一个所述的方法,其中所述DHODH抑制剂的治疗有效量是每天两次约22.5mg所述DHODH抑制剂。

[0201] 32. 根据实施方式20至31中任一个所述的方法,其中所述病毒感染导致所述受试者发生细胞因子风暴。

[0202] 33. 根据实施方式20至32中任一个所述的方法,所述方法还包括向所述受试者施用治疗有效量的额外治疗剂。

[0203] 34. 根据实施方式33所述的方法,其中所述额外治疗剂是瑞德西韦。

[0204] 35. 一种在有需要的受试者中提供病毒感染治疗的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的以下结构的DHODH抑制剂:



合物、水合物或多晶型物,其中所述病毒感染是由冠状病毒引起。

具体实施方式

[0206] 实施例

[0207] 背景

[0208] IMU-838是正在开发中的小分子研究药物(维多氟拉迪莫钙),是一种用于治疗复发缓解型多发性硬化(RRMS)、炎症性肠病(IBD)以及其它慢性炎症性和自身免疫疾病的口服片剂制剂。

[0209] 还使用IMU-838的活性部分(维多氟拉迪莫)作为非晶态材料的游离酸制剂进行初始临床试验。总的来说,此临床试验数据涵盖250多名用所述活性部分治疗的患者,有助于建立安全性数据库,以鼓励进一步开发IMU-838。产生的结果支持了每日重复给与高达50mg IMU-838的耐受性。

[0210] 鉴于抗病毒作用对于病毒特异性蛋白及其结构的独立性,DHODH抑制似乎广泛适用于若干种病毒。在各种病毒感染的细胞中,如流感病毒感染、巨细胞病毒感染,甚至引起出血热的病毒如拉沙病毒,都观察到了这种广谱抗病毒作用。因此,使用具有改进的药物性能的化合物的本发明实施例所讨论的结果可以容易地外推到RNA病毒,如SARS-CoV-2感染。

[0211] 初步实验(例如,WO2012/128050或Kim等人,《病毒》(Viruses) 2020,12:821)已经证明了IMU-838在所治疗的患者的血液中达到的浓度(血浆水平10至30 μ M)下具有广谱抗病毒活性。在细胞培养实验中测试了IMU-838对HIV和丙肝病毒(HCV)的抗病毒活性。表明了IMU-838抑制病毒复制。在另一系列实验中,用HIV-191US005(CCR5嗜性,亚型B)体外感染HIV和乙肝病毒血清阴性的人外周血单核细胞(PBMC)。在不同的IMU-838浓度下评价逆转录酶活性和特异性HIV抗原p24的出现。中值有效剂量(ED₅₀)是约2 μ M。还在带有基因型1b的HCV亚基因组复制子与稳定荧光素酶(Luc)报告子和三种细胞培养适应性变异的Huh7人肝癌细胞系中评估了IMU-838。在不同浓度的IMU-838下,以复制子来源的Luc活性作为读数来评价

HCV复制子水平。中值ED₅₀是4.6μM。

[0212] 最后,在引起人出血热疾病如拉沙热的RNA病毒,即哺乳动物沙粒病毒感染的细胞A549和Vero模型中,IMU-838显示出了活性,IC₅₀(抑制50%的靶标活性的药物浓度)是2.8μM。此外,证明了在这种情况下,DHODH抑制介导的对这种病毒类型的作用不依赖于IFN信号传导。

[0213] 表1:IMU-838对各种RNA和DNA病毒具有广泛活性

	IMU-838 IC ₅₀	测试系统
hDHODH	0.12 μM	体外, 蛋白质, 人
mDHODH	10.0 μM	体外, 蛋白质, 小鼠
对成纤维细胞的细胞毒性	>30 μM	细胞
[0214] 对 HepG2 细胞的细胞毒性	>50 μM	细胞
HIV	2.2 μM 2.0 μM	RT (逆转录酶) p24
HCV	4.6 μM	复制子, 荧光素酶
拉沙热沙粒病毒	2.8 μM	斑块减少, 病毒蛋白表达

[0215] 先天免疫反应的继发性激活也被描述为相关下游机制。因此,DHODH抑制可以改善和阻断病毒的作为病毒复制手段的“劫持”人宿主细胞RNA产生机制的能力。这是一种具有广泛病毒活性优点的宿主细胞机制,不受病毒耐药性或变异影响,可以与靶向病毒本身的其它抗病毒药物组合。

[0216] 测试化合物的制备

[0217] 有多种可能产生式(I)化合物,如以下文献所述的方法:JP-A-50-121428、WO 2012/001148(实施例4),或Kralik等人,环戊烯二羧酸酰胺作为DHODH抑制剂的SAR、物种特异性和细胞活性(SAR, species specificity, and cellular activity of cyclopentene dicarboxylic acid amides as DHODH inhibitors),《生物有机与药物化学通讯》(Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters),第15卷,第21期,2005年11月1日,第4854-4857页,所述文献以引用的方式并入本文。

[0218] 具体来说,使用以下合成方法。

[0219] 方法1:在第一步中,可以由R.N.Mc Donald和R.R.Reitz,《有机化学杂志》(J.Org.Chem.) 37, (1972) 2418-2422所述的相应α,α'-二溴烷烃二羧酸获得环烯烷-1,2-二羧酸。还可以由庚二酸[D.C.Owsley和J.J.Bloomfield,《国际有机制备和程序》(Org.Prep.Proc.Int.), 3, (1971) 61-70;R. Willstätter,《化学会志》(J.Chem.Soc.) (1926), 655-663]大量获得环戊烯-1,2-二羧酸。环系中或环系上被取代的二羧酸一般可以通过氰化氢合成来合成[Shwu-Jiuan Lee等人,《台湾地区“中央研究院”数学研究所通讯》第40号, (1993), 1-10;或B.R.Baker等人,《有机化学杂志》(J.Org.Chem.), 13, 1948, 123-133;以及B.R.Baker等人,《有机化学杂志》(J.Org.Chem.), 12, 1947, 328-332; L.A.Paquette等人,《美国化学会志》(J.Am.Chem.Soc.), 97, (1975), 6124-6134]。二羧酸然后通过使它们与乙酸酐反应而转化为相应的酸酐[P.Singh和S.M.Weinreb,《四面体》(Tetrahedron), 32, (1976), 2379-2380]。

[0220] 用于制备不同的酸酐的其它方法还描述于以下文献中:V.A.Montero等人,《有机

化学杂志》(J.Org.Chem.), 54, (1989), 3664-3667; P. ten Haken, 《杂环化学杂志》(J.Heterocycl.Chem.), 7, (1970), 1211-1213; K.Alder、H.Holzrichter, 《尤斯图斯·李比希化学编年史》(J.Lieb.Annalen d.Chem.), 524, (1936), 145-180; K.Alder、E.Windemuth, 《尤斯图斯·李比希化学编年史》(J.Lieb.Annalen d.Chem.), 543, (1940), 56-78; 以及 W.Flaig, 《尤斯图斯·李比希化学编年史》(J.Lieb.Annalen d.Chem.), 568, (1950), 1-33。

[0221] 然后, 这些酸酐可以与相应的胺反应, 得到期望的式 (I) 的酰胺。此反应可以通过使用 J.V.de Julian Ortiz 等人, 《药物化学杂志》(J.Med.Chem.), 42, (1999), 3308 所述的反应条件 (实施例 1 中称为途径 A) 或通过使用 4-二甲基氨基吡啶 (实施例 1 中称为途径 B) 来进行。

[0222] 方法 2: 式 (I) 的酰胺还可以通过使式 (IV) 的胺与通式 (V) 的芳基硼酸反应而合成 [M.P.Winters, 《四面体通讯》(Tetrahedron Lett.), 39, (1998), 2933-2936]。联芳基苯胺一般可以通过钯偶联来合成 [G.W.Kabalka 等人, 《化学通讯》(Chem.Comm.), (2001), 775; A.Demeter, 《四面体通讯》(Tetrahedron Lett.), 38; (1997), 5219-5222; V.Snieckus, 《化学通讯》(Chem.Comm.), 22, (1999), 2259-2260]。

[0223] 方法 3: 式 (I) 的酰胺还可以通过使式 (VI) 的卤素衍生物与通式 (VII) 的芳基硼酸反应而合成 [N.E.Leadbeater、S.M.Resouly, 《四面体》(Tetrahedron), 55, 1999, 11889-11894]。

[0224] 钙盐的制备: 式 (I) 化合物的钙盐的合成详述于 WO 2012/001148 中, 所述申请以引用的方式并入本文。

[0225] WO 2019/175396 描述了一种新白色结晶钙盐 (式 (II)), 命名为“多晶型物 A”, 所述申请以引用的方式并入本文。可以通过 X 射线粉末衍射 (XRPD) 图区分这两种钙多晶型物:

[0226] (a) 如 WO 2012/001148 的图 5 所示的淡黄色钙多晶型物;

[0227] (b) 根据式 (II) 的白色钙多晶型物, 命名为“多晶型物 A”, 如 WO 2019/175396 的图 1 所示。

[0228] 测定和测试

[0229] 人 T 细胞的增殖测定

[0230] 从健康志愿者获得人外周血单核细胞 (PBMC), 转移到含有 10% 透析胎牛血清的 RPMI1640 细胞培养基。将 80,000 个细胞/孔吸移至 96 孔板, 加入在磷酸盐缓冲盐水中的植物血凝素 (PHA) 达到最终浓度为 20 μ g/ml 以刺激 T 细胞增殖。加入在二甲亚砜 (DMSO, 最终浓度: 0.1 体积%) 中的维多氟拉迪莫, 最终浓度在 20nM 至 50 μ M 的范围内。孵育 48 小时后, 使用“细胞增殖 ELISA BrdU” (罗氏), 根据制造商的说明书对细胞增殖进行定量。使用 4 参数 S 形曲线拟合计算半最大抑制 (IC_{50})。T 细胞增殖受到维多氟拉迪莫抑制, IC_{50} 是 4.1 μ M。

[0231] 生物利用率的测定

[0232] 在雄性威斯塔大鼠中比较维多氟拉迪莫的钙盐和游离酸的口服生物利用率。将游离酸或钙盐填充到明胶胶囊中, 动物接受以约 10mg 游离酸当量/公斤体重的剂量水平单次施用。

[0233] 将每组的四只雄性威斯塔大鼠 (体重范围: 250-275g) 用维多氟拉迪莫游离酸或其钙盐进行治疗。使用施药装置将胶囊施用到动物的食道中。在施用后的以下时间点, 在异氟烷麻醉下从动物获取静脉血样品: 30 分钟; 1 小时; 2 小时; 4 小时; 6 小时; 8 小时; 24 小时; 28 小

时;32小时和48小时。使用肝素钠抑制凝血,通过对血液样品进行离心来生成血浆。通过LC-MS/MS分析血浆样品的维多氟拉迪莫,根据混合对数线性梯形法计算药代动力学参数。

[0234] 为了检测钾盐,将六只雌性李维斯大鼠(体重约200g)用30mg/kg(游离酸当量)剂量水平的维多氟拉迪莫游离酸或其钾盐进行治疗。在含0.5%甲基纤维素的磷酸盐缓冲盐水中配制所述化合物,通过灌胃治疗动物。在施用后的以下时间点,在异氟烷麻醉下从动物获取静脉血样品:30分钟;1小时;2小时;4小时;8小时;26小时;33小时;48小时和72小时。使用肝素钠抑制凝血,通过对血液样品进行离心来生成血浆。通过LC-MS/MS分析血浆样品的维多氟拉迪莫,根据线性梯形法则法计算药代动力学参数(AUC)。

[0235] 通过比较施用盐后的维多氟拉迪莫的血浆浓度-时间曲线(AUC)下面积和最大实现血浆浓度(C_{max} 值)与施用游离酸后观测到的结果来评价盐的口服生物利用率。这些比率如表2所示。

[0236] 表2:对大鼠口服施用维多氟拉迪莫之后的PK参数比较

化合物	$AUC_{\infty}/AUC_{\infty, \text{游离酸}}$	$C_{\text{最大}}/C_{\text{最大, 游离酸}}$
维多氟拉迪莫游离酸	1	1
钾盐	0.96	1.09
钙盐	1.72	1.67

[0238] IMU-838对SARS-CoV-2的抗病毒活性的体外测试

[0239] 使用Vero 76细胞体外测试IMU-838对SARS-CoV-2的抗病毒活性。测试培养基是含2%FBS和庆大霉素的MEM。

[0240] 在测试培养基中制备病毒以实现最低可能感染复数(MOI),从而在5天内产生>80%细胞病变效应(CPE)。在制备和加入化合物之前如下所述对板进行感染。此研究的MOI是0.002。

[0241] 所述化合物以粉末形式接收,并溶解在DMSO中以制备100mM储备溶液。然后使用八次半对数稀释在DMSO中连续稀释化合物,最后在测试培养基中进行稀释,使得起始(高)测试浓度是100 μ M。将各稀释液加入96孔板中具有80-100%汇合细胞的5个孔。将各稀释液三个孔用病毒感染,未感染的两个孔作为毒性对照。被感染且未处理的六个孔作为病毒对照,未感染且未处理的六个孔作为细胞对照。平行测试M128533(蛋白酶抑制剂)作为阳性对照。在37 \pm 2 $^{\circ}$ C、5%CO₂下对板进行孵育。

[0242] 对于病毒产量降低测定,在感染后第3天收集各化合物浓度的上清液(3个孔汇集),使用标准终点稀释CCID₅₀测定对病毒滴度进行定量,并使用Reed-Muench(1948)公式计算滴度。通过回归分析计算病毒产量降低1log₁₀所需的化合物浓度。

[0243] 在感染后第5天,一旦未处理的病毒对照孔达到最大CPE,则用中性红染料对板进行染色约2小时(\pm 15分钟)。除去上清液染料,用PBS对孔进行冲洗,在50:50索伦森柠檬酸缓冲液/乙醇中提取并入的染料持续>30分钟,在光谱仪上在540nm读取光学密度。将光学密度转换为细胞对照的百分比并相对于病毒对照进行归一化,然后通过回归分析计算抑制CPE 50%所需的测试化合物浓度(EC₅₀)。同样计算不存在病毒时导致50%细胞死亡的化合物浓度(CC₅₀)。选择指数(SI)是CC₅₀除以EC₅₀。

[0244] 抗病毒结果如表3所示。IMU-838在0.32至10 μ M之间的浓度下对SARS-CoV-2表现出抗病毒活性。阳性对照化合物的表现也符合预期。

[0245] 表3. IMU-838对冠状病毒的体外抗病毒活性

SARS-CoV-2			
	EC ₅₀	CC ₅₀	SI
IMU-838	6.1	7.9	1.3

[0247] 单位是μM

[0248] EC₅₀: 50%有效抗病毒浓度

[0249] CC₅₀: 未加入病毒时化合物的50%细胞毒性浓度

[0250] $SI = CC_{50}/EC_{50}$

[0251] 在若干个细胞系和细胞谱系中使用可变读取方法进一步验证IMU-838对SARS-CoV-2感染的细胞的抑制功效 (Hahn等人,《病毒》(Viruses), 2020, 12:1394)。谱系。使用经SARS-CoV-2感染并且经药物处理的CaCo-2细胞进行上清液到用于对斑块形成进行定量的Vero E6细胞单层的转移, 在这种方法中, 在治疗设置下观察到病毒斑块减少了58倍。此外, 用Vero 76细胞进行VYR测定, 测量到病毒特异性EC₉₀是6.2±1.9μM, 感染后3天时药物浓度达到100μM时未观察到细胞毒性。表4提供了概述。

[0252] 表4. 基于培养细胞的SARS-CoV-2感染模型中的IMU-838功效的概述

细胞	SARS-CoV-2 分 离株	MOI	测定	EC ₅₀ [μM]	CC ₅₀ [μM]	SI ₅₀	EC ₉₀ [μM]	CC ₉₀ [μM]	SI ₉₀
Vero 76	USA_WA1/2020	0.002	VYR	-	-	-	6.2	>100	>16
Vero 76	MUC-IMB-1	0.0002	RT-qPCR	10.0	88	>10.0	-	-	-
Vero B4	MUC-IMB-1	0.0002	RT-qPCR	6.8	>100	>14.7	-	-	-
CaCo-2	MUC-IMB-1	0.001	VYR	7.5-15	>60	>4-8	15-30	>60	>2-4

[0254] 经测定, IMU-838在变异SARS-CoV-2毒株中的抑制功效可能类似:

[0255] 除SARS-CoV-2野生型或原始毒株外, 在与上述类似的病毒产量降低测定中将IMU-838在所关注的B.1.1.7和B.1.351变体中进行测试。将Vero E6细胞用不同浓度的IMU-838预处理24小时, 加入病毒后持续48小时, 随后收集上清液以测定CCID₅₀。对所有三种变体都证明了IMU-838的剂量依赖性感染性降低, 与原始毒株 (在10μM下约2个对数单位) 相比, 相关变体 (在10μM下>3个对数单位) 的对数单位降低甚至更强。

[0256] 维多氟拉迪莫在人患者中的活性和安全性的测试

[0257] 对有临床症状的急性SARS-CoV-2感染患者进行了14天、2期、两组、多中心、随机、安慰剂对照、双盲临床试验。在两个治疗组可用的标准护理治疗的背景下测试IMU-838对比安慰剂, 即

[0258] 第1组: 2×22.5mg IMU-838+标准护理

[0259] 第2组: 2×安慰剂+标准护理

[0260] IMU-838和安慰剂均以供口服使用的小 (直径8mm) 白片形式提供。

[0261] 制剂: 含22.5mg IMU-838的片剂, 圆形, 直径8mm, 无包衣

[0262] 施用: 片剂每天服用两次, 早上在餐前15-60分钟, 晚上在餐后至少2小时和餐前

15-60分钟

[0263] 剂量:45mg (作为22.5mg BID服用)

[0264] 参考产品:匹配安慰剂,按照针对测试产品所描述进行施用

[0265] 纳入标准是根据WHO COVID-19治疗试验概要(www.who.int/publications/i/item/covid-19-therapeutic-trial-synopsis)提出的九类有序量表以及其它标准临床和实验室条件评估临床状态符合第3-4类的患者。

[0266] 通过研究期间需要有创通气的患者比例来评估主要临床终点,即,在Covid-19成年受试者中,对IMU-838+标准护理(SOC)对比安慰剂+SOC在临床改善或出院时间方面的优越性进行评估。

[0267] 其它次要结果指标包括临床状态改善所需的时间、28天过程中和之后是否需要体外膜氧合(ECMO)或肾脏替代治疗、在重症监护病房(ICU)内治疗患者的持续时间和需要,比较IMU-838+SOC对比安慰剂+SOC治疗;在这一COVID-19患者群体中比较IMU-838+SOC治疗对比安慰剂+SOC治疗的28天全因死亡率;以及根据通过不良事件(AE)、严重不良事件(SAE)和实验室值测定来评估IMU-838+SOC对比安慰剂+SOC在COVID-19成年受试者中的安全性和耐受性。

[0268] 为了在患者治疗过程中探索病毒滴度、病毒毒力指标和炎症标志物,评估了以下生物标志物:

[0269] -病毒学指标包括随时间推移病毒RNA检测呈阳性的患者比例和病毒RNA滴度曲线下面积(AUC)测量值。A) SARS-CoV-2平均病毒载量,即每个拭子、痰液和粪便的log₁₀拷贝数,B) 鼻咽或呼吸道样品的定性病毒学清除率(上呼吸道样本的SARS-CoV-2RT-PCR测试的阴性率,连续两次阴性测试)。

[0270] -所检测和监测的生物化学标志物有D-二聚体、LDH、C-反应蛋白(CRP)、IL-17、IFN- γ 、IL-1 β 、IL-6、TNF α 、血清转化率以及IgM和IgG中和抗体。

[0271] 对于SOC,研究人员在所有标准护理疗法(包括IV输液、支持性疗法和药物治疗、氧气补充等)中选择,并可以自行判断选择任何以下抗病毒治疗(通用或品牌型式、单一疗法或组合治疗,包括固定组合治疗):

[0272] -神经氨酸酶抑制剂(例如奥司他韦及其通用型式扎那米韦)

[0273] -法匹拉韦

[0274] -瑞德西韦

[0275] -利巴韦林(也称为三氮唑核苷),包括其通用型式(例如Copegus、Rebetol、Ribasphere、Moderiba)

[0276] -干扰素 α -2b/全身用利巴韦林(Rebetron)

[0277] -干扰素 α 2a或2b,包括其任何聚乙二醇化型式

[0278] -氯喹和羟氯喹,如与阿齐霉素组合给药

[0279] -度鲁特韦+利匹韦林(JULUCA®)

[0280] -度鲁特韦+拉米夫定(DOVATO®)

[0281] -利托那韦+洛匹那韦(KALETRA®)

[0282] -比克替拉韦+替诺福韦艾拉酚胺+恩曲他滨(BIKTARVY®)

[0283] -度鲁特韦+阿巴卡韦+拉米夫定(TRIUMEQ®)

[0284] -艾维雷韦+考比司他+恩曲他滨+替诺福韦艾拉酚胺(GENVOYA®)

[0285] -艾维雷韦+考比司他+恩曲他滨+富马酸替诺福韦二吡酯+恩曲他滨(STRIBILD®)

[0286] 不接受作为抗病毒治疗的是阿比多(Arbidol)。允许对疑似细胞因子释放综合征患者使用托珠单抗。

[0287] 将患者1:1随机分组,使得一半患者接受IMU-838+SOC,另一半患者接受匹配安慰剂+SOC,持续长达14天。治疗作为双盲治疗给与,仅允许因患者安全性之故紧急揭盲。用研究药物治疗14天后,中断研究药物,但所有患者都自由继续研究者选择的标准护理治疗(包括抗病毒治疗,如有指明),并且不再有任何关于伴随药物治疗或使用其它不被接受为SOC的抗病毒治疗的限制。关于研究结束评价,在第28天对患者进行评价。

[0288] 在有223名患者的2期试验中测试了IMU-838。此试验显示了在中度2019冠状病毒病(COVID-19)住院患者中在以下终点的临床活性的初步证据:

[0289] 临床恢复所需时间:IMU-838治疗的患者中在第7天达到临床恢复的患者比例是18.5%(N=15),相比之下安慰剂组仅为12.8%(N=10)。第28天时,IMU-838治疗的患者中有71.3%(N=57)已经恢复,相比之下安慰剂组中仅为66.7%(N=58)(全分析集(FAS))。

[0290] 临床改善所需时间:与安慰剂相比,IMU-838治疗组的临床改善所需时间更短,获益增量随时间推移而增加(改良全分析集(mFAS))。

[0291] • IMU-838治疗的患者中在第14天达到临床改善的患者比例(根据研究人员的评价)是42.7%(N=38),相比之下安慰剂组中仅为38.5%(N=35)(FAS)。第28天时,数值分别是90.9%(N=90)和87.4%(N=90)。与IMU-838治疗组相比,安慰剂组中没有改善的相对患者比例在14天时高出6.8%,在28天时高出27.7%。

[0292] • 第14天后,与安慰剂相比,IMU-838治疗的患者的临床改善概率(集中计算)更高。例如,与安慰剂相比,IMU-838治疗的患者达到临床改善的75%概率加速了2.9天(mFAS)。

[0293] • 与安慰剂组相比,IMU-838治疗的患者的住院持续时间的第三患者四分位数(75%患者的住院持续时间较之更短,25%患者的住院持续时间较之更长)缩短了3.4天(mFAS)。

[0294] • 当在COVID-19病程早期(症状出现后前8天内)使用IMU-838时,观察到临床改善(集中计算)更好(mFAS)。

[0295] 与普通患者群体相比,高危患者和65岁以上患者从IMU-838获得了更显著的治疗益处:

[0296] • 与安慰剂相比,IMU-838治疗的高危患者[6]达到临床改善的75%概率(基于研究者评价)加速了3.8天(FAS)。

[0297] • 与安慰剂相比,IMU-838治疗的老年患者(65岁以上)达到临床改善的75%概率[5](基于研究者评价)加速了4.8天(FAS)。

[0298] • 在老年患者组(65岁以上)中,与安慰剂相比,IMU-838有助于更快地提高WHO评分,提高了至少两点(mFAS)。在第14天,36.4%(N=8/22)的老年患者在IMU-838治疗后达到

WHO评分提高了两点,而只有22.2% (N=4/18)的老年患者在安慰剂治疗后在第14天达到这样的提高。

[0299] 病毒负荷以及生化炎症和疾病标志物:

[0300] • 在治疗期结束(第14天)和研究结束(第28天)时,通过病毒滴度观察IMU-838对SARS-CoV-2的抗病毒作用。

[0301] • 与安慰剂相比,在IMU-838治疗的患者中,基于血液中的公认炎症标志物C-反应蛋白(CRP)的更有效降低观察IMU-838的抗炎作用。

[0302] • 与安慰剂相比,在IMU-838治疗的患者中观察到COVID-19的公认预后疾病标志物D-二聚体被更有效降低。

[0303] 发现IMU-838在中度COVID-19住院患者中是安全的且耐受性良好。与安慰剂相比,在此患者群体中未观察到关于IMU-838的新或更严重不良事件的一般安全性信号。此外,与安慰剂相比,IMU-838的严重不良事件和导致治疗中断的不良事件的发生率没有增加。该试验还发现,与安慰剂(12.6%)相比,IMU-838治疗的患者中强度增加的COVID-19相关不良事件减少(7.1%),并且IMU-838没有加剧COVID-19的任何血液学影响。此外,与安慰剂相比,IMU-838没有增加COVID-19患者的感染和侵袭率以及肝脏事件发生率。

[0304] 通过阻断超活化的免疫细胞中的细胞因子产生在所谓的细胞因子风暴中抑制过度免疫反应

[0305] 一般来说,使用IMU-838抑制DHODH的关键优点是特异性免疫细胞对DHODH抑制的敏感性与其细胞内代谢激活状态相关,因此不会对免疫系统的“正常”细胞造成负面影响,但对超活化的免疫细胞具有选择性。

[0306] 在研究中,IMU-838能够阻断超活化免疫细胞的T细胞介导的细胞因子产生。在IMU-838的动物研究中,用大剂量的IMU-838活性部分治疗的动物显示出对骨髓没有不利影响,从而支持不存在许多传统免疫抑制剂常见的非特异性抗增殖作用。

[0307] 在COVID-19的背景下,这种作用有助于限制过度活跃的炎症反应(“细胞因子风暴”),而不会关闭整个免疫系统(COVID-19严重病例的主要并发症)。

[0308] IMU-838与瑞德西韦组合的体外抗病毒活性

[0309] 体外测试IMU-838单独或与瑞德西韦组合时对SARS-CoV-2的抗病毒活性。使用Vero 76细胞进行测定,测试培养基是含2%FBS和庆大霉素的MEM。

[0310] 在测试培养基中制备病毒以实现最低可能MOI,从而在5天内产生>80% CPE。加入化合物后如下所述对板进行感染。此研究的MOI是0.002。

[0311] 从发起者接收粉末形式的化合物。将化合物溶解在DMSO中,以制备100mM储备溶液。瑞德西韦是购自MedChem Express。以10、5或1 μ M测试化合物。各浓度单独或与另一化合物的各浓度组合进行测试。将化合物加入96孔板中具有80-100%汇合细胞的孔。在37 \pm 2 $^{\circ}$ C、5%CO₂下对板进行孵育。

[0312] 对于病毒产量降低测定,在感染后第3天收集各化合物浓度的上清液(3个孔汇集),在Vero 76细胞上孵育5天之后使用标准终点稀释CCID₅₀测定对病毒滴度进行定量,并使用Reed-Muench(1948)公式计算滴度。

[0313] 结果:在任何药物浓度下都没有观察到毒性,包括同时含有这两种化合物的孔。表5示出了组合治疗的抗病毒结果。在10 μ M浓度下,IMU-838使SARS-CoV-2的滴度降低了>

1log₁₀ CCID₅₀,但所有其它浓度都没有降低病毒滴度。瑞德西韦在10和5μM剂量下在使病毒滴度降低>1log₁₀ CCID₅₀方面有效。在10μM IMU-838浓度和1μM瑞德西韦浓度下,IMU-838和瑞德西韦的组合似乎具有协同作用,所述组合使病毒滴度降低到检测水平以下(表5)。此外,1μM IMU-838与5μM瑞德西韦似乎有潜在的加和效应(表5)。总体上,用IMU-838与瑞德西韦组合治疗感染了SARS-CoV-2的Vero 76细胞似乎有有益的效果。

[0314] 表5. 各组合的病毒滴度。

		瑞德西韦(μM)				
		10	5	1	0	
[0315]	IMU-838	10	<0.67	<0.67	<0.67	4.5
		5	<0.67	1.7	4.5	5.7
		1	<0.67	<0.67	5.5	5.7
		0	<0.67	1.7	5.0	5.7

[0316] 病毒滴度单位是50%细胞培养感染剂量(CCID₅₀)/ml

[0317] Hahn等人,《病毒》(Viruses),2020,12:1394最近公开了一项更详细的研究,得出了类似的结论。