

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **026673**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2017.05.31

(21) Номер заявки
201170530

(22) Дата подачи заявки
2009.10.07

(51) Int. Cl. **C07D 277/24** (2006.01)
C07D 417/12 (2006.01)
A61K 31/426 (2006.01)
A61K 31/427 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)
A61P 31/18 (2006.01)

(54) АМИДНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ В КАЧЕСТВЕ УСИЛИТЕЛЕЙ ПРОТИВОВИРУСНЫХ ПРЕПАРАТОВ

(31) **08166004.5**

(32) **2008.10.07**

(33) **EP**

(43) **2011.12.30**

(86) **PCT/EP2009/062996**

(87) **WO 2010/040762 2010.04.15**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ЯНССЕН САЙЕНСИЗ АЙРЛЭНД
ЮСи (IE)**

(72) Изобретатель:
**Йонкерс Тим Хьюго Мария, Схепенс
Вим Берг Грит, Аше Жервен Ивонн
Поль (BE), Халленбергер Беате
Забине (DE), Сасаки Дженнифер
Тийоми (US), Баумайстер Юдит Ева
(BE), Ван'т Кластер Гербен Альберт
Элегериус (NL)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) WO-A-2009071650
WO-A-2008027932
WO-A-2006108879
KEMPF D.J. ET AL.: "Pharmacokinetic enhancement of inhibitors of the human immunodeficiency virus protease by coadministration with ritonavir", ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, WASHINGTON, DC, US, vol. 41, no. 3, 1 March 1997 (1997-03-01), pages 654-660, XP002480911, ISSN: 0066-4804, cited in the application, the whole document
WO-A-2005030194

(57) Изобретение относится к соединениям, которые обладают свойствами ингибирования CYP450 и поэтому являются полезными в качестве усилителей некоторых лекарственных средств, т.е. они способны повышать по меньшей мере одну из фармакокинетических переменных некоторых лекарственных средств при их совместном введении. Изобретение, кроме того, предоставляет применение указанных соединений в качестве средств, улучшающих биодоступность некоторых лекарственных средств. Также предоставлены способы получения соединений по изобретению и фармацевтические композиции, содержащие такие соединения.

026673
B1

026673
B1

Настоящее изобретение относится к соединениям, которые обладают свойствами ингибирования СУР450 и поэтому являются полезными в качестве усилителей некоторых лекарственных средств, то есть они способны увеличивать по меньшей мере одну из фармакокинетических переменных определенных лекарственных средств при совместном введении. Изобретение также относится к применению указанных соединений в качестве улучшителей биодоступности некоторых лекарственных средств. Также представлены способы получения соединений по настоящему изобретению и фармацевтические композиции, содержащие данные соединения.

Многие лекарственные средства, включая некоторые ингибиторы ВИЧ-протеазы (PI) и нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (NNRTI), метаболизируются при помощи системы цитохрома P450. Система цитохрома P450 представляет собой группу ферментов, обнаруженных в печени и кишечнике, которые имеют целый ряд функций в организме человека. Активность цитохрома P450 различается индивидуумами и между популяциями. Небольшие генетические изменения могут влиять на то, сколько конкретных ферментов экспрессируется и соответственно насколько быстро метаболизируется лекарственное средство.

Ферменты системы цитохрома P450, которые происходят из определенного гена, называют изоформами. На основании сходства их химического состава изоформы подразделяются на семейства и подсемейства. Варианты ферментов описываются при помощи цифровой и буквенной системы, которая отражает их химическую и генетическую структуру.

Цитохром P450, подсемейство IIIA (нифедипиноксидаза), полипептид 4, также указываемый как СУР3A4, представляет собой один конкретный метаболический путь, используемый для расщепления и выведения лекарственных средств и других веществ.

Метаболизм некоторых лекарственных средств системой цитохрома P450 часто приводит к неблагоприятной фармакокинетике указанных лекарственных средств и необходимости их более частого введения в дозах, более высоких, чем наиболее желательные. Введение таких лекарственных средств вместе со средством, которое ингибирует метаболизм, осуществляемый системой цитохрома P450, может улучшить фармакокинетику лекарственного средства. В этой связи были опубликованы способы улучшения фармакокинетики некоторых лекарственных средств, см., например, патент США 6037157; D.E. Kempf et al. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 41, p. 654-660 (1997).

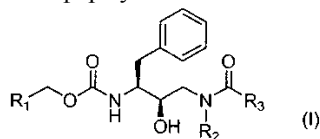
В WO 03/049746 раскрыт способ улучшения фармакокинетики ингибиторов ВИЧ-протеазы, содержащих гексагидрофуоро[2,3-b]фуранил, включающий введение человеку, нуждающемуся в этом, комбинации терапевтически эффективного количества ингибитора ВИЧ-протеазы, содержащего гексагидрофуоро[2,3-b]фуранил, и терапевтически эффективного количества ингибитора цитохрома P450.

Большинство ингибиторов ВИЧ-протеазы в клинической терапии в настоящее время комбинируют с ритонавиром для улучшения воздействия и тем самым повышения клинической эффективности. Такой тип применяемого взаимодействия лекарственное средство-лекарственное средство называется "бустинг-гом". Бустинг также обеспечивает упрощенные схемы лечения для существующих ингибиторов протеазы путем снижения лекарственной нагрузки и частоты ежедневных приемов лекарственного средства.

К сожалению, усиление PI режимов при помощи ритонавира, даже при низких дозах, проходит не без риска. Ритонавир сам по себе является ингибитором ВИЧ-протеазы. Резистентность к ритонавиру связана с выбором одной или нескольких мутаций резистентности. Мутации резистентности, выбираемые ритонавиром, часто сообщают резистентность или способствуют резистентности к другим ингибиторам протеазы. Различные мутации связаны с перекрестной резистентностью к различным лекарственным средствам. Например, M46I связана с перекрестной резистентностью к индинавиру, нелфинавиру и фосампренавиру (но не к саквинавиру); V82A,F,T,S отдельно связана с перекрестной резистентностью к индинавиру, но в комбинации с другими мутациями также сообщает резистентность к нелфинавиру, фосампренавиру и саквинавиру; и 184V способствует резистентности против всех существующих ингибиторов протеазы. Хотя ни одна из таких мутаций в отдельности не связана с полной резистентностью к лопинавиру, но каждая способствует частичной резистентности, и присутствие одновременно нескольких мутаций может придать резистентность. Ответная реакция на индинавир маловероятна в условиях резистентности к ритонавиру.

Таким образом, в медицине существует сильная необходимость в альтернативах ритонавиру в качестве усиливающего средства в эффективном и безопасном лечении ВИЧ. Также в медицине существует сильная необходимость в альтернативах ритонавиру в качестве усиливающего средства в эффективном и безопасном лечении ВИЧ, где возможность развития резистентности из-за усиливающего средства исключается.

В соответствии с настоящим изобретением, было обнаружено, что следующие соединения формулы (I) обладают свойствами ингибирования CYP450 и являются полезными в качестве усиливающих средств. Данные соединения представлены формулой



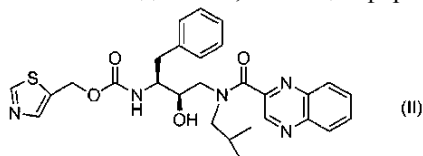
их соли,

где R₁ представляет собой 5-тиазолил;

R₂ представляет собой изобутил;

R₃ представляет собой хиноксалил.

Наиболее предпочтительным является соединение, имеющее формулу



его соли, при этом указанное соединение имеет химическое название тиазол-5-илметилловый эфир 1S-2R-{1-бензил-2-гидрокси-3-[изобутил(хиноксалин-2-карбонил)амино]пропил} карбаминовой кислоты.

Указанные выше соединения были обнаружены как сообщающие минимальную или вообще не сообщающие резистентность против ВИЧ, и поэтому являются полезными альтернативами ритонавиру (RTV) в качестве усилителей ингибиторов ВИЧ.

Также было обнаружено, что указанные выше соединения полезны в качестве средств для усиления других ингибиторов вирусов, таких как, например, ингибиторы HCV (вируса гепатита С) и/или RSV (респираторно-синцитиального вируса). Комбинация указанных соединений и других лекарственных средств, таких как ингибиторы ВИЧ, HCV или RSV выгодна тем, что дает возможность обеспечения лечения инфицированных пациентов, которое является безопасным, эффективным и позволяет вводить более низкие терапевтически эффективные дозы противовирусных препаратов по сравнению с тем, когда такие противовирусные препараты вводят отдельно. Более низкая доза всегда желательна с точки зрения токсичности и лекарственной нагрузки, тем самым уменьшая частоту возникновения побочных эффектов и повышая действие лечения соответственно. Комбинация соединений формул (I) и (II) и ингибиторов ВИЧ или других ингибиторов вирусов обеспечивает синергический эффект этих противовирусных средств при введении указанной комбинации пациенту, нуждающемуся в этом.

Как это используется выше и далее в настоящем описании, применимы следующие определения, если не указано иное.

Следует отметить, что положения радикала в любом молекулярном фрагменте, используемом в определениях, могут представлять собой любое положение в таком фрагменте, при условии, что он является химически стабильным.

Всякий раз, при использовании в дальнейшем терминов "соединения формулы (I), например", "соединения по настоящему изобретению", "соединения по изобретению" или аналогичных терминов, это означает, что включены соединения формулы (I) и любые их подгруппы, соединения, указанные в таблицах и примерах ниже, пролекарства, рацемические смеси, сложные эфиры, аддитивные соли, сольваты, четвертичные амины, N-оксиды, комплексы металлов и метаболиты любого из указанных выше соединений. Один вариант осуществления настоящего изобретения включает соединения формулы (I) или любую их подгруппу, определенные в настоящем описании, а также их соли.

Всякий раз при их дальнейшем использовании термины "противовирусное средство (средства) против ВИЧ" и "ингибитор(ингибиторы) ВИЧ" являются взаимозаменяемыми и имеют в контексте настоящего описания один и тот же смысл.

Для некоторых соединений по настоящему изобретению, их пролекарств, N-оксидов, солей, сольватов, четвертичных аминов, или комплексов с металлами, а также промежуточных соединений, используемых для их получения, абсолютную стереохимическую конфигурацию экспериментально не определяли. Специалист в данной области сможет определить абсолютную конфигурацию таких соединений с использованием способов, известных в данной области, таких как, например, рентгеноструктурный анализ.

Настоящее изобретение также предусматривает включение всех изотопов атомов, присутствующих в соединениях по настоящему изобретению. Изотопы включают такие атомы, которые имеют одинаковый атомный номер, но разные массовые числа. В качестве общего примера, но без ограничения, изотопы водорода включают тритий и дейтерий. Изотопы углерода включают C-13 и C-14.

Термин "пролекарство", как он используется в различных разделах данного описания, означает фармакологически приемлемые производные, такие как сложные эфиры, амиды и фосфаты, так, чтобы образуемые в результате *in vivo* биотрансформации продукт такого производного представлял собой ак-

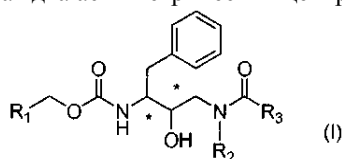
соединения формулы (I) и подходящим агентом кватернизации, таким как, например, необязательно замещенный алкилгалогенид, арилгалогенид или арилалкилгалогенид, например метилиодид или бензилиодид. Также можно использовать другие активные вещества с легко удаляемыми группами, такие как алкилтрифторметансульфонаты, алкилметансульфонаты и алкил-п-толуолсульфонаты. Четвертичный амин содержит положительно заряженный азот. Фармацевтически приемлемые противоионы включают хлор, бром, йод, трифторацетат и ацетат. Выбранный противоион можно ввести с использованием ионообменных смол.

Предусматривается, что N-оксидные формы соединений по настоящему изобретению включают соединения формулы (I), где один или несколько атомов азота окислены до так называемого N-оксида.

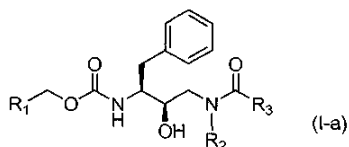
Ценным является, когда соединения формулы (I) могут обладать металлсвязывающими, хелатообразующими, комплексообразующими свойствами и поэтому могут существовать в виде комплексов с металлами или металлохелатных соединений. Предусматривается, что такие металлизированные производные соединений формулы (I) включены в объем настоящего изобретения.

Некоторые соединения формулы (I) могут также существовать в их таутомерной форме. Такие формы, хотя они определенным образом не указаны в представленной выше формуле, предусматриваются как включенные в объем настоящего изобретения.

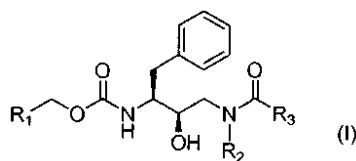
Соединения формулы (I) содержат два асимметрических центра, указанных звездочкой ниже



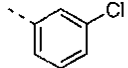
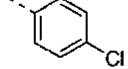
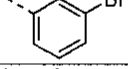
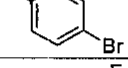
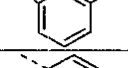
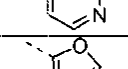
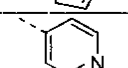
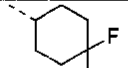
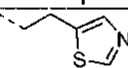
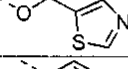
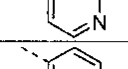
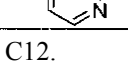
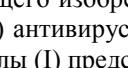
Предпочтительно соединения формулы (I) имеют стереохимию, показанную в структуре формулы (I-a) ниже



Соединения формулы (I) согласно настоящему изобретению могут быть выбраны из любого из представленных ниже соединений таблицы. Помимо картины замещения (указанной при помощи R, R₁, R₂), представлены данные ЖХ-МС (m/z (M+1) и время удерживания (R_t). Представленные результаты и примеры представлены для иллюстрации настоящего изобретения, и их не следует рассматривать как ограничивающие объем настоящего изобретения.



Соед. №	R ₁	R ₂	R ₃	m/z (M+1)	Rt (мин)
C1	5-тиазолил	изобутил		526	2,19
C2	5-тиазолил	изобутил		522	2,29
C3	5-тиазолил	изобутил		496	2,36
C4	5-тиазолил	изобутил		550	2,49
C5	5-тиазолил	изобутил		512	2,23
C6	5-тиазолил	изобутил		500	2,26
C7	5-тиазолил	изобутил		512	2,25
C8	5-тиазолил	изобутил		483	3,84
C9	5-тиазолил	изобутил		483	2,02
C10	5-тиазолил	изобутил		496	2,36
C11	5-тиазолил	изобутил		550	2,48
C12	5-тиазолил	изобутил		534	2,32
C13	5-тиазолил	изобутил		483	1,88
C14	5-тиазолил	изобутил		471	2,13

C15	5-тиазолил	изобутил		516	2,49
C16	5-тиазолил	изобутил		516	2,41
C17	5-тиазолил	изобутил		560	4,92
C18	5-тиазолил	изобутил		560	2,45
C19	5-тиазолил	изобутил		500	2,27
C20	5-тиазолил	изобутил		477	1,79
C21	5-тиазолил	изобутил		472	2,12
C22	5-тиазолил	2,2-диметилпропил		497	4,05
C23	5-тиазолил	изобутил		524	2,36
C24	5-тиазолил	изобутил		517	3,88
C25	5-тиазолил	изобутил		519	2,13
C26	5-тиазолил	2-гидрокси-2-метилпропил		499	1,47
C27	5-тиазолил	циклогексилметил		523	2,17

Предпочтительным соединением является соединение C12.

В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения предоставлена комбинация, содержащая (а) соединение формулы (I) или его соль и (b) противовирусное средство против ВИЧ или его фармацевтически приемлемую соль; где соединение формулы (I) представляет собой C12.

В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения предоставлена комбинация, содержащая (а) соединение формулы (I) или его соль и (b) противовирусное средство против ВИЧ или его фармацевтически приемлемую соль; где соединение формулы (I) представляет собой C12 и где противовирусное средство против ВИЧ выбрано, например, из нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы (NRTI), например, зидовудина (AZT), диданозина (ddl), залцитабина (ddC), ламивудина (3TC), ставудина (d4T), эмтрицитабина (FTC), абакавира (ABC), априцитабина (AVX-754), элвцитабина (ACH-126,443), фосфазида, KP-1461, MIV-210, рацивира (PSI-5004) и подобных; или нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы (NNRTI), таких как делавирдин (DLV), эфавиренц (EFV), невирапин (NVP), каправирин (CPV), каланолит А, дапивириин (TMC120), этравирин (TMC125), рилпивирин (TMC278), аловудин (MIV-310), UC-781 и подобные; или нуклеотидных ингибиторов обратной транскриптазы (NtRTI), например, тенофовира и fumarата тенофовир дизопроксила (TDF) и подобных; или ингибиторов трансактивирующих белков, таких как TAT-ингибиторы, например, RO-5-3335, BI-201; ингибиторов REV; или ингибиторов протеазы, например, ритонавира (RTV), саквинавира (SQV), лопинавира (ABT-378 или LPV), индинавира (IDV), ампренавира (VX-478), TMC-126, нелфинавира (AG-1343), атазанавира (BMS-232632), дарунавира (TMC-114), поставляемого в настоящее время на рынок под маркой Prezista™, SPI-256, фосампренавира (GW433908 или VX-175), P-1946, MK-8122 (PPL-100), типранавири (PNU-140690) или ингибитора протеазы, имеющего химическое название гексагидрофуоро[2,3-*b*]фуран-3-иловый эфир (1-бензил-3-{[2-(1-циклопентилпиперидин-4-иламино)бензотиазол-6-сульфонил]изобутиламино}-2-гидроксипропил)карбаминовой кислоты, и подобных; или ингибиторов вирусной интегразы, например ралтегравира (MK-518), элвитегравира (GS-9137; JTK-303), BMS-538,158 и подобных; или ингибиторов проникновения, которые включают ингибиторы слияния (например, T-20 или энфувиртид, T-1249), ингибиторы присоединения и ингибиторы корецепторов; последние включают антагонисты CCR5 и антагонисты CXCR4 (например, AMD-3100); примеры ингибиторов проникновения включают PRO-140, PRO-542, TBR-220 (TAK-220), TBR-652 (TAK-652), викривирок (SCH-417,690), TNX-355, маравирок (UK-427,857), BMS-488,043, BMS-806; ингибитора созревания, например бевиримата (PA-457); ингибиторов рибонуклеотид-редуктазы (клеточные ингибиторы), например гидроксимочевин и подобных; или ком-

бинаций любых из перечисленных выше.

Наиболее предпочтительным вариантом осуществления является комбинация, содержащая (а) соединение C12 или его соль; и (b) противовирусное средство против ВИЧ, выбранное из дарунавира ($[(1R,5S,6R)-2,8\text{-диоксабицикло}[3.3.0]\text{окт-6-ил}] \text{ N}-[(2S,3R)-4-[(4\text{-аминофенил})\text{сульфонил}(2\text{-метилпропил)амино}]-3\text{-гидрокси-1-фенилбутан-2-ил}] \text{карбамат}$) или соединения, которое имеет химическое название гексагидрофуро[2,3-*b*]фуран-3-иловый эфир (1-бензил-3-{[2-(1-циклопентилпиперидин-4-иламино)бензотиазол-6-сульфонил]изобутиламино}-2-гидроксипропил)карбаминовой кислоты.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения предоставлен способ получения комбинации, описанной в настоящем описании, включающий стадию комбинации соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли и противовирусного средства против ВИЧ или его фармацевтически приемлемой соли. Альтернативный вариант осуществления настоящего изобретения обеспечивает способ получения, где комбинация содержит одно или несколько дополнительных средств, описанных в настоящем описании.

Комбинацию по настоящему изобретению можно использовать в качестве лекарственных средств. Указанное применение в качестве лекарственного средства или способ лечения включает системное введение ВИЧ-инфицированным субъектам количества, эффективного для борьбы с состояниями, связанными с ВИЧ. Следовательно, комбинацию по настоящему изобретению можно использовать для получения лекарственного средства, полезного для лечения, профилактики или борьбы с инфекцией или заболеванием, связанным с ВИЧ-инфекцией, у млекопитающего.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения предоставлена фармацевтическая композиция, содержащая комбинацию согласно любому из вариантов осуществления описанных в настоящем описании, и фармацевтически приемлемый эксципиент. В частности, настоящее изобретение обеспечивает получение фармацевтической композиции, содержащей (а) терапевтически эффективное количество соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли, (b) терапевтически эффективное количество противовирусного средства против ВИЧ или его фармацевтически приемлемой соли и (c) фармацевтически приемлемый эксципиент. Фармацевтическая композиция необязательно дополнительно содержит дополнительное средство, выбранное из противовирусного средства против ВИЧ.

Как он используется в настоящем описании, термин "композиция" охватывает продукт, содержащий определенные ингредиенты, а также любой продукт, который является результатом, прямым или косвенным, комбинации определенных ингредиентов.

Термин "терапевтически эффективное количество", как он используется в настоящем описании, означает такое количество активного соединения или компонента или фармацевтического средства, которое вызывает биологический или медицинский ответ в ткани, системе, организме животного или человека, которого добиваются, в свете настоящего изобретения, исследователь, ветеринар, врач или другой клиницист, который включает облегчение симптомов заболевания, подлежащего лечению. Поскольку настоящее изобретение относится к комбинациям, содержащим два или более средств, "терапевтически эффективное количество" представляет собой такое количество таких средств, взятых вместе, чтобы объединенный эффект вызывал желаемый биологический или медицинский ответ. Например, терапевтически эффективное количество композиции, содержащей (а) соединение формулы (I) и (b) противовирусное средство против ВИЧ, должно представлять собой количество соединения формулы (I) и количество противовирусного средства против ВИЧ, которые, взятые вместе, имеют объединенный эффект, который является терапевтически эффективным.

Фармацевтическую композицию можно получить способом, который для специалистов в данной области является известным *per se*. Для этой цели, по меньшей мере одно из соединений формулы (I) или любой их подгруппы и противовирусное средство против ВИЧ, вместе с одним или несколькими твердыми или жидкими фармацевтическими эксципиентами и, если это желательно, в комбинации с другими фармацевтически активными соединениями, приводят в форму, подходящую для введения, или лекарственную форму, которую затем можно использовать в качестве фармацевтического средства для лечения человека или в ветеринарии.

В одном варианте осуществления комбинация по настоящему изобретению также может быть составлена в виде комбинированного препарата для одновременного, раздельного или последовательного применения в ВИЧ терапии, как это является подходящим. В таком случае, соединение общей формулы (I) или любую его подгруппу составляют в фармацевтическую композицию, содержащую другие фармацевтически приемлемые эксципиенты, и подходящее противовирусное средство против ВИЧ составляют отдельно в фармацевтическую композицию, содержащую другие фармацевтически приемлемые эксципиенты. Удобно, когда эти две раздельные фармацевтические композиции являются частью набора для одновременного, раздельного или последовательного применения.

Таким образом, отдельные компоненты комбинации по настоящему изобретению можно вводить отдельно в разное время в ходе курса терапии или одновременно в разделенных формах или в одной комбинированной форме. Поэтому следует понимать, что настоящее изобретение охватывает все такие режимы одновременного или чередующегося лечения, и термин "введение" следует интерпретировать соответствующим образом. В предпочтительном варианте осуществления отдельные лекарственные

формы вводят примерно одновременно.

Композиции или продукты, содержащие комбинацию по настоящему изобретению, либо составленные вместе в одну композицию, либо составленные для одновременного, разделенного или последовательного применения, можно вводить перорально (включая суспензии, капсулы, таблетки, саше, растворы, суспензии, эмульсии), сублингвально, парентерально (включая подкожные инъекции, внутривенную, внутримышечную, внутрикожную инъекцию или инфузию), местным путем, ректально (включая суппозитории), вагинально, через имплантируемый резервуар, в композиции, представляющих собой единичную дозированную форму, содержащую традиционные нетоксичные фармацевтически приемлемые носители, адъюванты и наполнители.

Для перорального введения, композиции по настоящему изобретению могут быть смешаны с подходящими добавками, такими как эксципиенты, стабилизаторы или инертные разбавители, и придать им, с использованием традиционных способов, подходящие для введения формы, такие как таблетки, таблетки с покрытием, твердые капсулы, водные, спиртовые или масляные растворы. Примеры подходящих инертных носителей включают аравийскую камедь, оксид магния, карбонат магния, фосфат кальция, лактозу, глюкозу или крахмал, в частности кукурузный крахмал. В этом случае, препарат может быть получен как в виде сухих, так и мокрых гранул. Подходящие масляные эксципиенты или растворители включают растительные или животные масла, такие как подсолнечное масло или масло печени трески. Подходящие растворители для водных или спиртовых растворов включают воду, этанол, растворы сахаров или их смеси. Полиэтиленгликоли и полипропиленгликоли также являются полезными в качестве дополнительных вспомогательных средств для других форм введения. В качестве таблеток немедленного высвобождения, такие композиции могут содержать микрокристаллическую целлюлозу, дикальцийфосфат, крахмал, стеарат магния и лактозу и/или другие эксципиенты, связующие, наполнители, разрыхлители, разбавители и лубриканты, известные в данной области.

Пероральное введение комбинации по настоящему изобретению подходящим образом осуществляют путем однородного и тесного смешивания вместе подходящего количества каждого компонента в форме порошка, необязательно также включая тонко измельченный твердый носитель, и инкапсулирования смеси, например, в твердую желатиновую капсулу. Твердый носитель может включать одно или несколько веществ, которые действуют как связующие, лубриканты, разрыхлители, красители и подобные. Подходящие твердые носители включают, например, фосфат кальция, стеарат магния, тальк, сахара, лактозу, декстрин, крахмал, желатин, целлюлозу, поливинилпирролидин, низкоплавкие воски и ионообменные смолы.

Пероральное введение комбинации по настоящему изобретению также можно осуществить путем получения капсул или таблеток, содержащих желаемое количество соединения формулы (I), только необязательно смешанное с твердым носителем, описанным выше, и капсул, содержащих только желаемое количество противовирусного средства против ВИЧ. Прессованные таблетки, содержащие соединение формулы (I), можно получить путем однородного и тесного смешивания активного ингредиента с твердым носителем, таким как описано выше, с получением смеси, имеющей необходимые свойства для прессования, и последующего прессования смеси в подходящей машине для придания желаемой формы и размера. Формованные таблетки можно получить путем формования в подходящей машине смеси порошкообразного соединения формулы (I), смоченного инертными жидкими разбавителями. Пероральное введение также можно осуществить путем получения прессованных или формованных таблеток, содержащих соединение формулы (I), как описано непосредственно выше, таблеток подходящего размера для включения в стандартные капсулы (например, твердые желатиновые капсулы), и затем введения таблеток в капсулы, содержащие подходящее количество противовирусного средства против ВИЧ в виде порошка.

Для подкожного или внутривенного введения, активные компоненты композиций, если желательно, с веществами, традиционно используемыми для этого, такими как солюбилизующие вещества, эмульгаторы или дополнительные вспомогательные средства, приводят в форму раствора, суспензии или эмульсии. Компоненты композиций также можно лиофилизировать, и полученные лиофилизаты использовать, например, для получения препаратов для инъекций или инфузий. Подходящие растворители включают, например, воду, физиологический солевой раствор или спирты, например, этанол, пропанол, глицерин, кроме того, также растворы сахаров, такие как растворы глюкозы или маннита, или, альтернативно, смеси различных указанных растворителей. Растворы или суспензии для инъекций можно составить в композиции в соответствии с известными способами с использованием подходящих нетоксичных парентерально приемлемых разбавителей или растворителей, таких как маннит, 1,3-бутандиол, вода, раствор Рингера или изотонический раствор хлорида натрия, или подходящих диспергирующих или смачивающих и суспендирующих веществ, таких как стерильные светлые нелетучие масла, включая синтетические моно- или диглицериды, и жирные кислоты, включая олеиновую кислоту.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению также можно вводить местным путем, особенно, когда мишень для лечения включает область или органы, легкодоступные при местном применении, включая заболевания глаз, кожи или нижнего отдела пищеварительного тракта. Подходящие композиции для местного применения легко получают для каждого из таких участков или органов. Ме-

стное применение для нижнего отдела пищеварительного тракта можно осуществить с использованием композиции ректального суппозитория (см. ниже) или подходящей композиции для клизмы. Чрескожные пластыри для местного введения также можно использовать.

Для местного применения, фармацевтические композиции можно составить в виде подходящей мази, содержащей активные компоненты, суспендированные или растворенные в одном или нескольких носителях. Носители для местного введения соединений по настоящему изобретению включают, но не ограничиваются ими, минеральные масла, жидкий вазелин, белый вазелин, пропиленгликоль, полиоксипропиленовое, полиоксипропиленовое соединение, эмульгирующий воск и воду. Альтернативно, фармацевтические композиции можно составить в виде подходящего лосьона или крема, содержащего активные компоненты, суспендированные или растворенные в одном или нескольких фармацевтически приемлемых носителях. Подходящие носители включают, но не ограничиваются ими, минеральные масла, сорбитанмоностеарат, полисорбат 60, цетиловые сложные эфиры, воск, цетеариловый спирт, 2-октилдодеканол, бензиловый спирт и воду.

При ректальном введении в форме суппозитория, такие композиции можно получить путем смешивания отдельных компонентов композиции в соответствии с настоящим изобретением с подходящим нераздражающим эксципиентом, таким как масло какао, синтетические глицеридные сложные эфиры или полиэтиленгликоли, которые являются твердыми при обычных температурах, но разжижаются и/или растворяются в ректальной полости с высвобождением лекарственного средства.

В другом варианте осуществления способа по настоящему изобретению введение можно осуществить вместе с пищей (например, богатой жиром пищей) или без пищи. Термин "с пищей" означает потребление пищи либо в процессе, либо не более чем примерно за один час до или после введения одного или обоих компонентов комбинации согласно настоящему изобретению.

В одном варианте осуществления комбинации по настоящему изобретению содержат количество соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли, которое является достаточным для клинического улучшения биодоступности ингибитора ВИЧ или противовирусного средства против ВИЧ по сравнению с биодоступностью, когда указанный ингибитор ВИЧ или противовирусное средство против ВИЧ вводят отдельно.

В другом варианте осуществления комбинации по настоящему изобретению содержат количество соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли, которое является достаточным для увеличения по меньшей мере одной из фармакокинетических переменных ингибиторов ВИЧ, выбранных из $t_{1/2}$, C_{min} , C_{max} , C_{ss} , AUC в точке времени, например, 12 ч, или AUC в точке времени, например, 24 ч, по сравнению с указанной по меньшей мере одной фармакокинетической переменной, когда указанный ингибитор ВИЧ вводят отдельно.

Следующий вариант осуществления относится к способу улучшения биодоступности ингибитора ВИЧ, включающему введение субъекту, нуждающемуся в таком улучшении, комбинации, определенной в настоящем описании, содержащей терапевтически эффективное количество каждого компонента указанной комбинации.

В следующем варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли в качестве средства для улучшения по меньшей мере одной из фармакокинетических переменных ингибитора ВИЧ, выбранных из $t_{1/2}$, C_{min} , C_{max} , C_{ss} , AUC в точке времени, например, 12 ч, или AUC в точке времени, например, 24 ч; при условии, что указанное применение не осуществляют в организме человека или животного.

Термин "субъект", используемый в настоящем описании, относится к животному, предпочтительно млекопитающему, наиболее предпочтительно человеку, которое является объектом лечения, наблюдения или эксперимента.

Биодоступность определяют как часть вводимой дозы, попадающую в большой круг кровообращения. $t_{1/2}$ представляет период полувыведения или время, необходимое для того, чтобы концентрация в плазме уменьшилась до половины от ее первоначального значения. C_{ss} представляет собой концентрацию устойчивого состояния, т.е. концентрацию, при которой скорость поступления лекарственного средства равна скорости выведения. C_{min} определяется как самая низкая (минимальная) концентрация, измеренная в промежутке между введениями. C_{max} представляет самую высокую (максимальную) концентрацию, измеренную в промежутке между введениями. AUC определяется как площадь под кривой концентрации в плазме в зависимости от времени для определенного периода времени, например 12 или 24 ч.

Комбинации по настоящему изобретению можно вводить человеку в дозах, находящихся в пределах, определенных для каждого компонента, включенного в указанные комбинации. Компоненты, включенные в указанные комбинации, можно вводить вместе или отдельно. Ингибиторы ВИЧ и соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль или сложный эфир могут иметь уровни дозирования порядка 0,02-5,0 г в день.

Когда ингибитор ВИЧ или противовирусное средство против ВИЧ и соединение формулы (I) вводят в комбинации, массовое отношение ингибитора ВИЧ к соединению формулы (I) подходящим образом находится в пределах от около 40:1 до около 1:15, или от около 30:1 до около 1:15, или от около 15:1 до около 1:15, конкретно от около 10:1 до около 1:10, и более конкретно от около 8:1 до около 1:8. Также

полезными являются массовые отношения ингибитора ВИЧ к соединению формулы (I) в пределах от около 6:1 до около 1:6, или от около 4:1 до около 1:4, или от около 3:1 до около 1:3, или от около 2:1 до около 1:2, или от около 1,5:1 до около 1:1,5. В одном аспекте количество, в расчете на массу, ингибитора ВИЧ равно или больше, чем количество соединения формулы (I), при этом массовое отношение ингибитора ВИЧ к соединению формулы (I) подходящим образом находится в пределах от около 1:1 до около 15:1, конкретно от около 1:1 до около 10:1, и более конкретно от около 1:1 до около 8:1. Также полезными являются массовые отношения ингибитора ВИЧ к соединению формулы (I) в пределах от около 1:1 до около 6:1, или от около 1:1 до около 5:1, или от около 1:1 до около 4:1, или от около 3:2 до около 3:1, или от около 1:1 до около 2:1 или от около 1:1 до около 1,5:1.

В соответствии с одним вариантом осуществления ингибитор ВИЧ и соединение формулы (I) можно совместно вводить один или два раза в день, один, два, три, четыре, пять или шесть раз в неделю, предпочтительно перорально, при этом количество ингибитора ВИЧ, в расчете на дозу, составляет от около 10 до около 2500 мг, и количество соединения формулы (I), в расчете на дозу, составляет от 10 до около 2500 мг. В другом варианте осуществления количество, в расчете на дозу, для одного или двух совместных введений в день составляют от около 50 до около 1500 мг ингибитора ВИЧ и от около 50 до около 1500 мг соединения формулы (I). Еще в одном варианте осуществления количество, в расчете на дозу для ежедневного или еженедельного совместного введения, составляет от около 100 до около 1000 мг ингибитора ВИЧ и от около 100 до около 800 мг соединения формулы (I). Еще в одном варианте осуществления количество, в расчете на дозу для ежедневного или еженедельного совместного введения, составляет от около 150 до около 800 мг ингибитора ВИЧ и от около 100 до около 600 мг соединения формулы (I). Еще в одном варианте осуществления количество, в расчете на дозу для ежедневного или еженедельного совместного введения, составляет от около 200 до около 600 мг ингибитора ВИЧ и от около 100 до около 400 мг соединения формулы (I). Еще в одном варианте осуществления количество, в расчете на дозу для ежедневного или еженедельного совместного введения, составляет от около 200 до около 600 мг ингибитора ВИЧ и от около 20 до около 300 мг соединения формулы (I). Еще в одном варианте осуществления количество, в расчете на дозу для ежедневного или еженедельного совместного введения, составляет от около 100 до около 400 мг ингибитора ВИЧ и от около 40 до около 100 мг соединения формулы (I).

Иллюстративные комбинации ингибитор ВИЧ (мг)/соединение формулы (I) (мг) для двух введений в день включают 50/100, 100/100, 150/100, 200/100, 250/100, 300/100, 350/100, 400/100, 450/100, 50/133, 100/133, 150/133, 200/133, 250/133, 300/133, 50/150, 100/150, 150/150, 200/150, 250/150, 50/200, 100/200, 150/200, 200/200, 250/200, 300/200, 50/300, 80/300, 150/300, 200/300, 250/300, 300/300, 200/600, 400/600, 600/600, 800/600, 1000/600, 200/666, 400/666, 600/666, 800/666, 1000/666, 1200/666, 200/800, 400/800, 600/800, 800/800, 1000/800, 1200/800, 200/1200, 400/1200, 600/1200, 800/1200, 1000/1200 и 1200/1200. Другие иллюстративные комбинации ингибитор ВИЧ (мг)/соединение формулы (I) (мг) для двух введений в день включают 1200/400, 800/400, 600/400, 400/200, 600/200, 600/100, 500/100, 400/50, 300/50 и 200/50.

Однако следует понимать, что конкретный уровень доз и частота введения для конкретного пациента могут варьировать и зависят от различных факторов, включая активность конкретного используемого соединения, метаболическую стабильность и продолжительность действия данного соединения; возраста, массы тела, общего состояния здоровья, пола и режима питания пациента; способа и времени введения, скорости выведения, комбинации лекарственных средств, тяжести конкретного состояния и типа пациента, подвергаемого лечению.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения предоставлено изделие, включающее композицию, эффективную для лечения ВИЧ-инфекции; и упаковочный материал, включающий этикетку, которая указывает, что композицию можно использовать для лечения инфекции, вызванной ВИЧ; где композиция содержит комбинацию, описанную в данном описании.

Примеры

Представленные результаты и примеры предназначены для иллюстрации настоящего изобретения, и их не следует рассматривать как ограничивающие объем настоящего изобретения.

Соединения согласно настоящему изобретению были испытаны в различных *in vitro* анализах, результаты которых представлены в таблицах ниже.

Анализ 1 и 2. Антивирусная активность/токсичность.

Соединения по настоящему изобретению испытывали на антивирусную активность в клеточном анализе, который осуществляли в соответствии со следующей методикой.

Человеческую Т-клеточную линию MT4 получали методом инженерии с использованием зеленого флуоресцентного белка (GFP) и ВИЧ-специфического промотора, ВИЧ-1 длинный конечный повтор (LTR). Данную клеточную линию обозначали как MT4 LTR-EGFP, и ее можно использовать для *in vitro* оценки анти-ВИЧ активности исследуемых соединений. В ВИЧ-1 инфицированных клетках продуцировался Tat белок, который активирует LTR промотор и в конечном счете приводит к стимуляции продукции GFP репортера, что дает возможность измерить развивающуюся ВИЧ-инфекцию флуориметрическим способом.

Аналогично, МТ4 клетки получали методом инженерии с использованием GFP и конститутивного цитомегаловирусного (CMV) промотора. Данную клеточную линию обозначали как МТ4 CMV-EGFP, и ее можно использовать для *in vitro* оценки цитотоксичности исследуемых соединений. В данной клеточной линии уровни GFP сопоставимы с уровнями в инфицированных МТ4 LTR-EGFP клетках. Исследуемые на цитотоксичность соединения снижали уровни GFP в искусственно-инфицированных МТ4 CMV-EGFP клетках.

Можно определить значения эффективной концентрации, такие как 50% эффективная концентрация (EC_{50}), и их обычно выражают в мкМ. Значение EC_{50} определяют как концентрацию испытуемого соединения, которая снижает флуоресценцию ВИЧ-инфицированных клеток на 50%. 50% цитотоксичную концентрацию (CC_{50} в мкМ) определяют как концентрацию испытуемого соединения, которая снижает флуоресценцию искусственно-инфицированных клеток на 50%. Отношение CC_{50} к EC_{50} определяют как показатель селективности (SI), и это является показателем селективности анти-ВИЧ активности ингибитора. Конечный мониторинг ВИЧ-1 инфекции и цитотоксичности осуществляли с использованием сканирующего микроскопа. Анализ изображения обеспечивал возможность очень чувствительной детекции вирусной инфекции. Измерения осуществляли до некроза клеток, который обычно происходит примерно через пять дней после инфекции, в частности, измерения осуществляли через три дня после инфекции.

В табл. 2 представлены значения pEC_{50} против ВИЧ-1 IMB штамма дикого типа, а также значения pCC_{50} для выбранного количества соединений по настоящему изобретению. Значение pEC_{50} соответствует $-\log_{10}(EC_{50})$. Значение pCC_{50} соответствует $-\log_{10}(CC_{50})$.

Представлены соединения, имеющие значение pEC_{50} меньше чем 4,00, максимально до 4,50 pEC_{50} . Дарунавир, коммерчески доступный ингибитор ВИЧ протеазы, имеет значение pEC_{50} 8,17. Диапазон значений pEC_{50} от <4 до 4,50, при сравнении с 8,17, существенно ниже, что касается антивирусной активности, поэтому было продемонстрировано, что соединения по настоящему изобретению сообщают минимальную или вообще какую-либо резистентность к ВИЧ.

Таким же образом, показатели токсичности, представленные для соединений по настоящему изобретению, в пределах меньше чем 4,00, максимально до 4,46 pCC_{50} , демонстрируют низкую или минимальную токсичность таких соединений.

Таблица 2

Антивирусная активность (pEC_{50}) и цитотоксичность (pCC_{50}) избранных испытуемых соединений

Соединение №	Антивирусная активность ИИВ pEC_{50}	Токсичность МТ4 pCC_{50}
C3	4,28	4,15
C4	4,50	4,40
C5	4,07	4,06
C6	4,10	<4,00
C7	4,08	4,15
C8	<4,00	<4,00
C9	<4,00	<4,00
C10	<4,00	<4,00
C11	4,42	4,46
C12	4,22	4,21
C13	<4,00	<4,00
C14	4,10	4,05
C15	4,30	4,37
C16	4,41	4,39
C17	4,38	4,44
C18	4,41	4,38
C19	<4,00	<4,00
C20	<4,00	<4,00
C1	4,32	4,24
C2	4,35	4,34
C21	<4,00	<4,00
C22	<4,00	<4,00
C23	4,29	4,26
C24	4,01	<4,00
C25	4,16	4,11
C26	<4,00	<4,00
C27	4,13	4,08

Анализ 3. Метаболическая стабильность испытуемых соединений (HLM15').

Субклеточные тканевые препараты получали согласно Gorrod et al. (Xenobiotica, 5, p. 453-462 (1975)) путем центрифужного разделения после механической гомогенизации ткани. Ткань печени человека промывали в ледяном 0,1 М Tris-HCl (pH 7,4) буфере для вымывания избытка крови. Ткань затем сушили досуха при помощи промокательной бумаги, взвешивали и грубо нарезали с использованием хирургических ножниц. Кусочки ткани гомогенизировали в 3 объемах ледяного 0,1 М фосфатного буфера (pH 7,4) с использованием гомогенизатора либо Potter-S (Braun, Italy), снабженного тефлоновым пес-тиком, либо Sorvall Omni-Mix, в течение 7×10 с. В обоих случаях сосуд поддерживали в/на льду в процессе гомогенизации. Гомогенаты ткани центрифугировали при 9000×g в течение 20 мин при 4°C с использованием центрифуги Sorvall или Beckman Ultracentrifuge. Полученный супернатант можно хранить при -80°C, и его обозначали как "S". S9 фракцию центрифугировали при 100000×g в течение 60 мин при 4°C с использованием ультрацентрифуги Beckman. Полученный супернатант осторожно аспирировали, разделяли на алиquotы и обозначали как "цитозоль". Клеточный осадок после центрифугирования ресус-пендировали в 0,1 М фосфатном буфере (pH 7,4) в конечном объеме 1 мл на 0,5 г исходной массы ткани и обозначали как "микросомы". Все субклеточные фракции разделяли на алиquotы, немедленно замора-живали в жидком азоте и хранили при -80°C до использования.

Испытуемые соединения и NADPH генерирующую систему добавляли к микросомам печени чело-века (фракция "микросом, концентрация белка 1 мг/мл), суспендированным в 0,1 М фосфатном буфере (pH 7,4), с получением конечных концентраций в реакционной смеси 5 мкМ испытуемого соединения, 0,8 мМ D-глюкоза-6-фосфата, 0,8 мМ MgCl₂ и 0,8 Ед./мл глюкоза-6-фосфатдегидрогеназы. Термоактиви-рованные (10 мин при 95°C) "S9" или микросомы использовали для слепых экспериментов. Реакционные смеси инкубировали при 37°C в течение 5 мин, затем реакцию начинали путем добавления 0,8 мМ β-NADP. Реакционную смесь инкубировали в течение 0 или 15 мин. Затем реакцию останавливали добав-лением 2 объемов ДМСО (или ацетонитрила). Образцы центрифугировали (10 мин, 900×g) и анализиро-вали методом ЖХ-МС. В табл. 3 представлены результаты.

Таблица 3

Метаболизм испытуемого соединения микросомами печени человека через 15 мин

Соединение №	% выхода HLM15
C3	54
C4	57
C5	83
C6	81
C7	56
C8	81
C9	55
C10	47
C11	52
C12	67
C13	69
C14	24
C15	57
C16	59
C17	68
C18	57
C19	69
C20	37
C1	56
C2	67
C21	62
C22	77
C23	72
C24	56
C25	63
C26	92
C27	98

Анализ 4. Ингибирование CYP450.

Ингибирование метаболизма испытуемых соединений различными CYP P450 изоферментами опре-деляли с использованием E. coli экспрессируемых белков (3A4, 2C9, 2D6, 1A2, и 2C19), которые преоб-разуют их специфические субстраты в флуоресцентную молекулу (табл. 6). Данную флуоресцентную молекулу измеряли с использованием флуоресцентного планшет-ридера (Victor2 (Wallac) или Fluoroskan (Labsystems)). Соединения, ингибирующие ферментативную реакцию, будут давать в результате сниже-ние сигнала флуоресценции. CYP P450 ферменты получали на месте или получали коммерческим путем

и хранили при -80°C . В табл. 4 представлены результаты.

Таблица 4

Соед. №	СУР Р450 изоферменты						
	3А4-ВFC % инг.	3А4-ВQ % инг.	3А4-DBF % инг.	2С9-МFC % инг.	2D6-АММС % инг.	1А2-СЕС % инг.	2С19-СЕС % инг.
С3	95	85	97	99	49	20	90
С4	95	85	99	99	79	62	92
С5	92	82	92	94	41	14	86
С6	82	83	92	96	65	41	94
С7	92	80	94	97	45	13	89
С8	91	79	91	95	39	4	76
С9	91	78	89	85	66	4	64
С10	95	79	93	96	62	33	92
С11	94	78	99	97	86	45	100
С12	70	79	93	92	0	21	81
С13	81	84	94	95	64	8	67
С14	84	80	91	98	67	56	87
С15	75	80	92	97	41	51	92
С16	71	82	92	97	43	50	90
С17	57	81	93	98	46	55	87
С18	83	84	94	98	64	63	93
С19	58	72	92	93	53	43	77
С20	88	66	85	63	13	6	41
С1	77	80	95	97	73	36	94
С2	100	79	96	96	102	40	98
С21	87	81	95	95	62	43	75
С22	93	74	89	69	62	0	60
С23	94	73	92	89	65	22	77
С24	101	82	89	92	96	13	86
С25	100	79	89	95	91	25	97
С26	95	77	84	82	30	0	35
С27	101	81	90	84	86	10	96

Таблица 5

Конверсии, опосредованные соответствующими экспрессируемыми *E. coli* изоферментами СУР Р450

Субстрат	Фермент	Флуоресцентная молекула
ВFC: 7-бензилокситрифторметилкумарин	СУР3А4	7-НFC: 7-гидрокситрифторметилкумарин
ВQ: 7-бензилоксихинолин	СУР3А4	7-НQ: 7-гидроксихинолин
DBF: дибензилфлуоресцеин	СУР3А4	флуоресцеин
МFC: 7-метокси-4-трифторметилкумарин	СУР2С9	7-НFC: 7-гидрокситрифторметилкумарин
АММС: 3-[2-(N,N-диэтил-N-метиламино)этил]-7-метокси-4-метилкумарин	СУР2D6	АНМС: гидрохлорид 3-[2-(N,N-диэтиламиноэтил)-7-гидрокси-4-метилкумарина
СЕС: 7-этокси-3-цианокумарин	СУР1А2	СНС: 3-циано-7-гидроксикумарин
СЕС: 7-этокси-3-цианокумарин	СУР2С19	СНС: 3-циано-7-гидроксикумарин

Анализ осуществляли в черных 96-луночных планшетах Costar. Испытуемые соединения добавляли к раствору СУР Р450 фермента в присутствии NADPH генерирующей системы. После 5 мин предварительной инкубации при 37°C добавляли свежеприготовленный забуференный фосфатом (pH 7,4) раствор субстрата. Известные ингибиторы СУР Р450 использовали в качестве положительных контролей, эксперименты с отрицательными контролями осуществляли без СУР Р450 фермента. Конечные концентрации реакционных смесей см. в табл. 6. Реакционные смеси инкубировали при 37°C в течение 30 мин (СУР3А4-ВFC), 30 мин (СУР3А4-ВQ), 10 мин (СУР3А4-DBF), 15 мин (СУР1А2-СЕС), 30 мин (СУР2С9-МFC, СУР2С19-СЕС) или 45 мин (СУР2D6-АММС) соответственно. Затем реакцию останавливали добавлением 200 мкл ацетонитрила и проводили детекцию сигнала флуоресценции.

Таблица 6

Конечные концентрации реакционных смесей для
анализа ингибирования CYP P450 изофермента

		CYP3A4 -BFC	CYP3A4 -BQ	CYP3A4 -DBF	CYP2C9 -MFC	CYP2D6 -AMMC	CYP1A2 -CEC	CYP2C19 -CEC
Испытуемое соединение		10 мкМ	10 мкМ	10 мкМ	10 мкМ	10 мкМ	10 мкМ	10 мкМ
НА ДР Н г е н е р и р у ю щ а я с и с т е м а	Глюкоза-6- фосфат	3,3 мМ	3,3 мМ	3,3 мМ	3,3 мМ	0,41 мМ	3,3 мМ	3,3 мМ
	Глюкоза-6- фосфатдегид рогеназа	0,4 Ед./мл	0,4 Ед./мл	0,4 Ед./мл	0,4 Ед./мл	0,4 Ед./мл	0,4 Ед./мл	0,4 Ед./мл
	MgCl ₂	3,3 мМ	3,3 мМ	3,3 мМ	3,3 мМ	0,41 мМ	3,3 мМ	3,3 мМ
	NADPH	1,3 мМ	1,3 мМ	1,3 мМ	1,3 мМ	1,3 мМ	1,3 мМ	1,3 мМ
CYP P450 фермент		83 нМ	20 нМ	5 нМ	60 нМ	42 нМ	5 нМ	2,5 нМ
Субстрат		150 мкМ	60 мкМ	1 мкМ	200 мкМ	3 мкМ	5 мкМ	25 мкМ

Расчет ингибирования изофермента CYP P450 (% ингибирования):

$\% \text{ активности} = (100 / (\text{среднее значение положительного контроля} - \text{среднее значение отрицательного контроля})) \times (\text{среднее значение для образца} - \text{среднее значение отрицательного контроля})$
% ингибирования = 100 - % активности.

Анализ 5. % Метаболической блокады: ингибирование метаболизма TMC114.

Дарунавир (TMC 114 поставляемый в настоящее время на рынок под маркой Prezista™) и испытуемые бустерные соединения добавляли к микросомам печени человека (фракция "микросом", концентрация белка 1 мг/мл), суспендированным в калийфосфатном буфере (pH 7,4), с получением конечных концентраций реакционных смесей 3 мкМ дарунавира и 3 мкМ испытуемого соединения. В параллельные реакции без повторной иммунизации испытуемое соединение не добавляли.

Кипяченые микросомы печени человека использовали для слепых экспериментов. После добавления (в соотношении 1:3 (об./об.)) NADPH генерирующей смеси, состоящей из β-никотинамиддинуклеотид-фосфата (β-NADP, 0,5 мг/мл, 653,2 мкМ), D-глюкоза-6-фосфата (2 мг/мл, 7,1 мМ), глюкоза-6-фосфатдегидрогеназы (1,5 Ед./мл) в 2% NaHCO₃, реакционную смесь инкубировали при 37°C в течение 30 или 120 мин, затем реакцию останавливали путем повышения температуры до 95°C. Концентрации дарунавира определяли с использованием ВЭЖХ-МС. Контрольное значение, полученное, когда процент оставшегося TMC114 определяли в реакции без повторной иммунизации (=отсутствие испытуемого соединения), составляло 12% (среднее значение от 10 экспериментов). В табл. 7 представлены результаты.

Таблица 7

Стабильность дарунавира в присутствии микросом печени человека и 3 мкМ испытуемого бустерного соединения

Соединение №	% стабильности дарунавира (% выхода дарунавира через 120') при 3 мкМ бустера
C3	82
C4	83
C5	86
C6	87
C7	95
C8	80
C9	25
C10	NA
C11	108
C12	93
C13	72
C14	73
C15	119
C16	86
C17	97
C18	82
C19	103
C20	41
C1	85
C2	100
C21	73
C22	58
C23	89
C24	87
C25	104
C26	39
C27	85

Влияние бустера на ключевые фармакокинетические параметры дарунавира.

Для испытания "усиливающей способности" (=способность соединений усиливать фармакокинетику дарунавира) *in vivo* репрезентативное соединение примера C12 вводили перорально (в подходящем носителе, например ПЭГ400- или ПЭГ400/30% солевой раствор или H β CD) группе (n=3) сытых самцов собак породы бигль, при дозе 5 мг/кг массы тела, за 15 мин до введения дарунавира при дозе 5 мг/кг массы тела. Пероральное введение осуществляли через зонд. Все время собаки имели свободный и непрерывный доступ к воде. Образцы крови брали из яремной вены во время 0 (= до введения), 0,5, 1, 2, 4, 7 и 24 ч после введения дозы. Образцы центрифугировали при 1900xg в течение 10 мин при 5°C для отделения плазмы. Отделенную плазму хранили в морозильнике в течение двух часов после взятия образцов крови. Все время образцы крови и плазмы держали на таящем льду, защищенными от света. Отдельные образцы плазмы анализировали на дарунавир и бустерное соединение методом ЖХ-МС/МС. Фармакокинетические параметры для дарунавира рассчитывали с использованием некомпартментного анализа, программа WinNonLin Версия 5.0, Pharsight, и они представлены в табл. 8. Представленные значения являются средними значениями данных, полученных от 3 собак. Степень изменения (FC) указывает разницу с контрольным экспериментом, в котором вводили только 5 мг/кг дарунавира.

Таблица 8

Влияние бустера на ключевые фармакокинетические параметры дарунавира

Соединение №	AUC нг·ч/мл	C _{max} нг/мл	C _{7час} нг/мл	FC AUC	FC C _{max}	FC C _{7час}
C12	1574	892	24	3	2	8

Экспериментальные условия.

Реагенты получали из коммерческих источников и использовали, как они были получены. Тонкослойную хроматографию осуществляли на пластинках с силикагелем 60 F₂S₄ (Merck). ЖХ-МС анализ осуществляли с использованием любого из следующих способов. Данные для соединений C1-27 представлены в таблице (см. выше).

ЖХМС - способ 1.

ВЭЖХ-система: Waters Alliance 2695 (насос+автодозатор),
Waters 996 (Фотодиодная матрица-детектор)

Колонка: Waters XTerra MS C18 2,5 мкм 50×4,6 мм

Температура: 55°C

Подвижная фаза: А: 10 мМ HCOONH_4 +0,1% HCOOH в H_2O

В: CH_3CN

Градиент: 0 мин: 15% В, 3 мин: 95% В, 4,2 мин: 95% В

Время установления равновесия: 1,2 мин

Скорость потока: 2 мл/мин

Объем вводимой пробы: 5 мкл 0,5 мг/мл раствора

MS-детектор: Waters ZQ

Ионизация: электроспрей в режиме положительного и отрицательного заряда

ЖХМС - способ 2.

ВЭЖХ-система: Waters Alliance 2790 (насос+автодозатор),
Waters 996 (Фотодиодная матрица-детектор)

Колонка: Waters SunFire C18 3,5 мкм 100×4,6 мм

Температура: 55°C

Подвижная фаза: А: 10 мМ NH_4OAc +0,1% HCOOH в H_2O

В: ацетонитрил

Градиент: 0 мин: 5% В, 5,4 мин: 95% В, 7,2 мин: 95% В

Время установления равновесия: 1,8 мин

Скорость потока: 1,5 мл/мин

Объем вводимой пробы: 5 мкл 0,5 мг/мл раствора

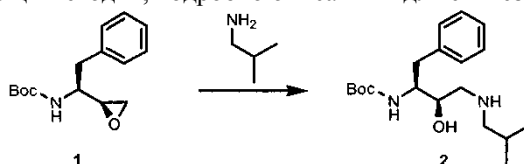
MS-детектор: Waters LCT

Ионизация: электроспрей в режиме положительного и отрицательного заряда

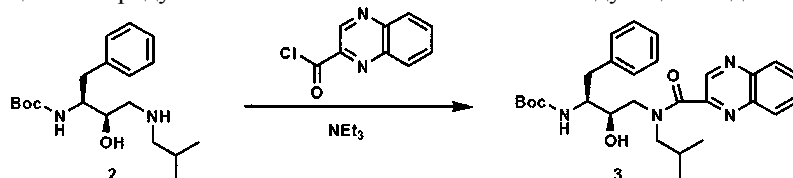
Спектры ЯМР записывали на спектрометре Bruker Avance 400, работающем при 400 МГц. Химические сдвиги представлены в м.д., и J значения представлены в Гц. Мультиплетность указана с использованием следующих аббревиатур: д - дублет, т - триплет, м - мультиплет и т.д. Названия соединений приведены с использованием программы Chemdraw Ultra, версия 9.0.7 (CambridgeSoft).

Химическое получение.

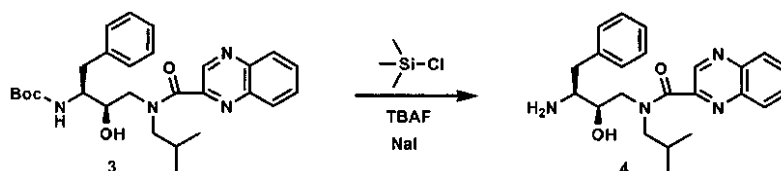
Соединения формулы (I) получали в соответствии с общим способом, представленным ниже, проиллюстрированным при помощи методик, подробно описанных для синтеза соединения C12.



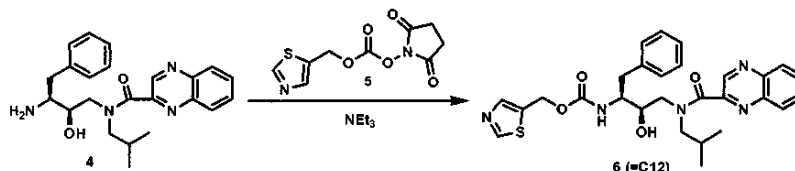
Раствор соединения 1 (1,0 экв., 106 ммоль, 28,0 г) и изобутиламина (1060 ммоль, 10 экв., 106 мл) в изопропанол (200 мл) перемешивали при 80°C в течение 3 ч. Растворитель выпаривали при пониженном давлении и неочищенный продукт 2 использовали как таковой на следующей стадии.



Раствор соединения 2 (32,53 г, 97 ммоль, 1,0 экв.), хиноксалин-2-карбонилхлорида (18,62 г, 97 ммоль, 1,0 экв.) и триэтиламина (40,4 мл, 291 ммоль, 3,0 экв.) в ТГФ (200 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Добавляли воду и экстракцию осуществляли с использованием CH_2Cl_2 . Объединенные органические фазы промывали два раза насыщенным водным раствором NaHCO_3 , сушили над MgSO_4 и концентрировали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (0-3% MeOH в CH_2Cl_2) с получением соединения 3 (46,69 г, выход 98%).



Раствор соединения 3 (19,58 г, 40 ммоль, 1,0 экв.), хлортриметилсилана (12,95 г, 120 ммоль, 3,0 экв.), йодида натрия (23,83 г, 160 ммоль, 4,0 экв.) и TBAF (199 мл, 200 ммоль, 5,0 экв., 1,0 М раствор в ТГФ) в ацетонитриле (150 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Добавляли воду и экстракцию осуществляли с использованием CH_2Cl_2 . Объединенные органические фазы сушили над MgSO_4 и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт использовали как таковой на следующей стадии.

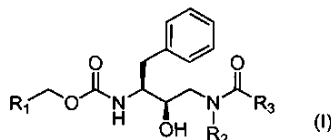


Раствор соединения 4 (36,0 г, 92 ммоль, 1,0 экв.), соединения 5 (32,4 г, 127 ммоль, 1,38 экв.) и триэтиламина (18,28 мл, 131 ммоль, 1,43 экв.) в ацетонитриле (500 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Добавляли воду и экстракцию осуществляли с использованием CH_2Cl_2 . Объединенные органические фазы промывали два раза насыщенным водным раствором NaHCO_3 , сушили над MgSO_4 и концентрировали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (0-2% NH_3 (7 М раствор в MeOH) в CH_2Cl_2), с получением соединения 6. Необходима была вторая очистка колоночной хроматографией на силикагеле (EtOAc) для удаления остаточного TBAF и для получения чистого соединения 6 (=C12) (38,2 г, выход 78%, чистота (ЖХ) 94%). Спектр ЯМР показал присутствие двух ротамеров в соотношении 2:1.

^1H -ЯМР (CDCl_3), основной ротамер: 9,28 м.д. (с, 1H), 8,78 (с, 1H), 8,21 м.д. (дд, 1H, $J=8,41$, $J=2,2$), 8,09 (м, 1H), 7,92-7,8 (м, 2H), 7,77 (с, 1H), 7,3-7,05 (м, 5H), 6,6 (д, 1H, $J=6,49$), 5,24 (д, 1H), 5,14 (с, 2H), 4,93 (д, 1H, $J=9,32$), 4,0 (м, 2H), 3,8 (м, 2H), 3,67 (м, 1H), 3,51 (д, 1H, $J=7,46$), 3,3-3,2 (м, 2H), 3,0-2,84 (м, 2H), 2,18 (септ., 1H, $J=7,46$), 1,0 (м, 6H).

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы



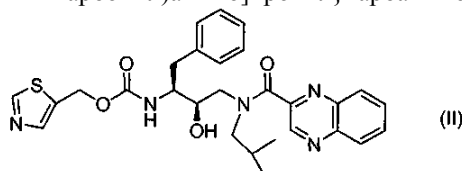
его фармацевтически приемлемая соль,

где R_1 представляет собой 5-тиазолил;

R_2 представляет собой изобутил;

R_3 представляет собой хиноксалил.

2. Соединение по п.1, представляющее собой тиазол-5-илметилловый эфир 1S-2R-{1-бензил-2-гидрокси-3-[изобутил(хиноксалин-2-карбонил)амино]пропил} карбаминовой кислоты формулы (II)



или его фармацевтически приемлемую соль.

3. Применение соединения по любому из пп.1, 2 в качестве лекарственного средства для усиления действия противовирусных средств.

4. Применение соединения по любому из пп.1, 2 для получения лекарственного средства для усиления действия противовирусных средств.

5. Применение соединения по любому из пп.1, 2 или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с антивирусным средством для лечения или профилактики ВИЧ для усиления действия антивирусного средства.

6. Фармацевтическая композиция для лечения или профилактики ВИЧ-инфекций, содержащая антивирусное средство для лечения или профилактики ВИЧ-инфекций в комбинации с соединением по любому из пп.1, 2 или его фармацевтически приемлемой солью, усиливающими действие указанного

антивирусного средства для лечения или профилактики ВИЧ-инфекций, а также фармацевтически приемлемый эксципиент.

7. Композиция по п.6, где соединение, усиливающее действие антивирусного средства для лечения или профилактики ВИЧ-инфекций, представляет собой тиазол-5-илметилловый эфир 1S-2R-{1-бензил-2-гидрокси-3-[изобутил(хиноксалин-2-карбонил)амино]пропил}карбаминовой кислоты.

8. Композиция по п.7, где антивирусное средство для лечения или профилактики ВИЧ представляет собой [(1R,5S,6R)-2,8-диоксабицикло[3.3.0]окт-6-ил]-N-[(2S,3R)-4-[(4-аминофенил)сульфонил(2-метилпропил)амино]-3-гидрокси-1-фенилбутан-2-ил]карбамат или гексагидрофуоро[2,3-b]фуран-3-иловый эфир (1-бензил-3-{[2-(1-циклопентилпиперидин-4-иламино)бензотиазол-6-сульфонил]изобутиламино}-2-гидроксипропил)карбаминовой кислоты.

9. Композиция по любому из пп.6-8, где количество соединения по любому из пп.1, 2 или его фармацевтически приемлемой соли является достаточным для клинического улучшения биодоступности антивирусного средства для лечения или профилактики ВИЧ по сравнению с биодоступностью, когда антивирусное средство для лечения или профилактики ВИЧ вводят отдельно.

10. Композиция по любому из пп.6-8, где количество соединения по любому из пп.1, 2 или его фармацевтически приемлемой соли является достаточным для повышения по меньшей мере одной из фармакокинетических переменных антивирусного средства для лечения или профилактики ВИЧ, выбранных из $t_{1/2}$ (период полувыведения или время, необходимое для того, чтобы концентрация в плазме уменьшилась до половины от ее первоначального значения), C_{\min} (самая низкая (минимальная) концентрация, измеренная в промежутке между введениями), C_{\max} (самую высокую (максимальную) концентрацию, измеренную в промежутке между введениями), C_{ss} (концентрация устойчивого состояния, т.е. концентрация, при которой скорость поступления лекарственного средства равна скорости выведения), AUC (площадь под кривой концентрации в плазме в зависимости от времени для определенного периода времени) в точке времени 12 ч, или AUC в точке времени 24 ч, по сравнению с указанной по меньшей мере одной фармакокинетической переменной, когда антивирусное средство для лечения или профилактики ВИЧ вводят отдельно.

11. Применение фармацевтической композиции по пп.6-8 для получения лекарственного средства для лечения или профилактики ВИЧ.

12. Продукт, представляющий собой комбинированный препарат для одновременного, отдельного или последовательного применения в ВИЧ-терапии, содержащий соединение по любому из пп.1, 2 или его фармацевтически приемлемую соль и антивирусное средство для лечения или профилактики ВИЧ.

13. Продукт по п.12, где антивирусное средство для лечения или профилактики ВИЧ представляет собой [(1R,5S,6R)-2,8-диоксабицикло[3.3.0]окт-6-ил]-N-[(2S,3R)-4-[(4-аминофенил)сульфонил(2-метилпропил)амино]-3-гидрокси-1-фенилбутан-2-ил]карбамат или гексагидрофуоро[2,3-b]фуран-3-иловый эфир (1-бензил-3-{[2-(1-циклопентилпиперидин-4-иламино)бензотиазол-6-сульфонил]изобутиламино}-2-гидроксипропил)карбаминовой кислоты.

