202144381

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202144381 A

(43)公開日： 中華民國 110 (2021) 年 12 月 01 日

(21)申請案號：110107292 (22)申請日： 中華民國 110 (2021) 年 03 月 02 日

(51)Int. Cl.： *C07K11/02 (2006.01)* *A61K38/15 (2006.01)*
A61P29/00 (2006.01) *A61P31/12 (2006.01)*

(30)優先權：2020/03/02 歐洲專利局 20382152.5
2020/03/13 歐洲專利局 20382192.1
2020/04/02 歐洲專利局 20382266.3
2020/04/27 歐洲專利局 20382339.8
2020/09/16 歐洲專利局 20382815.7
2020/09/16 歐洲專利局 20382816.5
2021/01/25 歐洲專利局 21382059.0

(71)申請人：西班牙商瑪製藥股份有限公司 (西班牙) PHARMA MAR, S.A. (ES)
西班牙

(72)發明人：費爾南德斯 蘇薩 何塞 瑪麗亞 FERNANDEZ-SOUSA, JOSE MARIA (ES)；阿維萊斯 馬里昂 佩巴羅 AVILES MARIN, PABLO (ES)；落撒達 岡薩雷斯 亞歷杭德羅 LOSADA GONZALEZ, ALEJANDRO (ES)

(74)代理人：閻啓泰；林景郁

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：103 項 圖式數：53 共 208 頁

(54)名稱

用於炎症之化合物

(57)摘要

本發明係關於化合物於治療炎症，較佳係與 Toll 樣受體激活相關之炎症中之用途。本發明還係關於化合物於治療病原體誘導之炎症中之用途。

The present invention relates to the use of compounds in the treatment of inflammation, preferably inflammation associated with activation of Toll-like receptors. The invention also relates to the use of compounds to treat pathogen-induced inflammation.

指定代表圖：

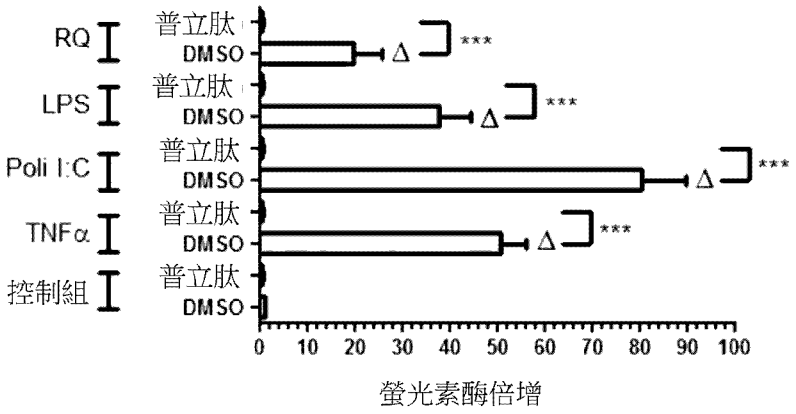


圖 1a

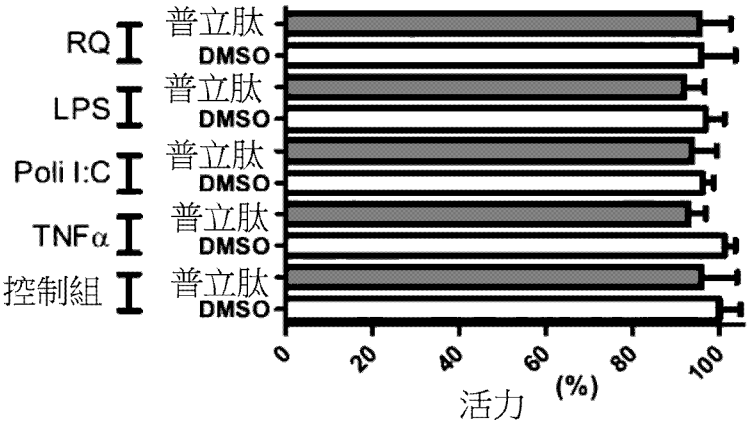
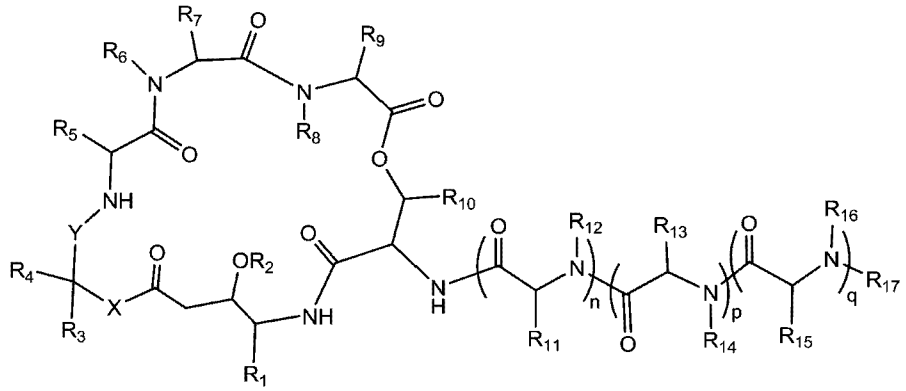


圖 1b

特徵化學式：



(I)

202144381

【發明摘要】

【中文發明名稱】　用於炎症之化合物

【英文發明名稱】　Compounds for use in inflammatory conditions

【中文】

本發明係關於化合物於治療炎症，較佳係與Toll樣受體激活相關之炎症中之用途。本發明還係關於化合物於治療病原體誘導之炎症中之用途。

【英文】

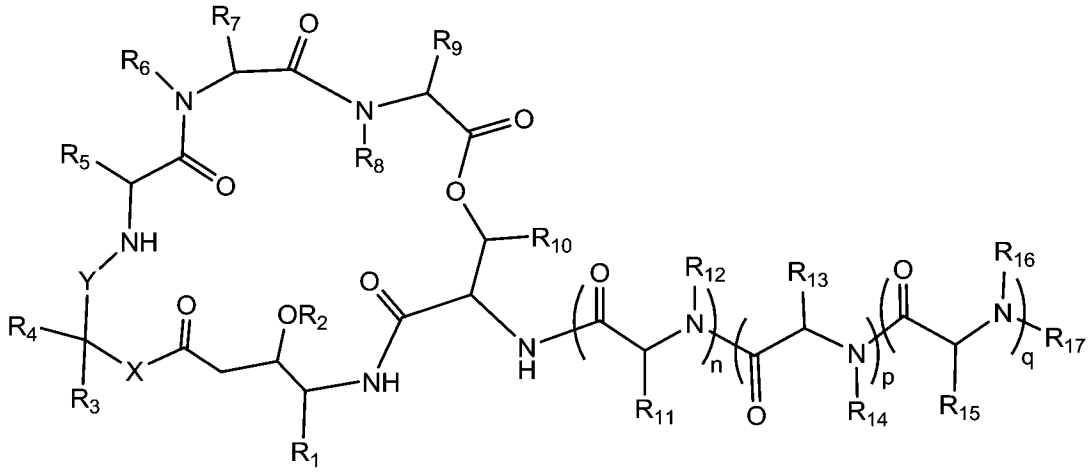
The present invention relates to the use of compounds in the treatment of inflammation, preferably inflammation associated with activation of Toll-like receptors. The invention also relates to the use of compounds to treat pathogen-induced inflammation.

【指定代表圖】　圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】



（I）

【發明說明書】

【中文發明名稱】　用於炎症之化合物

【英文發明名稱】　Compounds for use in inflammatory conditions

【技術領域】

【0001】　本發明係關於炎症之治療，特別係與Toll樣受體激活相關或作為Toll樣受體激活結果之炎症之治療。本發明還係關於病原體誘導之炎症之治療。

【先前技術】

【0002】　炎症係免疫系統對組織損傷和感染之主要反應之一，涉及主要之免疫細胞和細胞外介質和調節劑，如細胞因子。

【0003】　於感染之情況下，當固有免疫系統被激活時，炎症被觸發。固有免疫細胞，如巨噬細胞、樹突狀細胞和中性粒細胞都係固有免疫和感染之重要角色。這些細胞表達檢測微生物成分之PRR（模式識別受體），即所謂的病原體相關分子模式（PAMPS）。一類PRR係Toll樣受體(TLR，其中有10個子類型TLR1-10)，其可以檢測來自病毒、細菌、原生動物和真菌之各種病原體。例如，TLR可以檢測細菌脂多糖、脂蛋白、鞭毛蛋白、細菌CpG-DNA和病毒之單鏈和雙鏈RNA。於識別PAMPS後，PRR被激活並觸發胞內信號傳遞級聯，最終導致促炎性細胞因子分子之表達。一個信號級聯導致典型之NF-κB通路之激活，這係炎症之關鍵調節劑和促炎基因誘導之中央介質。NF-κB轉導之活化與不同類型免疫細胞中之促炎性細胞因子、趨化因子和其他炎症介質之轉錄誘導有關。這些炎症介質既可直接參與炎症之誘導，又可藉由促進炎性T細胞之分化間接起作用。

【0004】　然而，儘管產生強大之免疫反應係宿主對病原體感染反應之關鍵部分，但過度或不適當之炎症--例如高炎症可能係有害的。事實上，過度炎症於

許多傳染病之發病機制中起著重要作用。於一個例子中，病原體感染後過度炎症導致高細胞因子血症（通常稱為細胞因子風暴）。細胞因子風暴係由促炎細胞因子之不受控制和過度釋放引起。細胞因子之突然和過度釋放對宿主特別有害，並可導致多系統器官衰竭和死亡。特別地，急性肺損傷（ALI）係肺泡環境和全身循環中細胞因子風暴之常見後果。病原體引起之肺損傷可以發展成ALI或更嚴重之形式（稱為急性呼吸窘迫綜合征（ARDS），這種綜合征於SAR-CoV-2感染中可見）。高細胞因子血症亦可由許多感染源以及非感染性宿主引起。

【0005】 此外，病原體感染還導致巨噬細胞之激活。激活之巨噬細胞之大小係靜息之巨噬細胞之兩倍，更具“攻擊性”，具有更高之溶酶體蛋白水準和更強之吞噬作用。經典激活之巨噬細胞亦釋放蛋白酶、中性粒細胞趨化因子、活性氧和促炎細胞因子（如IL-1 β/IL-1F2、IL-6和TNF-α/TNFSF1A），導致炎症和組織破壞。因此，巨噬細胞效應子功能顯著影響炎症反應之品質、持續時間和程度，當不受控制、激活之巨噬細胞會引起顯著組織損傷時，該反應對宿主防禦很重要。因此，巨噬細胞之過度激活係導致以過度炎症為特徵之疾病之關鍵因素。最值得注意地，2020年Wang等人給出結論：激活之肺泡巨噬細胞係SARS-CoV-2感染引起之細胞因子風暴之核心。僅由於這個原因，降低巨噬細胞激活和/或募集水準之方法亦係預防和治療由病原體感染引起之炎症，特別係高細胞因子血症之關鍵。

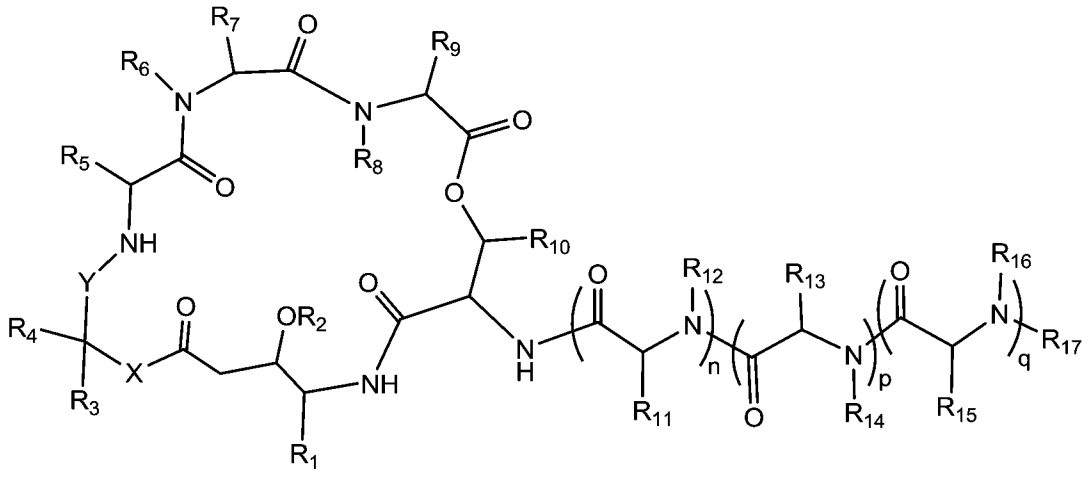
【0006】 因此，炎症和細胞因子風暴係許多病毒感染引起之嚴重和致命感染之常見臨床特徵。這些病毒包括呼吸道病毒，如正粘病毒科（Orthomyxoviridae）。它們更包含單鏈（+）RNA病毒感染，單鏈（+）RNA病毒包括黃病毒科（Flaviviridae）、小RNA病毒科（Picornaviridae）、披膜病毒科（Togaviridae）、杯狀病毒科（Caliciviridae）、桿狀套病毒科（Roniviridae）、反轉錄病毒科（Retroviridae）和冠狀病毒科（Coronaviridae）之成員。於大多數致命

感染中，造成致命之因子不係病毒之細胞溶解活性，而係宿主之免疫病理反應。於引起具有經濟重要性之人和動物之嚴重疾病之ss(+)RNA病毒中，黃病毒科、小RNA病毒科、披膜病毒科、杯狀病毒科、反轉錄病毒科、冠狀病毒科、正粘病毒科(Orthomyxoviridae)、白蛉病毒屬(Phlebovirus)、沙狀病毒科(Arenaviridae)、皰疹病毒科（Herpesviridae）特別與炎症和細胞因子風暴有關。

【0007】 因此，需要提供新的用於炎症，特別係過度炎症（excessive inflammation）或高炎症（hyperinflammation），例如由於病原體感染而產生之過度炎症或高炎症之治療方法。本發明解決了這種需要。

【發明內容】

【0008】 一方面，本發明係關於通式I之化合物，或其藥學上可接受之鹽或立體異構體，



（I）

其中X選自O和NH；

Y選自CO和–COCH(CH_3)CO-；

n和p各自獨立地選自0和1，q選自0、1和2；

R_1、R_3、R_5、R_9、R_{11}、以及R_{15}各自獨立地選自氫、取代或未取代之C_1-C_6烷

基、取代或未取代之C_2-C_6烯基和取代或未取代之C_2-C_6炔基；

R_2選自氫、COR_a、$COOR_a$、取代或未取代之C_1-C_6烷基、取代或未取代之C_2-C_6烯基和取代或未取代之C_2-C_6炔基；

R_4、R_8、R_{10}、R_{12}和R_{16}各自獨立地選自氫和取代或未取代之C_1-C_6烷基；

R_7和R_{13}各自獨立地選自氫、取代之或未取代之C_1-C_6烷基、取代之或未取代之C_2-C_6烯基和取代之或未取代之C_2-C_6炔基；R_6和R_{14}各自獨立地選自氫、和取代之或未取代之C_1-C_6烷基；或者R_6和R_7和/或R_{13}和R_{14}與它們所連接之相應之N原子和C原子一起可形成取代之或未取代之雜環基；

R_{17}選自氫、COR_a、$COOR_a$、$CONHR_b$、$COSR_c$、$(C=NR_b)OR_a$、$(C=NR_b)NHR_b$、$(C=NR_b)SR_c$、$(C=S)OR_a$、$(C=S)NHR_b$、$(C=S)SR_c$、SO_2R_c、SO_3R_c、取代或未取代之C_1-C_{12}烷基、取代或未取代之C_2-C_{12}烯基、取代或未取代之C_2-C_{12}炔基、取代或未取代之芳基、以及取代或未取代之雜環基，前提係當n、p、以及q係為0時，R_{17}不係氫；且

R_a、R_b和R_c各自獨立地選自氫、取代或未取代之C_1-C_{12}烷基、取代或未取代之C_2-C_{12}烯基、取代或未取代之C_2-C_{12}炔基、取代或未取代之芳基和取代或未取代之雜環基；

用於治療炎症。

【0009】 於一方面，本發明係關於如上(和本文)定義之化合物，其用於治療與Toll樣受體激活相關之炎症。

【0010】 於另一方面，本發明係關於如上(和本文)定義之化合物，其用於治療選自急性呼吸綜合征(ARDS)、肺炎和免疫病理，特別係高細胞因子血症(細胞因子風暴綜合征)、敗血症和移植物抗宿主病之疾病。

【0011】 於一方面，本發明係關於如上(和本文)定義之化合物，其用於治療病原體誘導之炎症。於一實施例中，病原體係細菌或病毒。

【0012】 一方面，本發明係關於如上(和本文)定義之化合物，其用於聯合治療與Toll樣受體激活相關之炎症或與病原體誘導之炎症相關之炎症和治療病毒感染。

【0013】 於一方面，本發明係關於如上(和本文)定義之化合物，其用作抗炎藥和抗病毒藥。

【0014】 於一具體方面，通式I之化合物係PLD或其藥學上可接受之鹽或立體異構體。

【0015】 於一具體方面，通式I之化合物係膜海鞘素B或其藥學上可接受之鹽或立體異構體。

【0016】 另一方面，本發明還係關於用於本發明用途之藥物組合物，該藥物組合物包含本文所定義之化合物和藥學上可接受之載體。

【0017】 另一方面，本發明係關於本文所定義之化合物於製備用於治療炎症之藥物中之用途。

【0018】 另一方面，本發明係關於本文所定義之化合物於製備用於治療與Toll樣受體激活相關之炎症之藥物中之用途。

【0019】 於另一方面，本發明係關於如本文所定義之化合物於製備藥物中之用途，該藥物用於治療選自肺炎、急性呼吸綜合征(ARDS)、高細胞因子血症(細胞因子風暴綜合征)、敗血症和移植物抗宿主病之疾病。

【0020】 另一方面，本發明係關於本文所定義之化合物於製備用於治療病原體誘導之炎症之藥物中之用途。

【0021】 於另一方面，本發明係關於本文所定義之化合物於製備藥物中之用途，該藥物用於聯合治療與Toll樣受體激活相關之炎症或與病原體誘導之炎症相關之炎症以及治療病毒感染。

【0022】 另一方面，本發明係關於本文所定義之化合物於製備用作抗炎藥

和抗病毒藥之藥物中之用途。

【0023】 於另一方面，本發明係關於用於治療任意哺乳動物(較佳係人)之炎症之方法，其中該方法包括向有需要之個體給藥治療有效量之本文所定義之化合物。

【0024】 於另一方面，本發明係關於治療任意哺乳動物(較佳係人)之與Toll樣受體激活相關之炎症之方法，其中該方法包括向有需要之個體給藥治療有效量之本文所定義之化合物。

【0025】 於另一方面，本發明係關於治療任意哺乳動物(較佳係人)之選自肺炎、急性呼吸綜合征(ARDS)、高細胞因子血症(細胞因子風暴綜合征)、敗血症和移植物抗宿主病之方法，其中該方法包括向有需要之個體給藥治療有效量之本文所定義之化合物。

【0026】 於另一方面，本發明係關於治療任意哺乳動物（較佳係人）之病原體誘導之炎症之方法，其中該方法包括向有需要之個體給藥治療有效量之本文所定義之化合物。

【0027】 於另一方面，本發明係關於對任意哺乳動物(較佳係人)進行聯合治療與Toll樣受體激活相關之炎症或與病原體誘導之炎症相關之炎症和病毒感染之方法，其中該方法包括向有需要之個體給藥治療有效量之本文所定義之化合物。

【0028】 於另一方面，本發明係關於抗炎和抗病毒治療之方法，其中該方法包括向有需要之個體給藥治療有效量之本文所定義之化合物。

【0029】 於本發明之另一方面，提供了試劑盒，該試劑盒包括本文定義之化合物，以及用於治療炎症之說明書；該試劑盒用於治療與Toll樣受體激活相關之炎症；用於治療選自肺炎、高細胞因子血症(細胞因子風暴綜合征)、敗血症和移植物抗宿主病之疾病；用於治療病原體誘導之炎症；用於聯合治療與Toll樣受

體激活相關之炎症或與病原體誘導之炎症相關之炎症和用於治療病毒感染；或用作抗炎藥和抗病毒藥。於另一實施例中，試劑盒還可包含用於治療病毒感染，較佳係SARS-CoV或SARS-CoV-2感染之說明書。

【0030】 以下實施例適用於本發明之所有方面。

【0031】 病原體可以係病毒。Toll樣受體可被病毒激活。較佳地，該病毒係RNA病毒。更佳地，該病毒選自黃病毒科、小RNA病毒科、披膜病毒科、杯狀病毒科、反轉錄病毒科、冠狀病毒科、正粘病毒科、白蛉病毒屬、以及沙狀病毒科。或者，該病毒係為雙鏈DNA病毒，較佳係皰疹病毒科。

【0032】 替換地或附加地，病毒係呼吸道病毒。

【0033】 R_3和R_4獨立地選自氫和取代或未取代之C_1-C_6烷基。R_3可以係異丙基，R_4可以係氫。R_3和R_4可以係甲基（該化合物亦稱為通式**II**之化合物）。

【0034】 R_{11}可以選自氫和取代或未取代之C_1-C_6烷基。R_{11}可以係甲基或異丁基。R_{11}可以係甲基並且n＝1（該化合物亦稱為通式**III**之化合物）。

【0035】 R_1、R_5、R_9和R_{15}可以獨立地選自氫和取代或未取代之C_1-C_6烷基。R_1可以選自仲丁基和異丙基，R_5可以係異丁基，R_9可以係對甲氧基苄基，R_{15}可以選自甲基和苄基。

【0036】 R_8、R_{10}、R_{12}和R_{16}可以獨立地選自氫和取代或未取代之C_1-C_6烷基。R_8、R_{10}和R_{12}可以係甲基，R_{16}可以係氫。

【0037】 R_6和R_{14}可以獨立地選自氫和取代或未取代之C_1-C_6烷基。R_6可以選自氫和甲基，並且R_{14}可以係氫。

【0038】 R_7和R_{13}可以獨立地選自氫和取代或未取代之C_1-C_6烷基。R_7可以係甲基，R_{13}可以選自氫、甲基、異丙基、異丁基和3-氨基-3-氧丙基。

【0039】 R_6和R_7和/或R_{13}和R_{14}與它們所連接之相應之N原子和C原子一起可以形成取代或未取代之吡咯烷基團。

【0040】 R_2可以選自氫、取代或未取代之C_1-C_6烷基和COR_a，其中R_a可以係取代或未取代之C_1-C_6烷基。R_2可以係氫。

【0041】 R_{17}可以選自氫、COR_a、$COOR_a$、$CONHR_b$、$(C=S)NHR_b$、以及SO_2R_c，並且其中R_a、R_b和R_c可以獨立地選自取代或未取代之C_1-C_6烷基、取代或未取代之C_2-C_6烯基、取代或未取代之C_2-C_6炔基、取代或未取代之芳基和取代或未取代之雜環基。R_{17}可選自氫、COO苄基、CO苯並[b]噻吩-2-基、SO_2（對甲基苯基）、$COCOCH_3$和$COOC-(CH_3)_3$。

【0042】 X可以係NH。X可以係O。Y可以係CO。Y可以係–$COCH(CH_3)CO-$。

【0043】 該化合物可以係PLD或其藥學上可接受之鹽或立體異構體。該化合物可以係PLD。

【0044】 該化合物可以係膜海鞘素B（didemninB）、或其藥學上可接受之鹽或立體異構體。該化合物可以係膜海鞘素B。

【0045】 該炎症可以係由於COVID-19。

【0046】 CoV感染可以係輕度感染、和/或中度感染、和/或重度感染。

【0047】 該CoV感染可以係急性CoV感染，較佳地，其中該CoV感染係急性COVID-19感染；和/或可以係持續有症狀之CoV感染，較佳地，其中該CoV感染係持續有症狀之COVID-19感染；和/或可以係後CoV綜合征、持續性CoV或長CoV；較佳地其中該CoV感染係後COVID-19綜合征、持續性COVID或長COVID。CoV後綜合征，持續性CoV或長CoV可包括心血管、呼吸、胃腸、神經、肌肉骨骼、代謝、腎臟、皮膚、耳鼻咽喉、血液學和自主神經系統；精神問題、全身疼痛、疲勞和/或持續發燒引起之一種或多種症狀。

【0048】 該用途可包括用於治療具有CoV感染(較佳係COVID-19)症狀和體征長達4周；和/或4周至12周；和/或超過12周之患者。

【0049】 該用途可包括預防、減少或治療持續性COVID、長COVID或後COVID綜合征；較佳地，預防、減少或治療將患者遭受持續性COVID、長COVID或後COVID綜合征症狀之可能性降至最低；和/或降低此類症狀之嚴重程度；進一步較佳地，治療將CoV感染之症狀降至最低。

【0050】 該用途可降低CoV患者之傳染性，包括無症狀或症狀不明顯但具有高病毒載量之患者。該用途可以減少超級傳染源之發生（無症狀或症狀不明顯之高病毒載量患者（例如Tc<25））。

【0051】 該用途可減少與病原體感染相關之併發症，包括住院、ICU和死亡。較佳地，病原體係CoV感染。

【0052】 該用途可以係預防、減少或治療持續性COVID（亦稱為長COVID或後COVID綜合征）。

【0053】 該化合物可與皮質類固醇，較佳地塞米松聯合給藥。該化合物和皮質類固醇可以同時、分別或順序給藥。

【0054】 該化合物可以根據每日一次，給藥10天、9天、8天、7天、6天、5天、4天、3天、2天或1天之方案給藥；較佳係2-5天、3-5天、或3、4或5天；最佳係3天或5天；最佳係3天。

【0055】 該化合物之給藥劑量係為：每天5mg或更少、每天4.5mg或更少、每天4mg或更少、每天3.5mg或更少、每天3mg或更少、每天2.5mg或更少、或每天2mg或更少；0.5mg/天、1mg/天、1.5mg/天、2mg/天、2.5mg/天、3mg/天、3.5mg/天、4mg/天、4.5mg/天、或5mg/天；較佳係1mg/天、1.5mg/天、2mg/天或2.5mg/天；較佳係1.5-2.5mg/天；進一步較佳係1.5mg/天、2mg/天或2.5mg/天。

【0056】 該化合物之總給藥劑量係為：1-50mg、1-40mg、1-30mg、1-20mg、1-15mg、3-15mg、3-12mg、4-12mg、4-10mg、4.5-10mg；4.0mg、4.5mg、5mg、5.5mg、6mg、6.5mg、7mg、7.5mg、8mg、8.5mg、9mg、9.5mg或10mg；較佳係

4.5mg、5mg、6mg、7.5mg、8mg、9mg、或10mg；更佳係4.5-7.5mg/天。總劑量可以分成1、2、3、4、5、6、7、8、9或10天，較佳係3天或5天；最佳係3天。

【0057】 該化合物可以以1.5-2.5mg/天之劑量每日一次給藥，持續3天。劑量可以係為1.5mg/天。劑量可以係為2.5mg/天。

【0058】 該化合物可以係以1.5小時注射給藥之PLD，每天一次，連續3天。可以1.5小時注射給藥1.5mg PLD，每天一次，連續3天。可以1.5小時注射給藥2mg PLD，每天一次，連續3天。可以1.5小時注射給藥2.5mg PLD，每天一次，連續3天。可以1.5小時注射給藥1mg PLD，每天一次，連續5天。可以1.5小時注射給藥2mg PLD，每天一次，連續5天。

【0059】 方案可以係單劑量（1天）。化合物可以1-10mg、4-10mg、4.5-10mg、4mg、4.5mg、5mg、5.5mg、6mg、6.5mg、7mg、7.5mg、8mg、8.5mg、9mg、9.5mg或10mg；較佳係4.5mg、5mg、6mg、7.5mg、8mg、9mg或10mg；更佳係5-9mg、6.5-8.5mg、7-8mg或7.5mg之單劑量給藥。該化合物可以係1.5小時注射、單劑量給藥之PLD。

【0060】 單劑量方案可與本發明所述之所有療法一起使用。於實施例中，與皮質類固醇之組合使用(包括隨後之皮質類固醇給藥)可以與單劑量方案一起使用。多日方案可以與本發明中提出之所有療法一起使用。

【0061】 皮質類固醇可以於與給藥根據本發明之化合物相同之天數每天給藥。可於隨後之一天或多天給藥皮質類固醇。可以於隨後之1、2、3、4、5、6、7、8、9、10天或更多天給藥皮質類固醇。當與本發明之化合物於同一天給藥時，可以以較高劑量給藥皮質類固醇，並且於隨後之一天或多天以較低劑量給藥。皮質類固醇可以係地塞米松。

【0062】 本發明之化合物可以於給藥方案之第1-3天以本發明之劑量給藥。皮質類固醇可以於給藥方案之第1-3天靜脈注射給藥。此後，皮質類固醇可

以從第4天至第10天藉由口服給藥或IV給藥（取決於醫生根據患者臨床狀況和進展之判斷）。皮質類固醇可以係地塞米松。劑量可以係第1至3天6.6mg/天IV（例如8mg磷酸地塞米松），然後從第4天到第10天口服或IV地塞米松6mg/天（例如7.2mg磷酸地塞米松或6mg地塞米松鹼）。

【0063】 在實施例中，地塞米松係磷酸地塞米松，並且例如於第1天至第3天以8mg/天之劑量IV給藥，然後從第4天至第10天口服或IV地塞米松7.2mg/天。

【0064】 根據本發明之化合物可以注射給藥，較佳為1小時注射、1.5小時注射、2小時注射、3小時注射或更長時間，特別較佳為1.5小時注射。

【0065】 方案可以係1.5小時注射給藥1.5mg普立肽，每天一次，連續3天；或1.5小時注射給藥2mg普立肽，每天一次，連續3天；或1.5小時注射給藥2.5mg普立肽，每天一次，連續3天；或1.5小時注射給藥1mg普立肽，每天一次，連續5天；或1.5小時注射給藥2mg普立肽，每天一次，連續5天。

【0066】 方案可以係於第1天作為單劑量以1.5小時注射給藥7.5mg普立肽。

【0067】 根據本發明之化合物可以使用負荷劑量和維持劑量給藥。

【0068】 根據本發明之方案可以係：

第1天2.5mg之負荷劑量，隨後幾天2mg/天之維持劑量；

第1天2.5mg之負荷劑量，隨後幾天1.5mg/天之維持劑量；

第1天2.5mg之負荷劑量，隨後幾天1mg/天之維持劑量；

第1天2.5mg之負荷劑量，隨後幾天0.5mg/天之維持劑量；

第1天2mg之負荷劑量，隨後幾天1.5mg/天之維持劑量；

第1天2mg之負荷劑量，隨後幾天1mg/天之維持劑量；

第1天2mg之負荷劑量，隨後幾天0.5mg/天之維持劑量；

第1天1.5mg之負荷劑量，隨後幾天1mg/天之維持劑量；

第1天1.5mg之負荷劑量，隨後幾天0.5mg/天之維持劑量；或

第1天1mg之負荷劑量，隨後幾天0.5mg/天之維持劑量。

【0069】 根據本發明之化合物可以與皮質類固醇組合給藥。皮質類固醇可以於與化合物給藥相同之天數給藥。

【0070】 皮質類固醇亦可以於隨後之一天或更多天給藥；例如其中皮質類固醇於第1-3天與化合物一起給藥，皮質類固醇於第4-10天中之一天或更多天進一步給藥。

【0071】 皮質類固醇可以於給藥化合物之天數裡靜脈注射給藥，但於隨後天數裡藉由口服或IV給藥。

【0072】 皮質類固醇可以係地塞米松。地塞米松可以於給藥化合物之天數裡以6.6mg/天之劑量IV給藥。

【0073】 地塞米松可以於隨後天數，較佳為第4、5、6、7、8、9和10天中之一天或更多天，以6mg/天之劑量口服給藥或IV給藥。

【0074】 本文定義之地塞米松劑量係指鹼重量（base weight）。因此，如果以鹽形式使用，可以調節劑量。例如，地塞米松可以係磷酸地塞米松，使得8mg/天磷酸地塞米松相當於6.6mg地塞米松鹼，7.2mg/天磷酸地塞米松相當於6mg地塞米松鹼。

【0075】 根據本發明之化合物，特別係PLD，可以於第1天至第3天與IV地塞米松6.6mg/天組合靜脈注射（IV）給藥1.5mg/天，隨後從第4天至第10天口服（PO）/IV地塞米松6mg/天（取決於醫生根據患者臨床狀況和進展之判斷）。

【0076】 根據本發明之化合物，特別係PLD，可以於第1天至第3天與IV地塞米松6.6mg/天組合靜脈注射（IV）給藥2.0mg/天，隨後從第4天至第10天口服（PO）/IV地塞米松6mg/天（取決於醫生根據患者臨床狀況和進展之判斷）。

【0077】 根據本發明之化合物，特別係PLD，可以於第1天至第3天與IV地

塞米松6.6mg/天組合靜脈注射（IV）給予2.5mg/天，然後從第4天至第10天口服（PO）/IV地塞米松6mg/天（取決於醫生根據患者臨床狀況和進展之判斷）。

【0078】 皮質類固醇可於開始用本文定義之化合物治療前20至30分鐘給藥。

【0079】 於根據本發明之方案中，患者可另外接受以下藥物，較佳於開始用根據本發明之化合物治療前20至30分鐘：

昂丹司瓊8mg IV（或等同藥物）；

鹽酸苯海拉明25mg IV（或等同藥物）；以及

雷尼替丁50mg IV（或等同藥物）。

【0080】 於根據本發明之方案中，於第4天和第5天，患者可PO接受每天兩次4mg之昂丹司瓊（或等同藥物）。

【0081】 當以單劑量給藥時，患者可於注射普立肽前20-30分鐘接受以下預防性藥物：

-鹽酸苯海拉明25mg i.v；

-雷尼替丁50mg i.v；

-地塞米松 6.6mg 靜脈注射;

-昂丹司瓊8mg i.v，緩慢注射15分鐘。

【0082】 可每12小時口服昂丹司瓊4mg，持續3天，以減輕藥物引起之噁心和嘔吐。如果於早晨給予普立肽，患者可於下午接受第一劑量昂丹司瓊。

【圖式簡單說明】

【0083】 於以下非限制性附圖中進一步描述本發明：

【0084】 **[圖1]**顯示PLD抑制了應答Toll樣受體激活之NF-κB轉錄。用NF-kB-Luc質粒穩定轉染人單核細胞(THP-1)，並且(A)於存在和不存在PLD時測量

NF-kB轉錄之水準。(B)藉由MTT細胞增殖實驗測試化合物誘導之細胞毒性。培養物暴露於100nM之PLD中6小時。RQ—雷西莫特（雷西莫特），10μg/mL。LPS-B5—來自大腸桿菌055:B5之脂多糖(LPS-B5)，10μg/mL。Poly-C—聚胞苷酸（Polyinosinic-polycytidylic），500μg/mL。以TNF-α為陽性對照組。***p<0.001；**p<0.01

【0085】 **[圖2]**顯示普立肽負性調節TLR觸發之細胞因子分泌。應答Toll樣受體激活之NF-κB轉錄導致促炎細胞因子：IL-1(a)、IL-6(b)、IL-8(c)和TNF-α(d)之分泌增加。培養物暴露於100nM之PLD或DMSO 6小時。於處理後6小時，藉由ELISA分析分泌之細胞因子。以TNF-α為陽性對照組。***p<0.001；**p<0.01

【0086】 **[圖3]**顯示PLD對細胞因子IL-6、IL-10和TNF-α之離體下調。

【0087】 **[圖4]**顯示LPS刺激之（LPS-challenged）小鼠中經典激活之巨噬細胞之減少。

【0088】 **[圖5]**顯示了普立肽對LPS處理之小鼠中肺泡巨噬細胞募集之影響。小鼠(a)、大鼠(b)和倉鼠(c)分別於單次靜脈注射1.0、0.2和0.2 mg/kg後血漿和肺中普立肽之濃度-時間曲線(平均值±SD)。

【0089】 **[圖6]**-MT-2細胞（**圖6A**）和預先激活之PBMC（**圖6B**）中幾種濃度（μM）之化合物3之抗病毒活性（-◆-RLU）和毒性（-●-活力（Viability））之圖形表示，其中MT-2細胞和預先激活之PBMC都感染了重組病毒（NL4.3 Luc）。圖形表示至少係MT-2細胞之兩個獨立實驗和PBMC之四個獨立實驗之平均值。

【0090】 **[圖7]**-MT-2細胞（**圖7A**）和預先激活之PBMC（**圖7B**）中幾種濃度（μM）之化合物8之抗病毒活性（-◆-RLU）和毒性（-●-活力）之圖形表示，其中MT-2細胞和預先激活之PBMC都感染了重組病毒（NL4.3 Luc）。圖形表示至少係MT-2細胞之兩個獨立實驗和PBMC之四個獨立實驗之平均值。

【0091】 **[圖8]**-MT-2細胞（**圖8A**）和預先激活之PBMC（**圖8B**）中幾種濃

度（μM）之化合物9之抗病毒活性（-◆-RLU）和毒性（-●-活力）之圖形表示，其中MT-2細胞和預先激活之PBMC都感染了重組病毒（NL4.3 Luc）。圖形表示至少係MT-2細胞之兩個獨立實驗和PBMC之四個獨立實驗之平均值。

【0092】 **[圖9]**-MT-2細胞（**圖9A**）和預先激活之PBMC（**圖9B**）中幾種濃度（μM）之化合物10之抗病毒活性（-◆-RLU）和毒性（-●-活力）圖形表示，其中MT-2細胞和預先激活之PBMC都感染了重組病毒（NL4.3 Luc）。圖形表示至少係MT-2細胞之兩個獨立實驗和PBMC之四個獨立實驗之平均值。

【0093】 **[圖10]**-MT-2細胞（**圖10A**）和預先激活之PBMC（**圖10B**）中幾種濃度（μM）之化合物11之抗病毒活性（-RLU）和毒性（-●-活力）之圖形表示，其中MT-2細胞和預先激活之PBMC都感染了重組病毒（NL4.3 Luc）。圖形表示至少係MT-2細胞之兩個獨立實驗和PBMC之四個獨立實驗之平均值。

【0094】 **[圖11-15]**示出螢光圖像，其顯示a）細胞生長和b）DMSO 24hpi對HCoV-229E感染之Huh-7細胞之抗病毒活性（表2之A1、A2、A3、A4、A5）。可以看出，細胞保持存活，但沒有觀察到抗病毒效果。

【0095】 **[圖16-19]**示出螢光圖像，其顯示a）細胞生長和b）化合物240（膜海鞘素B）於50nM、5nM和0.5nM濃度下24hpi對HCoV-229E感染之Huh-7細胞之抗病毒活性（分別為表2中之B1、B2、B3、B4）。可以看出，細胞於包括高濃度於內之所有濃度下都保持存活；並且於所有濃度下，甚至於亞納米摩爾濃度下，都可以看到顯著抗病毒特性。

【0096】 **[圖20-23]**示出螢光圖像，其顯示a）細胞生長和b）PLD於50nM、5nM和0.5nM濃度下24hpi對HCoV-229E感染之Huh-7細胞之抗病毒活性（分別為表2中之C1、C2、C3、C4）。同樣，可以看出，細胞於所有濃度下，包括高濃度下，都保持存活；並且於所有濃度下，甚至於亞納米摩爾濃度下，都可以看到顯著抗病毒特性。

【0097】 **[圖24-26]**示出螢光圖像，其顯示a）細胞生長和b）化合物9於50nM、5nM和0.5nM濃度下24hpi對HCoV-229E感染之Huh-7細胞之抗病毒活性（分別為表之D1、D2、D3）。同樣，可以看出，細胞於所有濃度下，包括高濃度下，都保持存活；並且於所有濃度下，甚至於亞納米摩爾濃度下，都可以看到顯著抗病毒特性。

【0098】 **[圖27-29]**示出螢光圖像，其顯示a）細胞生長和b）化合物10於50nM、5nM和0.5nM濃度下24hpi對HCoV-229E感染之Huh-7細胞之抗病毒活性（分別為表2之E1、E2、E3）。同樣，可以看出，細胞於所有濃度下，包括高濃度下，都保持存活；並且於所有濃度下，甚至於亞納米摩爾濃度下，都可以看到顯著抗病毒特性。

【0099】 **[圖30-33]**示出螢光圖像，其顯示a）細胞生長和b）PLD於50nM、5nM和0.5nM濃度下24hpi對HCoV-229E感染之Huh-7細胞之抗病毒活性（分別為表2中之F1、F2、F3、F4）。同樣，可以看出，細胞於所有濃度下，包括高濃度下，都保持存活；並且於所有濃度下，甚至於亞納米摩爾濃度下，都可以看到顯著抗病毒特性。

【0100】 **[圖34和圖35]**顯示了根據本發明之劑量方案和給藥預測之總血漿濃度曲線相對時間之關係。

【0101】 **[圖36]**顯示了根據本發明之進一步劑量方案和給藥預測之總血漿濃度曲線相對時間之關係。

【0102】 **[圖37]**顯示了PLD對vero細胞中SARS-CoV-2之抗病毒作用之劑量反應曲線。

【0103】 **[圖38]**顯示了PLD對vero細胞中SARS-CoV-2之抗病毒作用之劑量反應曲線。

【0104】 **[圖39]**示出x射線，其顯示了PLD給藥對雙側肺炎患者之影響。

【0105】 **[圖40]**示出x射線，其顯示了PLD給藥對單側肺炎患者之影響。

【0106】 **[圖41]**顯示了用PLD處理之患者之C反應蛋白測試。

【0107】 **[圖42]**顯示了患者4（圖42a）、患者5（圖42b）、患者6（圖42c）和患者7（圖42d）之病毒載量記錄。患者連續3天（第1-3天）每天以90分鐘IV注射給藥PLD，於基線、第4天、第7天、第15天和第31天藉由PCR評估病毒載量。

【0108】 **[圖43]**顯示了用（PR8）或不用（PC）PLD處理之感染流感病毒之小鼠BALF中之炎症圖形（inflammatory profile）。

【0109】 **[圖44]**顯示了用或不用PLD處理之小鼠肺中流感病毒之滴度。藉由qPCR檢測病毒NP（NP-PR8）之mRNA水準，定量PLD之抗病毒活性。

【0110】 **[圖45]**顯示了用（PR8）或不用（PC）PLD處理之感染流感之小鼠BALF中免疫細胞，特別係AM（肺泡巨噬細胞）之浸潤水準之定量測量。

【0111】 **[圖46]**顯示了VeroE6細胞中之WNV-GFP感染效率。感染效率(GFP；綠線)和細胞生物量(DAPI；藍線)之普立肽劑量-反應曲線。資料顯示係為用四個生物學重複（biological replicate）(n＝8)進行之兩個獨立實驗之平均值和SEM。

【0112】 **[圖47]**顯示Huh-7細胞中之WNV-GFP感染效率。感染效率(GFP；綠線)和細胞生物量(DAPI；藍線)之普立肽劑量-反應曲線。資料顯示係為用四個生物學重複(n＝8)進行之兩個獨立實驗之平均值和SEM。

【0113】 **[圖48]**顯示了普立肽對WNV細胞外感染性滴度之影響。用MOI係為0.01之WNV/NY99接種Vero-E6(a)或Huh-7細胞(b)。48小時後，收集細胞上清液，藉由終點稀釋和免疫螢光顯微鏡測定細胞外感染性滴度。資料以對數尺度之單位體積上清液之感染單位(病灶形成單位(FFU)/ml)表示，並顯示為平均值和SEM(N＝4)。使用單向ANOVA和Dunnet事後檢驗（Dunnet´s post hoc test）檢驗統計顯著性(*p<0.05)。

【0114】 **[圖49]**顯示了普立肽對細胞內WNV RNA水準之影響。用MOI係為0.01之WNV/NY99接種Vero-E6(a)或Huh-7(b)細胞。48小時後，對總細胞RNA進行RT-qPCR。資料表示係為對數尺度歸一化之基因組拷貝數/60ng總RNA，使用28S RNA作為看家基因（house-keeping gene），並顯示為平均值和SEM(N＝4)。使用單向ANOVA和Dunnet事後檢驗檢驗統計顯著性（*p<0.05）。N.D.，未檢測到（<1000個拷貝/反應）。

【0115】 **[圖50]**顯示了1nM、10nM和50nM之普立肽（APL）預處理對促炎細胞因子IL6（a）、IL8（b）、IL1β (c)和TNF-α（d）分泌之影響。(e)顯示1nM、10nM和50nM PLD處理對細胞活力之影響(相對對照組之百分比)。0時，用1nM、10nM或50nM APL或DMSO（0.2%）處理THP-1細胞，然後於8時用2.5或5μg/mL之雷西莫特刺激。於24時測量細胞因子或細胞活力。

【0116】 **[圖51]**顯示了普立肽處理對於從支氣管肺泡灌洗液（BALF）分離之$CD45^+$細胞中，由LPS-B5介導之促炎細胞因子IL-6（c）、IL-10（d）和TNF-α（e）之產生之影響。(a)顯示對照組、LPS-B5、以及LPS-B5和PLD處理之細胞中$CD45^+$活細胞之百分比。(b)顯示於LPS-B5、以及LPS-B5和PLD處理之細胞中相對對照組之細胞存活之百分比。

【0117】 **[圖52]**顯示了普立肽治療對由雷西莫特介導之促炎細胞因子TNF-α產生之影響。

【0118】 **[圖53]**顯示了單劑量普立肽7.5mg和1.5、2.0和2.5mg（使用1.5小時注射）於第1天至第3天之總對血漿濃度曲線。

【實施方式】

【0119】 以下實施例適用於本發明之所有方面。

【0120】 現在將進一步描述本發明。在下面之段落中，更詳細地限定本發

明之不同方面。如此限定之每個方面可與任何其它一個或複數方面或一個或複數實施例組合，除非明確指示不要這樣組合。特別地，指示為較佳為或有利之任一特徵可以與指示為較佳為或有利之任何其它一個或複數特徵組合。

【0121】 在本申請中，使用了複數通用術語和短語，其應當被解釋如下。

【0122】 病毒感染情況下之“治療”（“treat”、“treating”、以及“treatment”）可指以下一項或多項：1）減少感染細胞之數量；2）減少血清中存在之病毒粒子數量，包括病毒滴度之降低（可藉由qPCR測量）；3）抑制（即於一定程度上減緩，較佳係停止）病毒複製速率；4）減少病毒RNA載量；5）減少病毒感染性滴度（能夠入侵宿主細胞之病毒顆粒之數量）；和6）於某種程度上緩解或減輕與病毒感染相關之一種或多種症狀。這可能包括與病毒感染相關之炎症。

【0123】 “患者”包括人類、非人類哺乳動物（如狗、貓、兔子、牛、馬、綿羊、山羊、豬、鹿等）和非哺乳動物（如鳥類等）。患者需要住院治療以治療炎症和/或感染。

【0124】 普立肽（Plitidepsin）（PLD）係一種環酯肽（cyclic depsipeptide），最初從海洋海鞘白色念珠菌（marine tunicate *Aplidium albicans*）中分離得到。PLD亦被稱為Aplidin或Aplidine。這些術語於本文中可互換使用。PLD類似物係本文定義為式I、II或III化合物之類似物。於較佳實施例中，本發明係關於PLD之用途。

【0125】 我們發現PLD

(i) 抑制NF-κB之轉錄，尤其係當被Toll樣受體激活誘導時；

(ii) 體內和離體抑制促炎細胞因子之分泌，該促炎細胞因子例如但不限於IL-1、IL-6、IL-8和TNF-α；且

(iii) 抑制巨噬細胞之激活和/或募集。

【0126】 這些特性意味著PLD於治療炎症方面具有特殊之功效。特別地，我們已經發現PLD於治療由病原體感染引起之炎症方面具有特別之功效。如實施

例中所示，我們發現PLD可以抑制許多關鍵之促炎細胞因子之分泌。特別地，我們發現PLD可藉由Toll樣受體(TLR)抑制NF-kB之轉錄，以及後續之促炎細胞因子之分泌。如本文所解釋的，Toll樣受體應答於許多感染性刺激而被激活。TLR配體(即刺激物（stimuli）)與Toll樣受體(TLR)之結合觸發下游之信號傳遞級聯，其最終導致核轉錄因子-κB(NF-kB)之激活，核轉錄因子-κB(NF-kB)控制促炎細胞因子和趨化因子之誘導。我們已經發現PLD顯著地阻斷這種級聯反應，從而導致促炎細胞因子釋放或分泌之減少。結果，於一實施例中，PLD可用於於Toll樣受體激活後預防炎症。於另一實施例中，PLD可用於抑制NF-kB轉錄或NF-kB誘導之促炎細胞因子之表達或分泌。於另一實施例中，PLD可用於抑制促炎細胞因子之表達和/或分泌。

【0127】 我們還發現，PLD顯著降低巨噬細胞激活和/或募集（特別係應答於病原體刺激）之水準。激活之巨噬細胞係炎症之關鍵介質，抑制激活係治療炎症之核心。因此，於另一實施例中，PLD還可用於治療病原體誘導之炎症，特別係藉由減少巨噬細胞激活和/或募集。

【0128】 還顯示PLD以高親和力和低解離速率結合人翻譯延伸因子eEF1A(真核翻譯延伸因子1 α 1)。對腫瘤細胞之FLIM-phasor FRET實驗表明，PLD定位於腫瘤細胞中足夠接近eEF1A，從而提示於活細胞中形成藥物-蛋白質複合物。PLD抗性細胞係（PLD-resistant cell lines）還顯示降低的eEF1A蛋白水準和這些抗性細胞中eEF1A之異位表達恢復了對PLD之敏感性，表明eEF1A直接參與了PLD之作用機制。

【0129】 許多病毒，例如SARS-CoV和SARS-CoV-2之N蛋白，亦與eEF1A結合，並且這種結合對於病毒複製係必需的。然而，給藥PLD和後續之PLD與eEF1A之結合阻止或減少病毒N-蛋白與eEF1A之結合。這反過來又可以防止病毒複製。因此，PLD和EF1A之間之相互作用可降低從頭合成病毒衣殼之效率，並

因此導致病毒載量之降低。

【0130】 除此之外，PLD與eEF1A之結合阻止了eEF1A與其通常之結合配偶體相互作用。一種這樣的結合配偶體係dsRNA激活之蛋白激酶(PKR或eIF2AK2)。PLD與eEF1A之結合從與eEF1A之複合物中釋放PKR，導致PKR之活化。PKR係抗病毒免疫應答中之關鍵角色。具體而言，

(i) 活化之PKR磷酸化起始因子eIF2之α亞基，導致形成無活性之eIF2複合物；

(ii) PKR之激活藉由Fas聚集和NF-κB轉位之機制誘導細胞凋亡，從而消除感染細胞。

【0131】 值得注意地，病毒（如CoV）之蛋白4a藉由螯合（sequestration）dsRNA強烈抑制PKR之激活。PLD繞過這種病毒反應，藉由從eEF1A複合物釋放PKR而導致PKR激活，這可以從於沒有病毒感染之情況下PKR之激活中看出。

【0132】 最後，除上述外，PLD與eEF1A之結合亦激活了ER應激誘導之未折疊蛋白反應（UPR），這反過來又導致了許多抗病毒反應，包括eIF2 α之磷酸化。

【0133】 藉由這些機制之結合-(i)抑制或減少N蛋白/eEF1A相互作用；(ii)PKR之激活和(iii)UPR之激活；PLD阻止病毒複製並導致宿主反應之激活，從而消除病毒。兩者都有助於有效之病毒療法。靶向eEF1A之另一個優點係它係人類目標，因此不會像病毒蛋白那樣突變以逃避PLD。

【0134】 因此，本發明之化合物(包括PLD)可用於治療病毒感染和由病毒感染引起之任何炎症。換句話說，本發明之化合物(包括PLD)作為單一療法可用於治療由病毒感染引起之兩種適應症-感染本身(病毒合成之抑制和病毒之消除)、以及任意(後續之)過度之宿主炎症反應-即高細胞因子血症。

【0135】 因此，本發明之化合物(包括PLD和膜海鞘素B（didemninB）)，

特別係PLD，可用於治療炎症，特別係與Toll樣受體激活和/或病原體感染引起之炎症相關之炎症。

【0136】 本發明可用於以下病毒：

黃病毒科

【0137】 黃病毒科病毒（flaviviridae virus）係許多影響全球公共衛生之重要疾病之罪魁禍首。黃病毒科病毒包括黃熱病毒(YFV)、寨卡病毒(ZIKV)、日本腦炎病毒(JEV)、西尼羅病毒(WNV)、丙型肝炎病毒(HCV)和登革熱病毒(DENV)。*黃病毒科*病原體於感染細胞中奪取細胞途徑，產生允許病毒複製之環境。藉由與病毒RNA之3′(+)莖環和幾種複製複合物蛋白之相互作用，eEF1A於負鏈RNA合成和病毒複製中具有重要作用。延伸因子eEF1A與包括蜱傳黃病毒於內之幾種不同（divergent）黃病毒之RNA之3′端莖環相互作用，並與登革熱病毒複製複合物於感染細胞中共存。這些結果表明eEF1A於所有黃病毒之RNA複製中起相似之作用。所有黃病毒引起之疾病之另一個特徵係，一小部分患者遭受病毒感染炎症反應之加劇（細胞因子風暴），這最終產生組織損傷並惡化由病毒引起之病理過程。

1. 登革熱病毒

【0138】 登革熱係由四種登革熱病毒(DENV-1-4)中之任何一種引起的，屬於黃病毒科。DENV係含有約10千鹼基長度之單鏈(+)RNA之小包膜病毒，其編碼被切割以產生10個病毒蛋白之單個多蛋白。登革熱病毒感染係世界熱帶和亞熱帶地區之主要健康問題。最初之DENV感染可能係無症狀的或產生登革熱（DF），一種急性發熱性疾病，伴有頭痛、關節痛和皮疹，患者通常可以於沒有併發症之情況下康復。異質性登革熱病毒血清型之二次感染可產生登革出血熱/登革休克綜合征(DHF/DSS)，其特徵係血漿滲漏和異常出血，可導致休克和死亡。嚴重登革熱之標誌係血管完整性之瞬間擾動（transient perturbation）和凝血。恢

復通常係快速和完整的，這表明關鍵機制係血管系統之功能變化，而不係結構變化，這很可能係由於局部產生之細胞因子之作用。證明嚴重登革熱中之過渡之免疫激活之研究強烈表明：免疫應答於登革熱發病機制中起著關鍵作用。固有免疫和適應性免疫（及其相互作用）都參與了這一過程。登革熱患者外周血細胞中之早期基因表達由I型IFN介導之應答基因主導，除I型IFN外，樹突狀細胞和單核細胞/巨噬細胞亦產生可增加血管通透性之促炎細胞因子。這種細胞因子於短時間內之海嘯（tsunami）誘導血管內皮細胞之破壞和凝血系統之失調，導致血漿滲漏、出血和休克。

【0139】 真核延伸因子1A(eEF1A)係SphK1之直接激活劑。DENV-2 RNA與來自感染細胞之eEF1A共存並共沉澱。於DENV-2感染細胞後期之SphK1活性之降低可能係DENV-2與SphK1競爭eEF1A結合並劫持細胞eEF1A以進行自身複製之策略之結果。

2. 寨卡病毒

【0140】 寨卡病毒(Zika virus，ZIKV)係寨卡熱之病原，屬於黃病毒科。ZIKV係具有約11千鹼基長度之基因組之小包膜ss(+)RNA病毒，其編碼被切割以產生10個病毒蛋白之單個多蛋白。人類感染ZIKV於過去十年於太平洋和美洲出現之前係間斷發生的。事實上，於2013年和2014年法屬波利尼西亞大規模爆發之前（當時報告了嚴重之神經系統併發症），ZIKV感染僅與輕度疾病有關，並且於巴西與ZIKV感染相關之於懷孕期間嚴重先天性畸形（小頭畸形）急劇增加。大多數病例（約80%）無症狀。當出現症狀時，它們通常係輕微的、自限性的，並且類似於其它蟲媒病毒感染(例如，DENV和CHIKV)。常見之症狀包括皮疹、發燒、關節痛和頭痛。感染寨卡病毒之病人中很少有死亡病例。目前已知ZIKV可引起胎兒感染和先天性寨卡綜合征，包括小頭畸形、腦畸形、眼科和聽力缺陷以及關節扭傷。

【0141】 於ZIKV期間炎症標誌物輕度升高已經描述。與DENV感染之情況類似，於ZIKV感染中，干擾素系統係宿主防禦和病毒反擊目標之中央介質。於ZIKV感染之急性期期間觀察到多功能免疫激活，與Th1(IL-2)、Th2(IL-4、IL-13)、Th17(IL-17)以及TH9(IL-9)應答（16）相關之細胞因子譜（cytokine profile）升高。於ZIKV感染患者中亦觀察到增加之IL-4、IL-6、IL-8、IL-10和IP-10水準。雖然於ZIKV患者中沒有觀察到“細胞因子風暴”，但於ZIKV感染之胎盤中觀察到了大量炎症，這可能會阻礙妊娠之成功（16）。ZIKV干擾胎盤之促炎/抗炎平衡，導致組織損傷和炎性霍夫鮑爾細胞（Hofbauer cell）對絨毛核心（villous core）之大量浸潤。

3. 黃熱病病毒

【0142】 黃熱病(YF)係一種由黃熱病病毒(YFV)引起之致死性病毒性出血熱(VHF)，屬於黃病毒科。YFV係具有大約11千鹼基長度之基因組之小包膜ss(+)RNA病毒，其編碼被切割以產生10個病毒蛋白之單個多蛋白。雖然大多數YFV感染無症狀或症狀非常輕，但大約12%之患者發生嚴重之YF，表現為黃疸、出血和多器官衰竭。YFV感染之特點係嚴重肝炎、腎功能衰竭、出血、以及休克和多器官衰竭之快速終末事件。

【0143】 黃熱病（YF）之病程分為三個階段：“感染”階段，一種流感樣疾病，特徵係發燒、頭痛、噁心和肌痛，於3到6天之潛伏期後開始。病毒血症之高峰出現於這個感染階段。然後係“緩解”期，之後大多數患者都會康復。最後，於該緩解後，於疾病之嚴重形式中，患者發展到中毒階段，其中，發生出血和肝臟疾病症狀，以及多器官功能障礙。

【0144】 感染之早期症狀可能係由於對感染之固有免疫應答，包括干擾素-α和TNF-α等急性期反應物之產生。於這種疾病之嚴重形式中，突然之全身炎症反應綜合征（“細胞因子風暴”）導致了終末事件和死亡。於猴子身上，YF病毒主

要於淋巴組織中複製，這種複製超出了中和抗體之出現範圍。淋巴組織於YF感染中經歷了深刻變化（profound change），這些組織中細胞之激活有助於YF之全身性終末特徵（systemic terminal feature），其特徵係釋放促炎細胞因子。終末事件發生迅速，臨床上以心血管休克和多器官衰竭為特徵。這一階段之特徵強烈表明它們係由炎症級聯介導的，儘管很少有患者被直接研究。於自然獲得性疾病中，致命病例中類似於細菌性敗血症之促炎和抗炎細胞因子(IL-6、IL-8、TNF-α、單核細胞趨化蛋白-1、IL-1受體拮抗劑、IL-10)顯著升高。抗體和T細胞之免疫清除導致促炎細胞因子之釋放、GPCR發信號、NFκB激活和氧自由基之產生，這有助於發病和細胞因子風暴。

4. 西尼羅病毒

【0145】 西尼羅病毒（WNV）係一種重要之新興嗜神經病毒，係為全球範圍內人類和馬暴發日益嚴重之腦炎之原因。WNV係為黃病毒科之成員，由a～11kb正義單鏈RNA（ssRNA）基因組編碼。基因組被翻譯為單個多聚蛋白，隨後藉由病毒和宿主蛋白酶切割該多聚蛋白生成10種病毒蛋白。WNV之發病機制分為三個階段：早期階段初發感染和傳播（早期階段）、外周病毒擴增（內臟器官散佈階段）、以及神經侵襲（中樞神經系統（CNS）階段）。包括I型干擾素（IFN）和先天細胞介導應答於內之固有免疫應答負責WNV之早期控制，而包括體液和適應性免疫細胞介導應答（CD4+、CD8+和調節性T細胞）於內之適應性免疫應答對於WNV清除和限制感染後期可能之免疫應答介導損傷必不可少。

【0146】 皮下感染後之早期階段藉由以下各項定義：WNV於角質形成細胞和皮膚駐留DC中複製，隨後病毒於引流淋巴結內擴增，從而導致病毒血症並擴散到內臟器官。WNV感染之特異性靶細胞沒有明確限定，但被認為係DC、巨噬細胞和可能之中性粒細胞之亞群。WNV侵入CNS組織(例如，腦和脊髓)構成感染之第三階段。WNV可以藉由促進病毒神經侵襲之機制之組合進入大腦，諸如

有或無破壞血腦屏障(BBB)和/或沿著外周神經元運輸病毒之直接感染。

【0147】 先天抗病毒防禦對於控制WNV感染必不可少，這些先天抗病毒防禦包括I型IFN和促炎細胞因子之產生、抗病毒基因之表達、以及適應性免疫應答之後續激活。於WNV感染中，固有免疫活性主要由RIG-1樣受體（RLR）信令觸發，而Toll樣受體（TLR）亦會有助於NF-κB激活以及I型干擾素和促炎細胞因子之產生。DC和巨噬細胞都係固有免疫崗哨細胞和WNV感染之靶細胞，它們於連結固有免疫應答和適應性免疫應答中起著關鍵作用。巨噬細胞和DC易被WNV激活，從而釋放促炎細胞因子和趨化因子，諸如I IFN型、TNF型、IL-1β型、CCL2型、CCL3型、CCL5型、以及IL-8型。這些細胞因子於調節先天細胞介導應答(涉及NK細胞、中性粒細胞和γδT細胞)以及發展適應性免疫應答中很重要。WNV發病機制之一個主要標誌係為神經炎症，其由過度之先天性免疫應答和獲得性免疫應答引起。炎性單核細胞積聚到腦中並分化為巨噬細胞和小膠質細胞亦會加重神經炎症和CNS損傷，如於非致死性WNV感染之鼠模型中所演示的。TLR識別單核細胞/小膠質細胞中之WNV核酸可能導致TNF-α之產生，這會導致緊密連接之喪失，從而允許WNV和免疫細胞進入小鼠之腦之血管周圍空間。因此，WNV對單核細胞/巨噬細胞系統之細胞之激活似乎會產生重要之神經病理學後果，並且過度之先天性應答可能導致炎症，從而更改血腦屏障通透性並允許病毒進入CNS。事實上，使用阻斷TNF-α之抗體和其他促炎介質治療受感染之神經元細胞導致WNV介導神經元死亡之顯著減少，表明這些介體於CNS中WNV感染之發病機制中起主要作用。

5. 丙型肝炎病毒

【0148】 丙型肝炎病毒（HCV）感染導致進行性肝病，其從慢性炎症惡化為纖維化、肝硬化甚至肝細胞癌。據估計，HCV所致肝炎之患病率係為7100萬人，每年造成約40萬人死亡。丙型肝炎病毒(HCV)屬於黃病毒科，係一種含有長

度大約為10個千鹼基之單鏈(+)RNA之小包膜病毒，其對單個多聚蛋白進行編碼，該單個多聚蛋白藉由細胞蛋白酶和病毒蛋白酶切割以生成10種病毒蛋白。HCV感染時，募集到肝臟之肝細胞和免疫細胞(巨噬細胞、肥大細胞、樹突狀細胞和自然殺傷細胞)啟動先天性免疫應答，導致急性HCV感染之自發消除。然而，於70%至80%之病例中，於急性階段期間，免疫應答不能清除病毒，導致慢性感染。肝細胞中持續之HCV複製導致炎症和趨化因子之產生不受控制。過量之細胞因子（如炎症介質）進一步導致肝臟炎症，最終加劇組織損傷和肝病進展。

【0149】 直接抗病毒治療首選HCV治療，但單獨使用抗病毒藥物不足以阻斷HCV感染個體之嚴重炎症和肝損傷。HCV只係病理生理過程之觸發因素，但持續之炎性細胞因子風暴和HCV誘導肝細胞損傷加劇了嚴重肝病之發展。HCV RNA誘發TLR介導NF-κB活化和炎性細胞因子釋放，同時HCV蛋白激活NLRP3。所釋放之炎症因子與它們對應之受體結合，然後誘導NF-κB激活，從而導致下游炎症應答。因此，長期持續且不受控制之炎症應答係為這些疾病之標誌，進一步導致肝損傷和更嚴重之疾病進展。於直接抗病毒治療後獲得持續抗病毒應答之一些患者仍處於發展為肝硬化和肝細胞癌之長期風險。因此，將直接抗病毒治療與抗炎/肝保護劑結合係一種於治療HCV患者方面很有前途之方案。

6. 蜱傳腦炎病毒

【0150】 蜱傳腦炎病毒（TBEV）引起嚴重疾病，這種嚴重病毒會導致永久性神經病症甚至死亡。TBE之嚴重程度取決於病毒亞型、歐洲（TBEV-Eu）、西伯利亞（TBEV-Sib）、以及遠東（TBEV-FE）。TBEV-Eu係最溫和之變體（死亡率小於2%），而TBEV-FE係最嚴重之變體，其具有嚴重之神經後遺症率以及高達40%之死亡率。TBEV係一種小包膜病毒，其含有約11個千鹼基之單鏈(+)RNA，對單個多聚蛋白進行編碼，該單個多聚蛋白藉由細胞蛋白酶和病毒蛋白酶切割以生成10種病毒蛋白。蜱傳腦炎（TBE）係一種具有三期病程之綜合征，開始係

為流感樣疾病（特點係為發燒、疲勞和身體疼痛），之後65%至70%之感染個體清除了病毒。大約三分之一之患者隨後係無症狀疾病階段，最後係神經侵襲階段，該神經侵襲階段具有嚴重程度不同之神經症狀，範圍從腦膜炎到伴有或沒有脊髓炎之嚴重腦膜腦炎。

【0151】 已經提出了免疫機制和非免疫機制以有助於TBEV穿過血腦屏障(BBB)並侵入CNS。細胞因子可能促進這一過程。諸如TNF-α和IL-6之類之細胞因子會影響內皮細胞滲透性，該內皮細胞滲透性可能誘導BBB破壞，從而導致病毒與中樞神經系統交叉。諸如樹突狀細胞、中性粒細胞、單核細胞、巨噬細胞和T細胞之類之TBEV感染之免疫細胞亦會遷移到實質隔室中，從而引起腦和脊髓中之神經元或其他細胞之感染。

【0152】 TBEV感染藉由細胞外環境或細胞質中病毒dsRNA之TLR3識別激活1型IFN之產生。IFN-α系統似乎於激活先天性免疫中起關鍵作用。它影響免疫活性細胞之激活和其他促炎細胞因子之誘導。於小鼠模型中，TBEV於感染之晚期誘導細胞因子風暴，這可以被認為係細胞因子風暴。

【0153】 有趣的是，於TBEV感染患者之急性感染階段期間，血液和腦脊液中之S1P水準大幅升高。這種增加可能會促進促炎性應答。增加細胞外S1P之產生可以藉由S1P途徑之調節劑調節。事實上，延伸因子eEF1A結合並激活SPHK以使鞘氨醇磷酸化並產生S1P。普立肽（platidepsin）靶向eEF1A，從而抑制經處理細胞中產生S1P。

7. 豬瘟病毒

【0154】 豬瘟（CSF）係目前世界範圍內最嚴重之豬跨境病毒性疾病之一。它對動物健康和生豬產業有巨大影響，因此須向世界動物衛生組織報告。豬瘟病毒（CSFV）係一種小型包膜病毒，屬於黃病毒科。它具有大約12.3kb之單鏈(+)RNA基因組，該單鏈(+)RNA基因組被翻譯為一個多聚蛋白。藉由病毒蛋白酶

和細胞蛋白酶對前體蛋白進行共翻譯和翻譯後加工產生13種成熟蛋白。豬細胞中病毒之推定受體係為CD46。豬瘟可以分為以下幾種形式之疾病：急性（短暫或致命）病程、慢性病程、以及持續性病程，通常需要於懷孕期間感染（34）。於感染後之頭兩周內，急性階段之特點係為非特異性（通常稱為“非典型”）臨床症狀，如高燒、厭食、胃腸道症狀、全身虛弱、以及結膜炎。感染後約兩周到四周會出現神經症狀，這些神經症狀包括失調、輕癱、癱瘓和抽搐。同時，皮膚出血或紫紺可能出現於身體之不同位置，諸如耳朵、四肢和腹側腹部。這些晚期症狀係教科書級病例，因此被稱為“典型”CSF症狀。於急性致死進展中，通常於CSFV感染後2周至4周死亡，且死亡率可以高達100%。當受感染之豬不能產生足夠之免疫應答時，就會發生慢性病程。一般而言，於受感染之動物中只觀察到非特異性臨床症狀，如長程發熱、抑鬱、消瘦、以及彌漫性皮炎。

【0155】 急性豬瘟之一個標誌係感染後早期血清中干擾素(IFN)-α水準較高，隨後出現炎性細胞因子風暴。激活之巨噬細胞好像於CSF之免疫發病機制中起關鍵作用。事實上，對於於CSFV感染過程中發生之許多病變，幾乎可以排除病毒之直接損害。

反轉錄病毒科

【0156】 反轉錄病毒科係正義單鏈RNA病毒族，其特徵在於它們表達反轉錄酶，該反轉錄酶係一種RNA依賴性DNA聚合酶，該RNA依賴性DNA聚合酶從它們的RNA基因組生成DNA，然後該DNA隨後整合到受感染之植物之宿主基因組中。反轉錄病毒科病毒包括引起AIDS之HIV-1和HIV-2以及HTLV(人類嗜T淋巴細胞病毒)。HIV感染尤其觸發表現為急性反轉錄病毒綜合征(ARS)且於一些個體或晚期感染病例中與細胞因子風暴綜合征一致之炎症綜合征之免疫應答。

小RNA病毒科

【0157】 小RNA病毒係小的非包膜之單鏈(+)RNA病毒。它們的小基因組

跨越8個千鹼基，含有開放閱讀框，該開放閱讀框被翻譯成單個多肽，該單個多肽隨後藉由病毒蛋白酶加工成11至12個單獨病毒蛋白。該族包括腸道病毒(EV)、肝病毒、肺病毒、鼻病毒、口蹄疫病毒、以及心臟病毒。作為幾種小RNA病毒感染(1型糖尿病、心肌炎或癱瘓)結果之嚴重致病疾病之主要特徵之一係與自身免疫密切相關。最簡單的解釋可能係，使用細胞病變感染劑感染導致細胞死亡或損傷，從而釋放於感染前以低濃度存在之隔離性自身抗原或細胞自身抗原，從而防止自身致敏。由於包括脊髓灰質炎病毒(PV)、柯薩奇病毒(CVB)和口蹄疫病毒於內之幾種小RNA病毒可能誘導持續性病毒感染，MDA5之慢性激活和IFN-I之上調可能產生一些研究者認為係小RNA病毒感染促進誘導自身免疫之主要因素之佐劑效應。

1. 口蹄疫病毒

【0158】 口蹄疫病毒（FMDV）係一種於全世界範圍內影響豬、牛和其他家畜和野生動物之急性水皰病之病原體。FMDV係一種來自小RNA病毒科(Picornaviridae)族之小型非包膜病毒，其具有長度約為8.5Kb之單鏈(+)RNA基因組，該單鏈(+)RNA基因組對單個多聚蛋白進行編碼，該單個多聚蛋白藉由病毒蛋白酶進行蛋白水解加工以生成14種病毒蛋白。

【0159】 病毒感染可以刺激多種途徑以誘導具有抗病毒功能、抗增殖功能和免疫調節功能之I型IFN和III型IFN。IFN-I促進樹突狀細胞(DC)之成熟，從而影響所誘導之適應性免疫應答之效力。一些病毒蛋白酶可以藉由切割參與這些途徑之受體、銜接子和調節劑來抑制I型IFN之產生和NF-κB信令。然後，藉由表達數百個IFN刺激基因，放大IFN應答並散播到周圍未受感染之細胞。MDA5參與識別小RNA病毒。1型IFN誘導雙鏈RNA依賴性蛋白激酶R(PKR)於抑制FMDV複製中之相關性已經於豬和牛細胞中得到充分證實。與未經處理之受感染之細胞相比較，使用PKR之抑制劑處理使病毒產量提高了幾倍，並且藉由RNA干擾進行

PKR下調亦會產生更高之病毒滴度，從而進一步證實了PKR於控制口蹄疫病毒複製時之直接作用。延伸因子EEF1A2與PKR結合並維持激酶保持不變。普立肽與EEF1A2結合，從而從具有延伸因子之複合物中釋放PKR並激活激酶（48）。這樣，普立肽可以增強對口蹄疫病毒之應答。

2. 腸道病毒A71

【0160】 手足口病（HFMD）係一種傳染性病毒性疾病，主要影響嬰幼兒。主要表現為發熱，手部、足部和臀部上有水皰性皮疹、以及口腔粘膜有潰瘍。通常，HFMD具有自限性，其中患者會出現發燒、手和腳底出現斑丘疹皮疹或丘疹水皰性皮疹、以及疼痛性口腔潰瘍，它們通常於不到十天內消退。然而，一小部分兒童可能會出現嚴重之併發症，這些併發症包括腦膜炎、腦炎、急性弛緩性麻痹和神經呼吸綜合征、甚至死亡。HFMD由兩種病原體引起：腸道病毒71（EV-A71）和柯薩奇病毒A16（CV-A16）。EV-A71係一種來自小RNA病毒科之小的二十面體之非包膜單鏈（+）RNA病毒。EV71之大約7.4kb基因組對單個多聚蛋白進行編碼，該單個多聚蛋白以蛋白水解方式切割為各種結構病毒蛋白和非結構病毒蛋白。

【0161】 致命EV-A71感染病程伴有廣泛之神經元變性、嚴重之中樞神經系統炎症和壞死、以及肺充血和出血。全身炎症應當與CNS炎症和細胞因子風暴結合可能於EV71相關暴發性肺水腫之發展中起重要作用。腦源性促炎性細胞因子可能於腦炎後遺症血腦屏障破壞後進入體循環，以全身激活炎性級聯，從而有助於腦炎後遺症全身炎症反應綜合征（SIRS）之發展，進而導致心肺衰竭和肺水腫。

3. 柯薩奇病毒

【0162】 柯薩奇病毒(CV)係一種與複數種嚴重之人類疾病相關聯之相對常見之腸道病毒，這些嚴重之人類疾病包括心肌炎和腦膜腦炎。柯薩奇病毒係來

自小RNA病毒科之小的二十面體之無包膜單鏈(+)RNA病毒，其中7至8個千鹼基之基因組共價連結到病毒蛋白VPg，該基因組充當RNA合成之引物。傳播係藉由糞-口途徑。柯薩奇病毒可以分為兩組：A和B。A組病毒優先感染皮膚和粘膜，從而引起諸如手足口病（HFMD）之類之疾病。柯薩奇病毒（CVB）組易感染內臟器官，從而引起胰腺炎、肝炎、心肌炎等。特別地，血清型B3病毒(CVB3)與人心肌炎之發展相關。

【0163】 CV係一種相對常見之兒科病毒，其通常引起範圍從亞臨床症狀到流感樣症狀以及輕度胃腸炎之輕度感染。CV已被證明會感染心臟、胰腺和CNS。於一些情況下，CV會導致嚴重之全身性炎性疾病，諸如腦膜腦炎、胰腺炎、以及心肌炎，所有這些疾病都係致命的或導致持久性器官功能障礙，該持久性器官功能障礙包括擴張型心肌病和腦脊髓炎，其中死亡率高達10%。

【0164】 於藉由宿主胃腸道吸收之後，CVB3感染並於派伊爾氏淋巴集結（Peyer's patches）和脾臟之淋巴細胞和巨噬細胞中複製。隨後，感染性病毒粒子被釋放到血液中，並且擴散到諸如心臟和胰腺之類之器官。病毒性心肌炎之發展一般分為三個不同之階段。前3天至前4天係'急性'期，其特徵在於病毒複製。病毒所產生之細胞裂解和TLR對PAMP之識別誘導包括IL-1b、IL-6、IL-18、TNF-α、以及I型和II型干擾素(IFN)於內之炎性細胞因子之表達。這些細胞因子由心臟駐留細胞產生，這些心臟駐留細胞包括肌細胞、成纖維細胞、內皮細胞、以及樹突狀細胞(DC)。這些細胞因子信號激活局部巨噬細胞，上調內皮粘附分子以及趨化因子和趨化因子受體以共同觸發天生性免疫細胞之募集。從第4天或第5天至大約第14天之亞急性階段開始係為先天性免疫系統之細胞對心臟之浸潤。單核細胞參與死細胞之吞噬作用並強烈增加促炎細胞因子之表達。於亞急性階段期間，免疫應答不僅消除了受感染之細胞和死亡之細胞，還顯著促進了不可逆心臟損害。病毒性心肌炎之第三階段於病毒完全消除後開始，並且特徵在於心臟修復

和使用纖維化疤痕代替死亡組織，從而長期影響心臟功能。

4. 鼻病毒

【0165】 人類鼻病毒（HRV）係為超過一半之感冒樣疾病之原因，每年於醫療訪問和缺勤天數上花費數十億美元。HRV經由接觸（直接或藉由染菌雜物）或氣溶膠（小顆粒或大顆粒）於人與人之間傳播。HRV屬於小RNA病毒科並且係為具有約7,200bp之基因組之單鏈(+)RNA病毒，該基因組涵蓋單個ORF，該單個ORF對藉由經病毒編碼之蛋白酶切割之多聚蛋白進行編碼以產生11種病毒蛋白。存在三個遺傳上不同之HRV組，它們被指定為群A、群B和群C。

【0166】 大多數HRV-A和HRV-B血清型（主受體群）經由ICAM-1（免疫球蛋白超族之成員）進入氣道上皮細胞。HRV很少與上呼吸道之細胞病變有關。除了對呼吸上皮細胞之直接作用外，先天性宿主應答和適應性宿主應答亦於HRV感染之發病機制中起作用。I型干擾素(IFN)應答由MDA-5和RIG-1介導。這些受體使I型IFN和II型IFN和促炎細胞因子(包括RANTES、IP-10、IL-6、IL-8和ENA-78)之誘導最大。HRV刺激IL-8產生部分由NF-κB依賴性轉錄激活途徑介導。IL-8水準與症狀嚴重程度(流涕和鼻塞)相關，並且於病毒接種後48小時至72小時達到峰值。

5. 甲型肝炎

【0167】 甲型肝炎病毒（HAV）每年造成約140萬例腸道傳播肝炎（WHO情況說明書N°328，甲型肝炎，2013年），儘管存在成功疫苗，但仍然係死亡之一個來源。與其餘小RNA病毒不同，HAV有一個包膜，該包膜使HAV非常穩定，不能關閉宿主蛋白質合成。細胞表面分子TIM-1充當HAV之受體。疾病嚴重程度取決於年齡，於幼兒中係輕微的或無症狀的，並且表現為急性肝炎（黃疸、疲勞、全身不適等），而於老年人中重型肝炎之發病率較高。重型肝炎影響50歲以上之人，其中死亡率高達5.4%。

【0168】 HAV係一種屬於小RNA病毒科之單鏈(+)RNA假包膜病毒。其基因組跨越7.5kb，含有單個開放閱讀框，該單個開放閱讀框對藉由病毒蛋白酶切割為10種病毒蛋白之多聚蛋白進行編碼。RNA基因組缺乏5'帽結構，但與VPg蛋白結合。

【0169】 感染HAV病程伴有初期症狀，如發燒或黃疸，於約70%之病例中，約三分之一之患者無症狀。HAV感染沒有慢性攜帶狀態，不會導致慢性肝炎或肝硬化。諸如HAV之類之小RNA病毒之細胞質RNA由MDA5感測，但與HCV相比之下，HAV於受感染之肝臟中最低限度地刺激IFN應答。HAV 3C蛋白酶切割NF-κB必需調節劑(NEMO)，從而減弱MAVS和TLR3兩者下游之核因子-κB(NF-κB)激活。肝損傷不係由甲肝病毒直接引起，而係由免疫介導機制引起。來自AHA患者之Treg細胞經歷質變，從而產生TNF-α。而且，來自AHA患者之產生TNF-α之Treg細胞於其表型方面表現出Th17樣特徵，並且具有減弱之抑制功能。炎性Treg細胞與AHA中之免疫病理肝損傷相關聯。

披膜病毒科

【0170】 披膜病毒科僅含有1個屬，即，甲病毒科（Alphaviridae），計有31種。甲病毒係具有約11至12個千鹼基之單鏈(+)RNA基因組之小包膜二十面體病毒。該戴帽的RNA基因組被分為對非結構蛋白進行編碼之非結構域(基因組之5'-末端三分之二)和對病毒之三個結構蛋白進行編碼之結構域(基因組之3'-末端三分之一)。非結構蛋白從基因組RNA本身翻譯為一個或兩個多聚蛋白。這些多聚蛋白被切割以產生nsp1、nsP2、NSP3、以及NSP4，以及具有不同於最終產物之重要功能之複數個切割中間體。結構域被翻譯為來自戴帽的亞基因組mRNA（26S mRNA）之多聚蛋白。

【0171】 於許多地區，甲病毒嚴重或潛在威脅人類健康。於北美和南美，東部馬腦炎病毒（EEEV）和西部馬腦炎病毒（WEEV）經常於人類中造成致命

腦炎，儘管病例數目很少。委內瑞拉馬腦炎病毒（VEEV）亦會造成人類疾病。基孔肯雅病毒（CHIKV）及其近親O'Nyong-Nyong病毒（ONNV）已經造成數百萬例嚴重但並非致命之疾病，其特點係為發燒、皮疹、以及疼痛性關節痛。羅斯河病毒（RRV）、牛泡沫病毒（BFV）和辛德畢斯（Sindbis）病毒（SINV）於人類中造成流行性多關節炎，其中症狀會持續多年。塞姆利基森林病毒（SFV）所造成之疾病之特點係為特別嚴重之頭痛、發燒、肌痛、以及關節痛。

1. 基孔肯雅病毒

【0172】 基孔肯雅病毒（CHIKV）係一種蚊蟲傳播之疾病（基孔肯雅熱）之病原體，該基孔肯雅熱係一種使人衰弱之關節炎疾病，這種疾病於包括新生兒於內之人類中造成不可估量之發病率和一些死亡率。CHIKV具有約12個千鹼基之單鏈(+)RNA基因組。該基因組以兩個開放閱讀框組織：5'ORF，其由基因組RNA翻譯並且對四種非結構蛋白進行編碼；以及3'ORF，其由亞基因組26S RNA翻譯並且對被切割成5種結構蛋白之多聚蛋白進行編碼。

【0173】 基孔肯雅熱（CF）之潛伏期不到10天。無症狀患者少於30%，少於其他甲病毒疾病患者。有症狀之患者會突然出現高燒、多關節痛、頭痛和疲勞。多關節疼痛係最具特徵性之症狀，尤其係周圍關節疼痛。肌痛亦很常見。一半之患者會出現包括黃斑皮疹於內之皮膚表現。於基孔肯雅熱之急性階段期間，已經報導了多種其他臨床症狀，諸如結膜炎、神經視網膜炎、虹膜睫狀體炎、心肌炎、心包炎、肺炎、乾咳、淋巴結病、腎炎、肝炎和胰腺炎。據報導，死亡原因係為心力衰竭、多器官衰竭綜合征、中毒性肝炎、腦炎、大皰性皮膚病、呼吸衰竭、腎功能衰竭、肺炎、急性心肌梗死、腦血管病、甲狀腺機能減退或敗血症。

【0174】 CHIKV RNA基因組可能觸發宿主模式識別受體（PRR），其包括內體Toll樣受體（TLR3和TLR7）和細胞質RIG-I樣受體（RIG-I和MDA5），這些受體激活下游銜接子分子（TRIF、MyD88和MAVS）以誘導干擾素調節（IRF1、

IRF3、IRF5和IRF7）和NF-κB轉錄因子之核轉位，這些轉錄因子誘導I型IFN、IFN刺激基因（ISG）、促炎性細胞因子和趨化因子之表達。炎性細胞因子和趨化因子被認為參與了CHIKV之發病機制，並且與嚴重之臨床表現以及突發性和持續性關節痛之發展相關聯。據報導，與非重症CF病例相比較，重症CF病例之IL-1β和IL-6水準顯著增加。於義大利發生之一起致命病例中，對炎性細胞因子之分析顯示：循環I型IFN以及IL-6促炎性細胞因子之顯著和強烈增加，該IL-6促炎性細胞因子與I型IFN於CHIKV驅動之細胞因子風暴中之可能作用一致，該CHIKV驅動之細胞因子風暴繼而可能帶來組織損傷和死亡之增強。

2. 辛德畢斯病毒

【0175】 辛德畢斯病毒(SinV)係所有已知節肢動物傳播之病毒中分佈最廣泛之病毒。Pogosta、Ockelbo和Karellian發熱病毒屬於辛德畢斯組。以關節炎、皮疹、有時發熱為特徵之Ockelbo疾病於瑞典中部之Ockelbo村首次被發現。後來，同樣之疾病於芬蘭被描述係為Pogosta疾病。於俄羅斯，這種疾病被稱為Karelian發熱。除了人類以外之其他脊椎動物中沒有任何SinV誘導疾病之證據。一般而言，潛伏期從2天到10天不等，症狀性疾病突然開始，疾病持續時間短，不到20天。然而，相當比例之SinV感染可能會隨著慢性病而惡化。與其他甲病毒一樣，兒童經常受到感染，但只發展為亞臨床疾病。主要症狀係為發熱、肌肉疼痛、頭痛、喉嚨痛、斑丘皮疹和關節痛。於人類巨噬細胞中，感染促進激活，導致巨噬細胞遷移抑制因子（MIF）從細胞內儲池中釋放出來並且誘導TNF-α、IL-1β和IL-6之分泌。於小鼠中，SinV複製導致血清中TNF-α、IFN-γ、IFN-α/β、IL-6和皮質酮之高水準誘導，這係全身炎症反應綜合征(SIRS，細胞因子風暴)之兩個原因（76）。因此，SIRS與強毒性辛德畢斯病毒所誘導之疾病有很強之間接關係。

3. 塞姆利基森林病毒

【0176】 塞姆利基森林病毒（SFV）係一種披膜病毒科之甲病毒屬之單鏈

（+）RNA病毒。SFV之基因組長度係為13個千鹼基，於兩個開放閱讀框(ORF)中僅對9個蛋白質進行編碼。四種非結構蛋白於第一ORF中被編碼為多聚蛋白，位於基因組之5'區，並且直接從基因組DNA翻譯。其餘5個結構蛋白於第二ORF中被編碼為多聚蛋白，該多聚蛋白由稱為26S之亞基因組RNA種翻譯並位於基因組之3'區。然後，多聚蛋白藉由病毒蛋白酶切為單獨蛋白質。

【0177】 SFV之原始L10分離株於近交係小鼠中顯示完全毒力，其藉由中樞神經系統(CNS)之感染引起致死性腦炎。強毒株與非致命毒株之間之關鍵區別可能係CNS中神經元損害之迅速誘導，從而於免疫系統能夠干預之前導致受感染之小鼠死亡。藉由非致死性SFV株之感染誘導小鼠腦炎性海綿狀病變。這些病變於使用免疫抑制藥物環磷醯胺治療之小鼠中延遲(Berger ML，1980)。因此，直接病毒細胞溶解於病理學之產生中並非必不可少。儘管缺乏功能性T細胞但裸鼠患有相同之炎性海綿狀病變之事實表明，免疫病理並不取決於它們。取而代之的是，病變似乎由於來自單核細胞-巨噬細胞譜係之單核細胞之存在，這些細胞可以被募集到受感染之組織中並產生海綿狀壞死。

4. 東部馬腦炎病毒/西部馬腦炎病毒/委內瑞拉馬腦炎病毒

【0178】 甲病毒屬（披膜病毒科）中之三種病毒（東部馬腦炎病毒/西部馬腦炎病毒/委內瑞拉馬腦炎病毒（分別為EEEV、WEEV和VEEV））可能造成馬和人類腦炎之嚴重暴發。EEEV於1938年於影響麻塞諸塞州之一次嚴重暴發期間首次於人類中被發現。大多數成人EEEV感染無症狀或產生輕微疾病，其特點係為發燒、發冷、頭痛、噁心、嘔吐和肌痛。有症狀患者之死亡率接近80%，許多倖存者表現出嚴重之後遺症，如智力低下、抽搐和癱瘓。WEEV之致死率介於3%與7%之間，其中15%至50%之腦炎倖存者（尤其係幼兒）遭受永久性神經損害。VEEV相關腦炎於哥倫比亞和委內瑞拉之暴發中造成嚴重之發病率和死亡率，其中75000多人員受到影響，3000多位患者患有神經系統疾病，300多人員死亡。

【0179】 作為其餘甲病毒，EEEV、WEEV和VEEV係為具有約11.7個千鹼基之短之戴帽的基因組之單鏈(+)RNA病毒。基因組具有兩個ORF，即，5'ORF，其對四種非結構蛋白進行編碼，這四種非結構蛋白被翻譯為來自基因組RNA之單個多肽；以及3'ORF，其被翻譯為來自亞基因組26S RNA之單個多肽，該單個多肽含有三種結構蛋白。多肽藉由病毒蛋白酶切為單獨蛋白質。

【0180】 於實驗感染之實驗室小鼠中，EEEV產生類似於人類和馬感染後之神經系統疾病。於感染後第1天(PI)，於腦中檢測到病毒，於PI之第3天至第4天疾病具有明顯症狀。鼠類疾病之臨床症狀包括毛髮捲曲、厭食、嘔吐、嗜睡、後肢癱瘓、抽搐和昏迷。受感染之小鼠之病理改變包括神經元變性、細胞浸潤和血管周圍套，類似於自然感染之人類所出現之CNS病理改變。VEEV感染淋巴組織中之樹突狀細胞（DC）和巨噬細胞，從而促進血清病毒血症和促進神經侵襲。相比之下，EEEV於淋巴組織中複製較差。

5. 風疹病毒

【0181】 兒童和成人之風疹病毒（RV）感染通常係無症狀的（高達50%之病例），或以輕度發燒、喉嚨痛、淋巴結病和斑丘疹（maculopapular rush）為特徵。然而，當感染孕婦時，RV會導致出生缺陷和胎兒死亡。由於每年有超過10萬例先天性風疹綜合征（CRS）發生，RV係一個主要之公共衛生問題。風疹病毒（RV）係披膜病毒科（Togaviridae）中風疹病毒屬之唯一成員，具有約10千鹼基之單鏈（+）RNA基因組，編碼5種蛋白質。基因組含有兩個ORF，5′ORF編碼兩個直接從基因組RNA翻譯之非結構蛋白，第二個3′ORF編碼三個從亞基因組mRNA翻譯之結構蛋白。

【0182】 於胎兒器官發育之關鍵階段（於懷孕之早期妊娠階段），RV感染可導致CRS，一種以感覺器官（眼睛和耳朵）、中樞神經系統和心血管系統嚴重缺陷為特徵之綜合征。於CRS中，風疹病毒能夠感染胎盤，傳播到胎兒，並藉由

干擾器官形成和引起全身性炎症改變複數胎兒系統之功能。風疹病毒相關性葡萄膜炎（RVU）係由RV引起之炎症綜合征之一。該炎症性過程之特徵在於高眼內水準之炎性細胞因子，包括IL-6、IL-6Ra和MCP-1。

杯狀病毒科（Caliciviridae Family）

【0183】 杯狀病毒科由11個屬組成,其中感染哺乳類之有7個屬，兔病毒屬（Lagovirus）、諾如病毒屬（Norovirus）、紐布病毒屬（Nebovirus）、Recovirus、札幌病毒屬（Sapovirus）、Valovirus和水泡疹病毒屬（Vesivirus）,感染鳥類之有2個屬(Bavovirus和Nacovirus),感染魚類之有2個屬(Minovirus和Salovirus)。杯狀病毒引起物種特異性感染，大多數諾如病毒、札幌病毒和紐布病毒僅限於胃腸道，而lagoviruses、saloviruses和vesiviruses可於其天然宿主中引起嚴重之全身性感染。該科包括具有約7-8千鹼基之單鏈(+)RNA基因組之非包膜病毒，分組係為兩個、三個或四個ORF。杯狀病毒於VPg蛋白存在時與小RNA病毒相似，VPg蛋白附著於其基因組之5’末端和幾種依次之蛋白中。

1. 諾沃克病毒(Norwalk virus)

【0184】 諾如病毒(Norovirus，NoV)係杯狀病毒科屬，其由單一種類——諾沃克病毒(Norwalk virus)組成。人類諾如病毒係全球流行和散發性急性胃腸炎之主要病因，可持續性感染免疫功能低下之患者。諾如感染會產生典型之胃腸炎症狀，包括腹瀉、嘔吐和胃痛，亦可能引起發燒、頭痛和身體疼痛。諾如病毒係具有約7.5千鹼基之單鏈(+)RNA基因組之非包膜病毒。基因組被編組成三到四個ORF。5’ORF1編碼一個大多聚蛋白，其被病毒蛋白酶剪切成6個非結構蛋白。ORF2編碼單結構衣殼蛋白。ORF3編碼一個次要結構蛋白。亞基因組RNA編碼另外兩個結構蛋白。最後，鼠諾如病毒中之ORF4(其與ORF2重疊)編碼另外的蛋白質，致病因子1。NoV基因組和亞基因組RNA之5′端與病毒編碼之小蛋白VPg以共價鍵連接，3′端被多聚腺苷酸化。

【0185】 近年來已積累了令人信服之證據，證明NOV之主要靶標係抗原呈遞細胞(APC)。MuNoVs於體外於主樹突狀細胞和巨噬細胞以及大量類巨噬細胞係中有效複製。NoV感染腸道免疫細胞之能力無疑對NoV發病機制和宿主對NoV感染之免疫應答具有顯著影響。與NoV症狀持續時間短一致，固有免疫--尤其係I型IFN--對控制急性NoV感染至關重要。

冠狀病毒科

【0186】 冠狀病毒係可以感染動物和人類宿主之病原體，主要引起輕度到嚴重之腸道或呼吸道疾病，於某些情況下可能危及生命，如MERS-CoV、SARS-CoV或新的SARS-CoV-2，後者導致最近起源於中國湖北省武漢之新型冠狀病毒肺炎疾病。SARS-CoV-2和與其密切相關之SARS-CoV均屬於冠狀病毒科四個屬之一之β屬冠狀病毒(MERS-CoV亦屬於該屬)內之Sarbecoviridae亞屬。冠狀病毒係包膜之單鏈(+)RNA病毒，其基因組大小約為26-32千鹼基，係已知最大之RNA病毒基因組。它們於1964年被June Almeida首次發現。它們的名字來自於它們的電子顯微鏡圖像與日冕之相似性。它們的基因組編碼14個開放閱讀框，即複製酶ORF 1a和1b（編碼15或16個成熟非結構蛋白，亦稱為複製酶蛋白）、四種常見之CoV結構蛋白基因（S、E、M和N）以及編碼所謂輔助蛋白之ORF。複製酶蛋白似乎具有多種功能，對於病毒RNA之合成或產生係必不可少的，而且對於穩定病毒-宿主相互作用以促進病毒進入、基因表達、RNA合成或病毒釋放亦係必不可少的。CoV N蛋白係350至450個氨基酸之結構蛋白，於絲氨酸殘基中廣泛磷酸化，高鹼性，其主要功能係與病毒RNA結合形成長螺旋核糖蛋白。N蛋白亦參與病毒RNA轉錄、翻譯和病毒釋放。SARS-CoV之N蛋白與其SARS-CoV-2蛋白具有高度同源性。

【0187】 MERS-CoV、SARS-CoV和SARS-CoV-2可引起急性呼吸窘迫綜合征(ARDS)，ARDS係該疾病最急性和最致命之階段，其特徵係對病毒感染之異

常免疫應答導致肺部大面積炎症。

1. SARS-CoV-1

【0188】 由SARS-CoV引起之嚴重急性呼吸綜合征（SARS），於2002年出現於中國廣東省，於全球範圍內影響了8096人，造成774人死亡（10%死亡率）。SARS-CoV之基因組包含29.7千鹼基，包含11個ORF，其編碼23個蛋白質。

【0189】 SARS最常見之症狀係高燒、肌痛、乾咳和淋巴細胞減少。大約30%之患者亦發展為非典型肺炎，伴有由急性肺損傷引起之急性呼吸窘迫。高齡、男性、高峰乳酸脫氫酶水準、高峰肌酸激酶水準和高初始嗜中性粒細胞絕對計數係重症監護病房入住和死亡之重要預測因素。肺中過度之炎症反應表明了急性肺損傷之進展，此外，患者於病毒載量下降時仍表現出肺損傷。

【0190】 急性病毒感染可藉由直接細胞病變或間接免疫病理損傷對宿主細胞產生損傷。於早期階段，細胞病變伴隨著病毒擴增，此時用抗病毒藥物治療可能特別有效。於後期，當適應性免疫應答增強時，病毒清除可伴隨嚴重之炎性損傷。IFN-γ相關之細胞因子風暴可能發生於SARS冠狀病毒感染之後期，這種細胞因子風暴可能參與了SARS患者之免疫病理損害。

2. MERS-CoV

【0191】 中東呼吸綜合征（MERS）係由MERS-CoV引起的，於2012年出現於沙烏地阿拉伯，影響2506人，於全球造成862人死亡，死亡率係為35%。MERS-CoV之基因組長度係為30.1千鹼基，包括10個ORF，其編碼16個非結構蛋白和5個結構蛋白。

【0192】 MERS最常見之症狀係發燒、咳嗽、發冷、喉嚨痛、肌痛和關節痛，隨後出現呼吸困難並於第一周內迅速發展為肺炎，通常需要通氣和其他器官支援。感染MERS-CoV後，年輕人經歷輕度-中度臨床疾病，而老年人或患有糖尿病、肥胖症、心力衰竭和腎衰竭等共病之人經歷嚴重疾病。於其最嚴重之形式，

MERS導致急性高度致命之肺炎。與輕度至中度疾病相比，重度MERS患者血清促炎細胞因子（IL-6和IFN-α）和趨化因子（IL-8、CXCL-10和CCL5）水準升高。MERS患者之高血清細胞因子和趨化因子水準與肺和外周血中嗜中性粒細胞和單核細胞數量增加相關，這些細胞係與致死MERS患者之致命急性呼吸窘迫綜合征相關之細胞因子和趨化因子之主要來源。

3. SARS-CoV-2

【0193】 由SARS-CoV-2引起之新型冠狀病毒肺炎於2019年12月於中國武漢開始，迅速於全球蔓延，並發展成為全球大流行病。雖然似乎比SARS和MERS疾病之死亡率要小，但其死亡率仍未確定。SARS-CoV-2基因組編碼14個開放閱讀框，包括複製酶ORF 1a和1b（其編碼15或16個成熟非結構蛋白，亦稱為複製酶蛋白）、四種常見之CoV結構蛋白基因（S、E、M和N）以及編碼所謂輔助蛋白之ORF。複製酶蛋白似乎具有多種功能，對於病毒RNA之合成或產生係必需的，但對於病毒生命週期之其他步驟亦係必需的。N蛋白係廣泛磷酸化的、高鹼性的結構蛋白，其主要功能係與病毒RNA結合形成長螺旋核糖蛋白。N蛋白還參與病毒RNA轉錄、翻譯和病毒釋放。SARS-CoV與SARS-CoV-2之N蛋白具有高度同源性。一些細胞蛋白與病毒蛋白協作以支援病毒增殖，其中eEF1A與N蛋白相互作用以支援病毒複製和傳播。

【0194】 感染早期常見之輕微症狀係發燒、乾咳、肌痛和疲乏。少數頭痛、咯血和腹瀉。於疾病向嚴重階段之轉變過程中，出現呼吸困難和缺氧等症狀。最後，該病之嚴重形式表現為急性呼吸窘迫綜合征（ARDS），伴有嚴重之肺部炎症和損傷。疾病嚴重階段之併發症與病毒誘導之過度炎症有關，類似於以前於SARS-CoV和MERS-CoV感染中看到的情況。

【0195】 於SARS-CoV-2中，巨噬細胞向Th17細胞呈遞CoV抗原，導致促炎細胞因子，如IL-1、IL-6、IL-8、IL-21、TNF-b和MCP-1大量釋放。這係免疫擴

增之原因，亦係呼吸肺泡、細支氣管和肺間質壁組織損傷之部分原因。此外，炎症介質表達之增加對NK細胞和CD8細胞具有下調之調節作用，這對於清除病毒亦係重要的(Kaul)。D(2020年))。因此，於SARS-CoV-2感染中，高細胞因子血症已成為導致更嚴重臨床結果之主要因素。

【0196】 關於SARS-CoV-2，本發明可以治療SARS-CoV-2感染。治療可以係治療COVID-19感染。治療可以係治療COVID-19。治療可以係治療由CoV感染引起之疾病。治療可以係治療由SARS-CoV-2感染引起之疾病。治療可以係治療由CoV感染引起之肺炎。治療可以係治療由SARS-CoV-2感染引起之肺炎。治療可以係治療由COVID-19感染引起之肺炎。治療可以係治療由COVID-19引起之肺炎。治療可以係治療由SARS-CoV-2感染引起之急性呼吸窘迫綜合征（ARDS）。

【0197】 感染可以係中度感染。感染可以係嚴重感染。感染可以係輕微之感染。

【0198】 治療可以減少與CoV感染相關之併發症，包括住院、ICU和死亡。

【0199】 本發明可用於治療急性COVID-19感染（高達4周之COVID-19之體征和症狀），治療（或最小化）正在出現症狀之COVID-19（從4周到12周之COVID-19之體征和症狀），或治療或最小化後COVID-19綜合征（post-COVID-19 syndrome）（於感染期間或之後出現之與COVID-19一致之症狀和體征，持續超過12周，並且不能藉由其他診斷來解釋。它通常表現為一系列症狀，通常重疊，這些症狀會隨著時間之推移而波動和變化，並可能影響身體之任何系統。後COVID-19綜合征可於12周前考慮，同時亦於評估其他潛於疾病之可能性）。本發明之化合物可以治療具有COVID-19症狀和體征長達4周之患者。本發明之化合物可治療具有COVID-19症狀和體征4周至12周之患者。本發明之化合物可以治療具有COVID-19症狀和體征超過12周之患者。

【0200】 治療可以係預防、減少或治療持續性COVID（COVID persistent）

（亦稱為長COVID或後COVID綜合征）。根據本發明之化合物可使患者遭受持續性COVID症狀之可能性最小化。或者，本發明之化合物可以降低這些症狀之嚴重性，較佳為可以使CoV感染之症狀最小化。

【0201】 後COVID綜合征可被認為係於感染期間或之後出現之與COVID-19一致之持續12周以上之症狀和體征，其不能藉由其他診斷來解釋。這種病症通常會出現一系列症狀，通常係重疊的，這些症狀可能會隨著時間之推移而改變，並可能影響體內之任何系統。許多患有後COVID綜合征之人亦會經歷全身疼痛、疲勞、持續之高溫和精神問題。症狀包括（但不限於）心血管、呼吸系統、胃腸道、神經系統、肌肉骨骼、代謝、腎臟、皮膚病、耳鼻喉科、血液學和自主神經系統出現之症狀，此外還有精神疾病、全身疼痛、疲勞和持續發燒。

【0202】 治療可以係降低CoV患者之傳染性。本發明實現了病毒負荷（viral burden）之快速且顯著之減少。減少病毒負荷可以降低患者之傳染性。這對於無症狀或症狀不明顯但具有高病毒載量之患者（例如，Tc<25）特別有益。這樣的患者可能係超級感染者或超級傳播者。於檢測到感染時給藥根據本發明之化合物可減少病毒負荷並因此減少患者之感染性。

【0203】 該治療可導致病毒載量的減少。這可以表現為於給藥後第6天，複製週期閾值（Ct）大於30（Ct>30）。該治療可從基線開始減少病毒載量。這可以表現為給藥後需要住院治療之患者百分比降低。這可以表現為於給藥後需要有創機械通氣和/或進入ICU之患者百分比降低。這可以表現為出現與持續性疾病有關之後遺症之患者減少。這可以表現為被選擇為不良預後標準之分析參數（包括例如淋巴細胞減少、LDH、D-二聚體或PCR）正常化患者百分比增加。這可以表現為臨床標準正常化（包括例如：頭痛、發燒、咳嗽、疲勞、呼吸困難（氣短）、關節肌痛或腹瀉之症狀消失）患者百分比增加。

白蛉病毒

【0204】 白蛉病毒（Phlebovirus）係來自布尼亞病毒科（bunyavirus）之負鏈或雙義（ambisense）單鏈包膜RNA病毒，其基因組範圍約為11-12kb。白蛉病毒可大致分為兩組，白蛉熱病毒組（SFV）和類烏庫尼米（Uukuniemi-like）病毒（ULV）組。SFV由雙翅目昆蟲傳播，包括白蛉蟲（phlebotomines）和蚊子，於地中海和其他地區流行。SFV感染之症狀包括發燒、頭痛、肌肉和關節疼痛、疲乏和腹痛。患者通常於7-14天內康復。於某些情況下，中樞神經系統感染可導致腦炎和腦膜炎。ULV組由蜱傳播，但它們於人類中係非致病性的。

【0205】 研究最係為充分的是裂谷熱（RVF）病毒，它主要感染家養動物，但亦可能導致人類中度至重度感染。人類由於受感染之動物或蚊子於撒哈拉以南非洲和阿拉伯爆發過裂谷熱。症狀通常係輕微的，類似流感，可能包括雙相發燒。一小部分病人會出現嚴重之併發症，如出血熱、腦炎或視網膜炎。神經疾病係延遲發作之、通常致命之併發症，其可於初始疾病後5-30天發生。於2000年沙特爆發期間，中樞神經系統併發症患者之死亡率係為50%。

【0206】 病毒蛋白與宿主免疫反應之相互作用可能於致病性中起作用，並可能解釋為什麼RVF之臨床表現於個體之間有所不同。2010/2011年南非爆發期間，致命病例中趨化因子、促炎細胞因子和抗炎細胞因子顯著增加（IL-8、CXCL9、MCP-1、IP-10、IL-10）或減少（RANTES）。於三名烏干達嚴重出血性感染患者中，IL-8、IL-10、IP-10、MCP-2、MCP-3、趨化因子（Fractalkine）和GRO-α水準升高，且MCP-2和IP-10水準與病毒載量相關。三名烏干達患者之高水準之促炎標誌物隨著患者康復而正常化。此外，包括IL-6於內之先天性免疫途徑中之遺傳多態性可能與RVFV症狀之不同嚴重程度有關。宿主炎症反應可能影響人類RVFV感染之結果，而失控之炎症反應可能導致致命結果。

沙粒病毒（Arenaviruses）

【0207】 沙粒病毒(AV)係包膜的、多形性之單鏈RNA病毒科，其基因組大

小約為11kb，跨越小片段和大片段，每個片段以雙義方式編碼兩種蛋白質。暴露於齧齒類動物會發生到人類之傳染。一些沙粒病毒可導致人類輕度至重度疾病，包括出血性疾病。經過6-21天之長期潛伏期後，AV感染通常最初發燒、全身虛弱和不適，隨後頭痛、喉嚨痛、噁心、嘔吐、腹瀉和腹痛。於更嚴重之情況下，症狀可能包括出血、休克、癲癇、昏迷甚至死亡。

【0208】 AVS可分為兩個血清群，“舊世界”和“新世界”。“舊世界”病毒包括拉沙熱和淋巴細胞性脈絡叢腦膜炎病毒。拉沙熱係西非地區之地方病，每年造成大約5000人死亡。拉沙熱引起全身性疾病，但大多數感染者係無症狀的。由病毒性出血熱引起之重症發生於20%之患者中。總死亡率約為1%。住院患者之死亡率係為15%-25%。人類之致命病例之特徵係肝、脾和腎上腺壞死。

【0209】 “新世界”病毒包括皮欽德病毒（Pichinde virus）和阿根廷、玻利維亞和委內瑞拉出血熱。皮欽德病毒對人類係非致病性的。南美出血熱有6-14天之前驅期。8-12天后，約20-30%之患者進展到神經學和出血期。症狀包括精神錯亂、抽搐、昏迷和身體諸竅出血。流行地區之病死率可能係為10-30%。

【0210】 沙粒病毒最初靶向人之巨噬細胞和樹突狀細胞，它們產生高水準之干擾素和細胞因子。這些抗原呈遞細胞之感染可能係病毒傳播、建立全身性感染並允許顯著病毒產生和釋放之原因。拉沙病毒感染抑制I型干擾素反應，這對於控制感染係關鍵的，導致不受控制之病毒生產。相比之下，感染“新世界”沙拉病毒之嚴重和致命病例中與高水準之干擾素和細胞因子有關。事實上，感染胡寧病毒（Junin virus）（阿根廷出血熱之病原體）之患者可進展成細胞因子風暴，並表現出TNF-α、IFN-α、IL-6和IL-10水準之升高。重症和死亡病例患者持續呈現高水準之TNF-α和IFN-α。

皰疹病毒（Herpesviruses）

【0211】 皰疹病毒(HSV)係具有複雜基因組之大的、包膜的、雙鏈DNA病

毒。HSV基因組大小範圍係為125-240kbp，編碼數十種病毒基因。HSV之傳播係藉由與受感染人之間之皮膚或口腔接觸，主要途徑係性傳播。皰疹之症狀包括感染部位疼痛之水皰或潰瘍，但大多數感染者係無症狀的。因此，HSV於人類和動物中非常流行，估計世界上90%之人口感染單純皰疹病毒1型(HSV-1)和單純皰疹病毒2型(HSV-2)中之一種或兩種。HSV-1與口面部感染有關，而HSV-2可引起生殖器感染。嬰兒亦可能於分娩期間感染HSV-2，導致嚴重之中樞神經系統疾病或播散性感染。

【0212】 HSV感染係不可治癒的，因為它們能夠於宿主細胞中建立潛伏感染。於原發感染部位侵入後，HSV可於神經元細胞中建立潛伏。例如，HSV-1可以於三叉神經節潛伏，而HSV-2可以於骶神經節潛伏。於潛伏期間，病毒基因組可能合併到宿主細胞DNA中，或者它可能保留於染色體外。潛伏相關之RNA轉錄物被表達，其控制宿主細胞基因組並抑制宿主細胞死亡機制，保存宿主細胞之病毒感染並允許隨後非潛伏時期之復發。非潛伏期通常係有症狀的，並允許病毒感染新的宿主。

【0213】 於某些情況下，HSV感染可導致腦炎。HSV腦炎從類似流感之症狀開始，發展為神經系統退化，如果不治療，可能致命。此外，於具有嚴重播散性感染之新生兒中，對病毒HSV感染之全身性炎症反應可導致器官損傷和功能障礙，其可導致死亡。

正粘病毒科（Orthomyxoviridae）

【0214】 正粘病毒科(Orthomyxoviridae)係負義（negative-sense）RNA病毒科，包停含人和動物之重要病原體。該科共有7個屬，包括A型流感病毒、B型流感病毒、C型流感病毒、托高土病毒屬（Thogotovirus）、誇蘭紮病毒屬（Quaranjavirus）和傳染性鮭魚貧血病毒屬（Isavirus）。

1. 流感病毒

【0215】 流感病毒分為四類：A、B、C和D，特別係A型和B型流感病毒引起冬季流感流行，每年造成約30萬至65萬人死亡。A型流感病毒具有特別之臨床重要性，因為它們係許多流感大流行之原因，許多國家都受到大規模疫情之影響。A型流感病毒係有負義之單鏈分段RNA病毒，根據病毒表面之兩種蛋白質分為亞型：血凝素（H）和神經氨酸酶（N）。有18種不同之血凝素亞型和11種不同之神經氨酸酶亞型（分別為H1到H18和N1到N11），因此於任何特定時間可能有許多亞型之流感病毒於人群中傳播，從而導致被稱為流感之疾病。

【0216】 流感之特徵係症狀包括高燒、流鼻涕、喉嚨痛、肌肉和關節疼痛、頭痛、咳嗽和疲乏之輕微到嚴重之疾病，不過感染病毒之兒童亦會出現嘔吐和腹瀉。這些症狀通常於接觸後1至4天出現，通常係自限性的，但於某些情況下，特別係於免疫系統較弱之情況下，可能會發生肺炎和敗血症等併發症。

【0217】 嚴重流感感染與肺組織中之顯著病理變化相關，其與高水準之炎性細胞因子和趨化因子相關。這種強烈之免疫反應，被稱為細胞因子風暴，與高水準之促炎細胞因子和大面積之組織損傷有關。事實上，“細胞因子風暴”一詞係於描述流感相關腦病之免疫反應時首次創造的。人們認為，呼吸道上皮細胞之流感感染導致這些細胞產生炎性細胞因子之浪潮，驅動各種干擾素調節基因，這些基因藉由激活天然免疫細胞，如巨噬細胞、中性粒細胞和樹突狀細胞，繼續導致下游細胞因子之進一步產生，於嚴重情況下，這可導致組織損傷和慢性炎症。正係這種炎症之正回饋循環導致與流感感染相關之併發症，並最終導致受影響最嚴重之患者死亡。

【0218】 於本發明之化合物中，基團可根據以下指南進行選擇：

烷基可以係支化的或未支化的，並且較佳為具有1至約12個碳原子。一類更佳之烷基具有1至約6個碳原子。甚至更佳為具有1、2、3或4個碳原子之烷基。甲基、乙基、正丙基、異丙基和丁基（包括正丁基、叔丁基、仲丁基和異丁基）係

本發明化合物中特別較佳之烷基。除非另有說明，本文所用之術語烷基係指環狀和非環狀基團，儘管環狀基團將包括至少三個碳環成員。

【0219】 本發明化合物中較佳之烯基和炔基可以係支化的或未支化的，具有一個或複數不飽和鍵和2至約12個碳原子。更佳之一類烯基和炔基具有2至約6個碳原子。甚至更佳為具有2、3或4個碳原子之烯基和炔基。除非另有說明，本文所用之術語烯基和炔基係指環狀和非環狀基團，儘管環狀基團將包括至少三個碳環成員。

【0220】 本發明化合物中合適之芳基包括單環和多環化合物，包括含有分開的和/或稠合的芳基的多環化合物。典型之芳基含有1至3個分開的或稠合的環和6至約18個碳環原子。較佳為芳基含有6至約10個碳環原子。特別較佳之芳基包括經取代或未經取代之苯基、經取代或未經取代之萘基、經取代或未經取代之聯苯基、經取代或未經取代之菲基、以及經取代或未經取代之蒽基。

【0221】 合適之雜環基包括含有1至3個分開的和/或稠合的環和5至約18個環原子之雜芳族和雜脂環基團。較佳為雜芳族和雜脂環族基團含有5至約10個環原子，最佳為5、6或7個環原子。本發明化合物中合適之雜芳族基團包含一個、兩個或三個選自N、O或S原子之雜芳族原子，包括例如香豆素基（包括8-香豆素基）、喹啉基（包括8-喹啉基）、異喹啉基、吡啶基、吡嗪基、吡唑基（包括吡唑-3基、吡唑-4基和吡唑-5基）、嘧啶基、呋喃基（包括呋喃-2-基、呋喃-3-基、呋喃-4-基和呋喃-5-基）、吡咯基、噻吩基、噻唑基（包括噻唑-2-基、噻唑-4-基和噻唑-5-基）、異噻唑基、噻二唑基（包括噻二唑-4-基和噻二唑-5-基）、三唑基、四唑基、異惡唑基（包括異惡唑-3-基、異惡唑-4-基和異惡唑-5-基）、惡唑基、咪唑基、吲哚基、異吲哚基、吲唑基、吲哚嗪基、酞嗪基、蝶啶基、嘌呤基、惡二唑基、噻二唑基、呋咱基、噠嗪基、三嗪基、噌啉基、苯並咪唑基、苯並呋喃基、苯並呋咱基、苯並噻吩基（包括苯並[b]噻吩-2-基和苯並[b]噻吩-3-基）、苯並噻唑

基、苯並惡唑基、咪唑並[1,2-a]吡啶基（包括咪唑並[1,2-a]吡啶-2-基和咪唑並[1,2-a]吡啶-3-基）、喹唑啉基、喹喔啉基、萘啶基和呋喃吡啶基。本發明化合物中合適之雜脂環族基團包含一個、兩個或三個選自N、O或S原子之雜原子，包括例如吡咯烷基、四氫呋喃基、二氫呋喃基、四氫噻吩基、四氫噻喃基、呱啶基（包括呱啶-3-基、呱啶-4-基和呱啶基-5-基）、嗎啉基、硫代嗎啉基、噻噁烷基（thioxanyl）、呱嗪基、氮雜環丁烷基（azetidinyl）、氧雜環丁烷基（oxetanyl）、硫雜環丁烷基（thietanyl）、高呱啶基（homopiperidyl）、氧雜環庚烷基（oxepanyl）、硫雜環庚烷基（thiepanyl）、氧氮雜基（oxazepinyl）、二氮雜基（diazepinyl）、硫氮雜基（thiazepinyl）、1，2，3，6-四氫吡啶基、2-吡咯啉基、3-吡咯啉基、二氫吡咯基、吲哚啉基、2H-吡喃基、4H-吡喃基、二惡烷基、1、3-二氧戊環基、吡唑啉基、二噻吩基、二硫雜環戊基（dithiolanyl）、二氫吡喃基、二氫噻吩基、二氫呋喃基、吡唑烷基、咪唑啉基、咪唑烷基（imidazolidinyl）、3-氮雜雙環[4.1.0]庚基、3H-吲哚基和喹啉嗪基。

【0222】 在上述基團中，一個或複數氫原子可以被一個或複數合適之基團經取代，例如OR’，=O，SR’，SOR’，SO_2R’，NO_2，NHR’，NR’R’，=N-R’，NHCOR’，N（COR’）$_2$，$NHSO_2R$’，NR’C（=NR’）NR’R’，CN，鹵素，COR’，COOR’，OCOR’，OCONHR’，OCONR’R’，CONHR’，CONR’R’，經取代或未經取代之C_1-C_{12}烷基，經取代或未經取代之C_1-C_{12}烯基，經取代或未經取代之C_1-C_{12}炔基，未經取代或未經取代之芳基，以及經取代或未經取代之雜環基，其中每個R’基團獨立地選自氫、OH、NO_2、NH_2、SH、CN、鹵素、COH、CO烷基、CO_2H、經取代或未經取代之C_1-C_{12}烷基、經取代或未經取代之C_1-C_{12}烯基、經取代或未經取代之C_1-C_{12}炔基、經取代或未經取代之芳基和經取代或未經取代之雜環基。當這些基團本身被取代時，取代基可選自上述列表。當取代基以雙鍵（例如＝O和＝N-R′）終止時，它取代相同碳原子中的2個氫原子。

【0223】 本發明化合物中合適之鹵素取代基包括F、Cl、Br和I。

【0224】 術語“藥學上可接受之鹽”係指給予患者後能夠（直接或間接）提供本文所述化合物之任何鹽。應理解，非藥學上可接受之鹽亦落入本發明之範圍內，因為這些鹽可用於製備藥學上可接受之鹽。鹽之製備可以藉由本領域已知方法進行。例如，本文提供之化合物之藥學上可接受之鹽係由包含鹼性或酸性部分之母體化合物藉由常規化學方法合成的。通常，這樣的鹽例如藉由使這些化合物之游離酸或鹼形式與化學計量量之合適之鹼或酸於水中或於有機溶劑中或於兩者之混合物中反應來製備。通常，較佳為非水介質如醚、乙酸乙酯、乙醇、異丙醇或乙腈。酸加成鹽之示例包括無機酸加成鹽（如鹽酸鹽、氫溴酸鹽、氫碘酸鹽、硫酸鹽、硝酸鹽、磷酸鹽）和有機酸加成鹽（如乙酸鹽、三氟乙酸鹽、馬來酸鹽、富馬酸鹽、檸檬酸鹽、草酸鹽、琥珀酸鹽、酒石酸鹽、蘋果酸鹽、扁桃酸鹽、甲磺酸鹽和對甲苯磺酸鹽）。鹼加成鹽之示例包括無機鹽（如鈉鹽、鉀鹽、鈣鹽和銨鹽），以及有機鹼鹽（如乙二胺、乙醇胺、N，N-二烷基乙醇胺（N,N-dialkylenethanolamine）、三乙醇胺和鹼性氨基酸鹽）。

【0225】 本發明之化合物可以係作為游離化合物或溶劑合物（例如水合物、醇化物，特別係甲醇合物）之結晶形式，這兩種形式都在本發明之範圍內。溶劑化方法通常係本領域已知的。本發明之化合物可以具有不同的多晶型形式，並且本發明意欲包括所有這些形式。

【0226】 本文所提及之任何化合物旨在代表這樣的特定化合物以及某些變體或形式。特別地，本文提及之化合物可具有不對稱中心，因此以不同之對映異構體或非對映異構體形式存在。因此，本文提及的任何給定的化合物旨在代表外消旋物、一或多種對映異構體形式、一或多種非對映異構體形式及其混合物中之任何一種。同樣，關於雙鍵之立體異構或幾何異構亦係可能的，因此在某些情況下，分子可以（E）-異構體或（Z）-異構體（反式和順式異構體）存在。如果

分子含有幾個雙鍵，每個雙鍵都會有自己的立體異構體，這可能與分子中其他雙鍵之立體異構體相同或不同。此外，本文提及的化合物可作為阻轉異構體存在。本文所提及的化合物之所有立體異構體（包括對映體、非對映體、幾何異構體和阻轉異構體）及其混合物都被認為在本發明之範圍內。

【0227】 在通式**I**和**II**之化合物中，特別較佳之R_1、R_5、R_9、R_{11}和R_{15}獨立地選自氫和經取代或未經取代之C_1-C_6烷基。更佳為R_1、R_5、R_9、R_{11}和R_{15}獨立地選自氫、經取代之或未經取代之甲基、經取代之或未經取代之乙基、經取代之或未經取代之正丙基、經取代之或未經取代之異丙基和經取代之或未經取代之丁基（包括經取代之或未經取代之正丁基、經取代之或未經取代之叔丁基、經取代之或未經取代之異丁基、和經取代之或未經取代之仲丁基）。該基團之較佳取代基係OR’、=O、SR’、SOR’、SO_2R’、NO_2、NHR’、NR’R’、=N-R’、NHCOR’、N(COR’)$_2$、$NHSO_2$R’、NR’C(=NR’)NR’R’、CN、鹵素、COR’、COOR’、OCOR’、OCONHR’、OCONR’R’、CONHR、CONR’R’、經取代或未經取代之C_1-C_{12}烷基、經取代或未經取代之C_2-C_{12}烯基、經取代或未經取代之C_2-C_{12}炔基、經取代或未經取代之芳基、以及經取代或未經取代之雜環基，其中每個R’基團獨立地選自氫、OH、NO_2、NH_2、SH、CN、鹵素、COH、CO烷基、CO_2H、經取代或未經取代之C_1-C_{12}烷基、經取代或未經取代之C_2-C_{12}烯基、經取代或未經取代之C_2-C_{12}炔基、經取代或未經取代之芳基以及經取代或未經取代之雜環基。當這些基團本身被取代時，取代基可以選自前述列表。氫、甲基、正丙基、異丙基、異丁基、仲丁基、4-氨基丁基、3-氨基-3-氧丙基、苄基、對甲氧基苄基、對羥基苄基和環己基甲基係最佳之R_1、R_5、R_9、R_{11}、以及R_{15}基團。具體地，特別較佳之R_1選自仲丁基和異丙基，最佳為仲丁基。特別較佳之R_5選自異丁基和4-氨基丁基，最佳為異丁基。特別較佳之R_{11}係甲基和異丁基。特別較佳之R_9選自對甲氧基苄基、對羥基苄基和環己基甲基，最佳為對甲氧基苄基。特別較佳之R_{15}選自甲基、正

丙基和苄基，最佳為甲基和苄基。

【0228】 在通式**III**之化合物中，特別較佳之R_1、R_5、R_9和R_{15}獨立地選自氫和經取代或未經取代之C_1-C_6烷基。更佳為R_1、R_5、R_9和R_{15}獨立地選自氫、經取代或未經取代之甲基、經取代或未經取代之乙基、經取代或未經取代之正丙基、經取代或未經取代之異丙基和經取代或未經取代之丁基（包括經取代或未經取代之正丁基、經取代或未經取代之叔丁基、經取代或未經取代之異丁基、以及經取代或未經取代之仲丁基）。該基團之較佳取代基係OR’、=O、SR’、SOR’、SO_2R’、NO_2、NHR’、NR’R’、=N-R’、NHCOR’、$N(COR')_2$、$NHSO_2R$’、NR’C(=NR’)NR’R’、CN、鹵素、COR’、COOR’、OCOR’、OCONHR’、OCONR’R’、CONHR’、CONR’R’、經取代或未經取代之C_1-C_{12}烷基、經取代或未經取代之C_2-C_{12}烯基、經取代或未經取代之C_2-C_{12}炔基、經取代或未經取代之芳基、以及經取代或未經取代之雜環基，其中每個R'基團獨立地選自以下組：氫、OH、NO_2、NH_2、SH、CN、鹵素、COH、CO烷基、CO_2H、經取代或未經取代之C_1-C_{12}烷基、經取代或未經取代之C_2-C_{12}烯基、經取代或未經取代之C_2-C_{12}炔基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜環基。當這些基團本身被取代時，取代基可以選自前述列表。氫、甲基、正丙基、異丙基、異丁基、仲丁基、4-氨基丁基、3-氨基-3-氧丙基、苄基、對甲氧基苄基、對羥基苄基和環己基甲基係最佳之R_1、R_5、R_9和R_{15}基團。具體地，特別較佳之R_1選自仲丁基和異丙基，最佳為仲丁基。特別較佳之R_5選自異丁基和4-氨基丁基，最佳為異丁基。特別較佳之R_9選自對甲氧基苄基，對羥基苄基和環己基甲基，最佳為對甲氧基苄基。特別較佳之R_{15}選自甲基，正丙基和苄基，最佳為甲基和苄基。

【0229】 在通式**I**、**II**和**III**之化合物中，特別較佳之R_8、R_{10}、R_{12}和R_{16}獨立地選自氫和經取代或未經取代之C_1-C_6烷基。更佳為R_8、R_{10}、R_{12}和R_{16}獨立地選自氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基和丁基（包括正丁基、叔丁基、異丁基和仲

丁基），甚至更佳為它們獨立地選自氫和甲基。具體地，特別較佳之R_8、R_{10}以及R_{12}係甲基，特別較佳之R_{16}係氫。

【0230】 在通式**I**和**III**之化合物中，特別較佳之R_3和R_4獨立地選自氫和經取代或未經取代之C_1-C_6烷基。更佳為R_3和R_4獨立地選自氫、經取代或未經取代之甲基、經取代或未經取代之乙基、經取代或未經取代之正丙基、經取代或未經取代之異丙基和經取代或未經取代之丁基（包括經取代或未經取代之正丁基、經取代或未經取代之叔丁基、經取代或未經取代之異丁基和經取代之仲丁基）。該基團之較佳取代基係OR’、=O、SR’、SOR’、SO_2R’、NO_2、NHR’、NR’R’、=N-R’、NHCOR’、N(COR’)$_2$、$NHSO_2$R’、NR’C(=NR’)NR’R’、CN、鹵素、COR’、COOR’、OCOR’、OCONHR’、OCONR’R’、CONHR’、CONR’R’、經取代或未經取代之C_1-C_{12}烷基、經取代或未經取代之C_2-C_{12}烯基、經取代或未經取代之C_2-C_{12}炔基、經取代或未經取代之芳基、以及經取代或未經取代之雜環基，其中每個R'基團獨立地選自：氫、OH、NO_2、NH_2、SH、CN、鹵素、COH、CO烷基、CO_2H、經取代或未經取代之C_1-C_{12}烷基、經取代或未經取代之C_2-C_{12}烯基、經取代或未經取代之C_2-C_{12}炔基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜環基。當這些基團本身被取代時，取代基可以選自前述列表。氫、甲基、異丙基和仲丁基係最佳之R_3和R_4基團。具體而言，特別較佳之R_3選自甲基和異丙基，特別較佳之R_4係為甲基或氫。

【0231】 在通式**I**、**II**和**III**之化合物之一個實施例中，特別較佳之R_6和R_7獨立地選自氫和經取代或未經取代之C_1-C_6烷基。更佳為R_7選自氫、經取代之或未經取代之甲基、經取代之或未經取代之乙基、經取代之或未經取代之正丙基、經取代之或未經取代之異丙基和經取代之或未經取代之丁基（包括經取代或未經取代之正丁基、經取代或未經取代之叔丁基、經取代或未經取代之異丁基和經取代之仲丁基）。該基團之較佳取代基係OR’、=O、SR’、SOR’、SO_2R’、NO_2、

NHR’、NR’R’、=N-R’、NHCOR’、$N(COR')_2$、$NHSO_2R'$、NR’C(=NR’)NR’R’、CN、鹵素、COR’、COOR’、OCOR’、OCONHR’、OCONR’R’、CONHR’、CONR’R’、經取代或未經取代之C_1-C_{12}烷基、經取代或未經取代之C_2-C_{12}烯基、經取代或未經取代之C_2-C_{12}炔基、經取代或未經取代之芳基、以及經取代或未經取代之雜環基，其中每個R'基團獨立地選自氫、OH、NO_2、NH_2、SH、CN、鹵素、COH、CO烷基、CO_2H、經取代或未經取代之C_1-C_{12}烷基、經取代或未經取代之C_2-C_{12}烯基、經取代或未經取代之C_2-C_{12}炔基、經取代或未經取代之芳基以及經取代或未經取代之雜環基。當這些基團本身被取代時，取代基可以選自前述列表。更佳為R_6選自氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基和丁基（包括正丁基、叔丁基、異丁基和仲丁基）。最佳之R_6選自氫和甲基，最佳之R_7係甲基。

【0232】 在通式**I**、**II**和**III**之化合物之另一個實施例中，特別較佳為R_6和R_7與它們所連接之相應N原子和C原子一起形成經取代之或未經取代之雜環基。在這方面，較佳之雜環基係含有一個、兩個或三個選自N、O或S原子之雜原子，最佳為一個N原子，並具有5至約10個環原子，最佳為5、6或7個環原子之雜脂環基團（heteroalicyclic group）。吡咯烷基團係最佳的。

【0233】 在通式**I**、**II**和**III**之化合物之一個實施例中，特別較佳之R_{13}和R_{14}獨立地選自氫和經取代或未經取代之C_1-C_6烷基。更佳為R_{13}選自氫、經取代之或未經取代之甲基、經取代之或未經取代之乙基、經取代之或未經取代之正丙基、經取代之或未經取代之異丙基和經取代之或未經取代之丁基（包括正丁基、叔丁基、異丁基和仲丁基）。該基團之較佳取代基係OR’、=O、SR’、SOR’、SO_2R'、NO_2、NHR’、NR’R’、=N-R’、NHCOR’、$N(COR')_2$、$NHSO_2R'$、NR’C(=NR’)NR’R’、CN、鹵素、COR’、COOR’、OCOR’、OCONHR’、OCONR’R’、CONHR’、CONR’R’、經取代或未經取代之C_1-C_{12}烷基、經取代或未經取代之C_2-C_{12}烯基、經取代或未經取代之C_2-C_{12}炔基、經取代或未經取代之芳基、以及經取代或未經取代之雜環

基，其中每個R'基團獨立地選自以下組：氫、OH、NO_2、NH_2、SH、CN、鹵素、COH、CO烷基、CO_2H、經取代或未經取代之C_1-C_{12}烷基、經取代或未經取代之C_2-C_{12}烯基、經取代或未經取代之C_2-C_{12}炔基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜環基。當這些基團本身被取代時，取代基可以選自前述列表。更佳為R_{14}選自氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基和丁基（包括正丁基、叔丁基、異丁基和仲丁基）。最佳之R_{13}選自氫、甲基、異丙基、異丁基和3-氨基-3-氧丙基，最佳之R_{14}係為氫。

【0234】 在通式**I**、**II**和**III**之化合物之另一個實施例中，特別較佳為R_{13}和R_{14}與它們所連接之相應N原子和C原子一起形成經取代之或未經取代之雜環基。在這方面，較佳之雜環基係含有一個、兩個或三個選自N、O或S原子之雜原子，最佳為一個N原子，並具有5至約10個環原子，最佳為5、6或7個環原子之雜脂環基團。吡咯烷基團係最佳的。

【0235】 在通式**I**、**II**和**III**之化合物中，特別較佳為R_2選自氫、經取代或未經取代之C_1-C_6烷基和COR_a，其中R_a係經取代或未經取代之C_1-C_6烷基，甚至更佳為R_a係甲基、乙基、正丙基、異丙基和丁基（包括正丁基、叔丁基、仲丁基和異丁基）。更佳地，R_2係氫。

【0236】 在通式**I**、**II**和**III**之化合物中，特別較佳為R_{17}選自氫、COR_a、$COOR_a$、$CONHR_b$、（C＝S）NHR_b和SO_2R_c，其中每個R_a、R_b和R_c較佳為且獨立地選自經取代或未經取代之C_1-C_6烷基、經取代或未經取代之C_2-C_6烯基、經取代或未經取代之C_2-C_6炔基、經取代或未經取代之芳基、和經取代或未經取代之雜環基。該基團之較佳取代基係OR'、=O、SR'、SOR'、SO_2R'、NO_2、NHR'、NR'R'、=N-R'、NHCOR'、$N(COR')_2$、$NHSO_2R'$、NR'C(=NR')NR'R'、CN、鹵素、COR'、COOR'、OCOR'、OCONHR'、OCONR'R'、CONHR'、CONR'R'、經取代或未經取代之C_1-C_{12}烷基、經取代或未經取代之C_2-C_{12}烯基、經取代或未經取代之C_2-

C_{12}炔基、經取代或未經取代之芳基、以及經取代或未經取代之雜環基，其中每個R'基團獨立地選自氫、OH、NO_2、NH_2、SH、CN、鹵素、COH、CO烷基、CO_2H、經取代或未經取代之C_1-C_{12}烷基、經取代或未經取代之C_2-C_{12}烯基、經取代或未經取代之C_2-C_{12}炔基、經取代或未經取代之芳基、以及經取代或未經取代之雜環基。當這些基團本身被取代時，取代基可以選自前述列表。氫、COR_a、$COOR_a$和SO_2R_c係最佳之R_{17}基團，並且甚至最佳為氫、COO苄基、CO苯並[b]噻吩-2-基、SO_2（對甲基苯基）、$COCOCH_3$和COOC-（CH_3）$_3$。

【0237】 在通式**I**、**II**和**III**之化合物之另一個實施例中，特別較佳為Y係CO。在另一個實施例中，特別較佳為Y係-$COCH(CH_3)CO$-。

【0238】 在通式**I**、**II**和**III**之化合物之另一個實施例中，特別較佳為X係O。在另一個實施例中，特別較佳為X係NH。

【0239】 在通式**I**和**II**之化合物之另一個實施例中，特別較佳為n、p和q係為0。在另一個實施例中，特別較佳為n係為1，p和q係為0。在另一個實施例中，特別較佳為n和p係為1，q係為0。在另一個實施例中，特別較佳為n、p和q係為1。在另一個實施例中，特別較佳為n和p係為1，q係為2。

【0240】 在通式**III**化合物之另一個實施例中，特別較佳為p和q係為0。在另一個實施例中，特別較佳為p係為1和q係為0。在另一個實施例中，特別較佳為p和q係為1。在另一個實施例中，特別較佳為p係1和q係2。

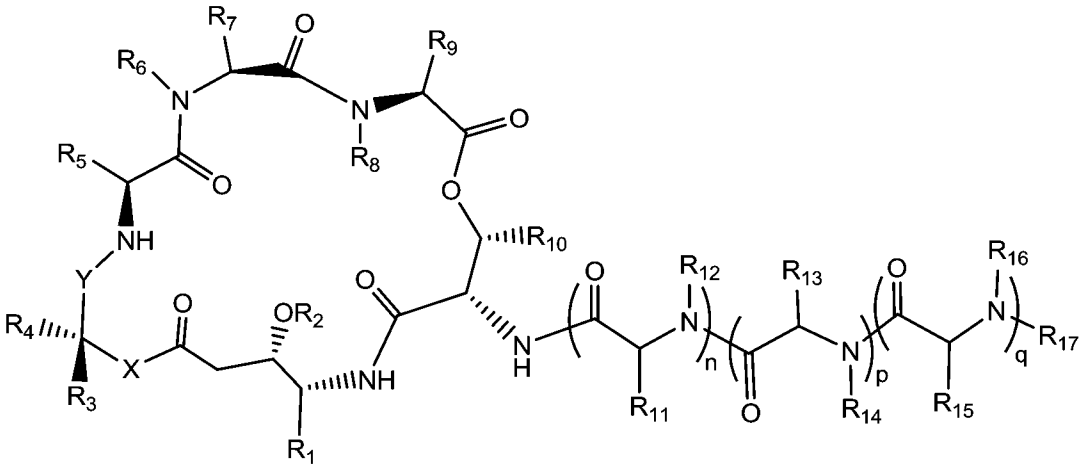
【0241】 在另外之較佳實施例中，組合了上述對於不同取代基之較佳項。本發明還係關於上述式**I**、**II**和**III**之較佳取代基之組合。

【0242】 在本發明之描述和定義中，當在本發明之化合物中存在幾個基團R_a、R_b和R_c時，除非明確指出，應理解它們在給定的定義內可以各自獨立地不同，即，R_a在本發明之給定的化合物中不一定同時代表相同之基團。

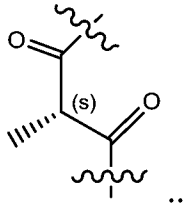
【0243】 在通式**I**、**II**和**III**之化合物中，當q之值係為2時，化合物中有兩個

基團R_{15}和兩個基團R_{16}。借此闡明，給定的化合物中之每個R_{15}和每個R_{16}基團可以獨立地選自上文針對這些基團描述之不同可能性。

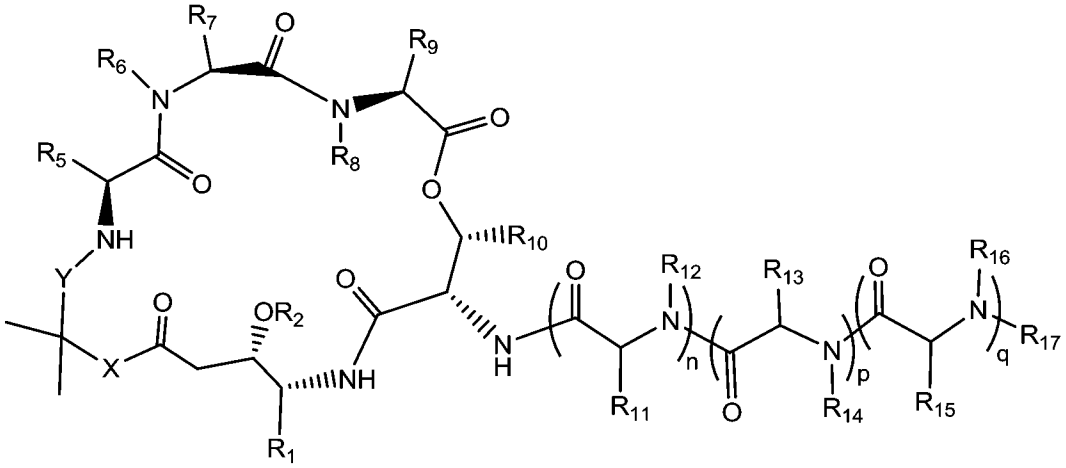
【0244】 通式**I**之化合物之特別較佳之立體化學係



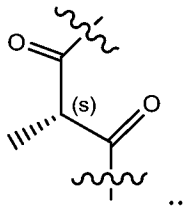
其中X、Y、n、p、q和R_1-R_{17}如上所定義，並且當Y係-COCH(CH_3)CO-時，其具有以下立體化學：



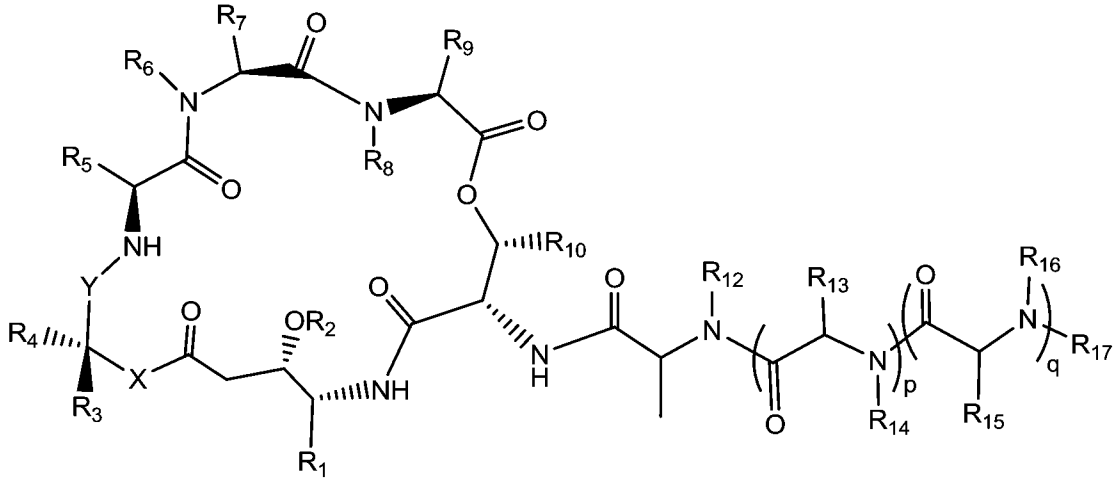
通式**II**之化合物之特別較佳之立體化學係



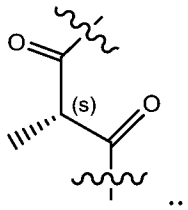
其中X、Y、n、p、q、R_1、R_2和R_5-R_{17}如上所定義，並且當Y係-COCH(CH_3)CO-時，其具有以下立體化學：



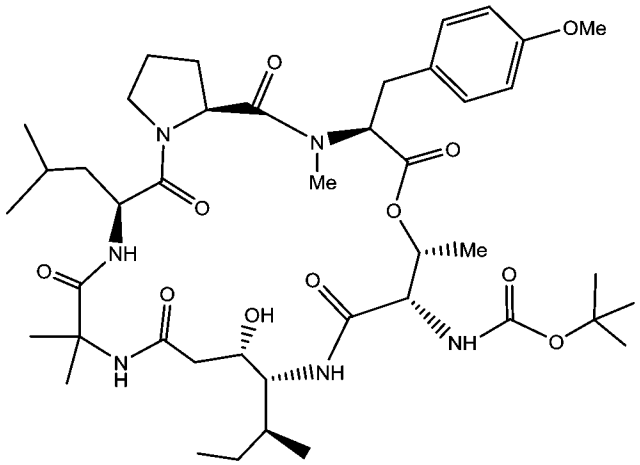
通式**III**之化合物之特別較佳之立體化學係



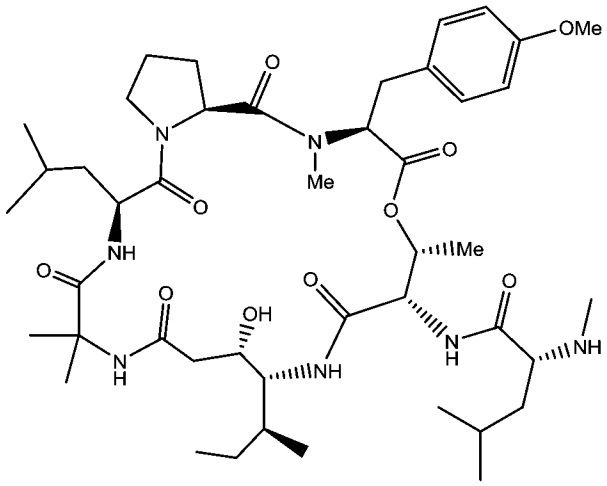
其中X、Y、p、q、R_1-R_{10}和R_{12}-R_{17}如上所定義，並且當Y係-COCH(CH_3)CO-時，其具有以下立體化學：



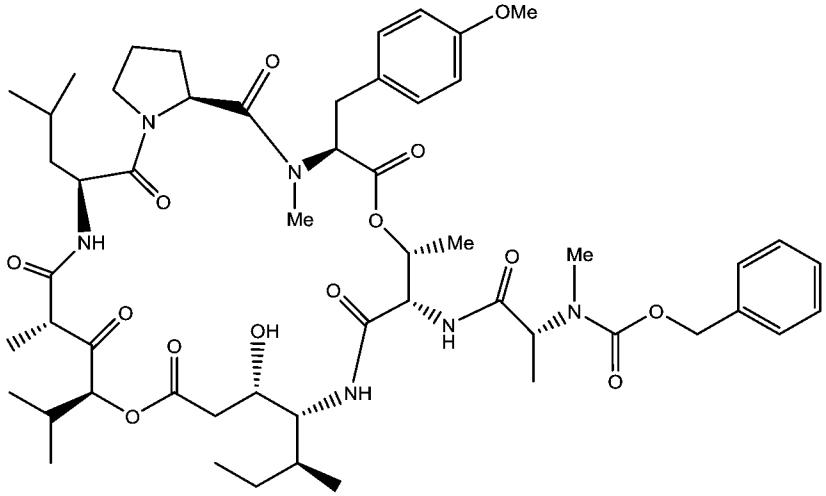
本發明特別較佳之化合物如下：



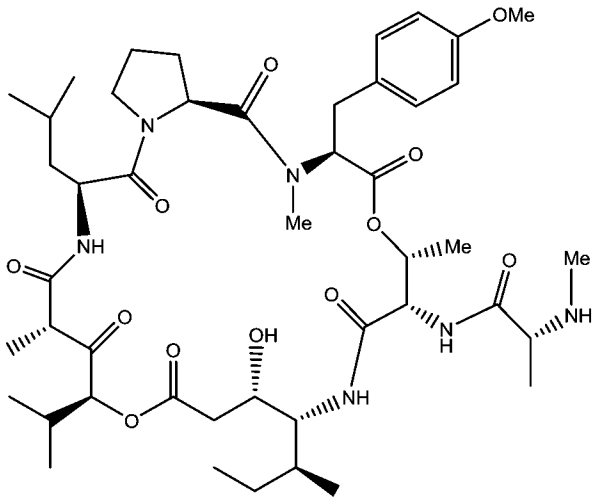
,



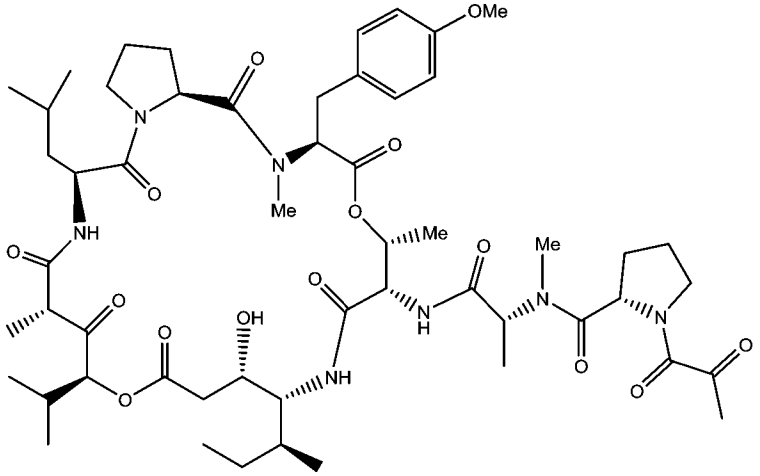
,



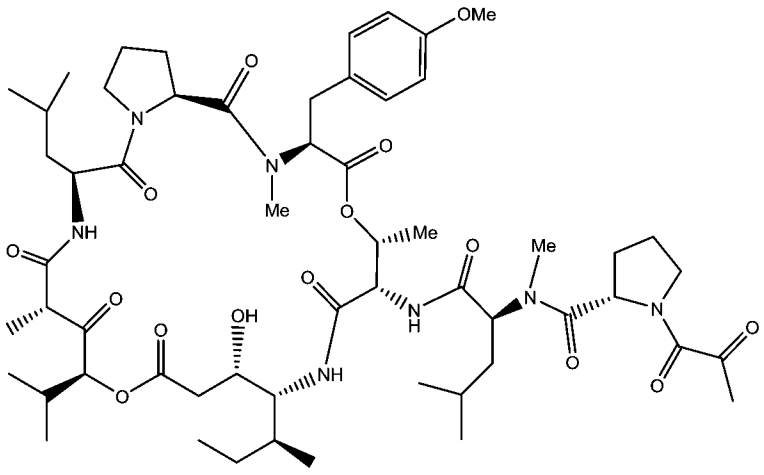
,


OMe
O
N
O
O
N
Me
O
Me
NH
O
O
O
O
Me
O
N
H
NH
O
OH
O
NH
O
O
O

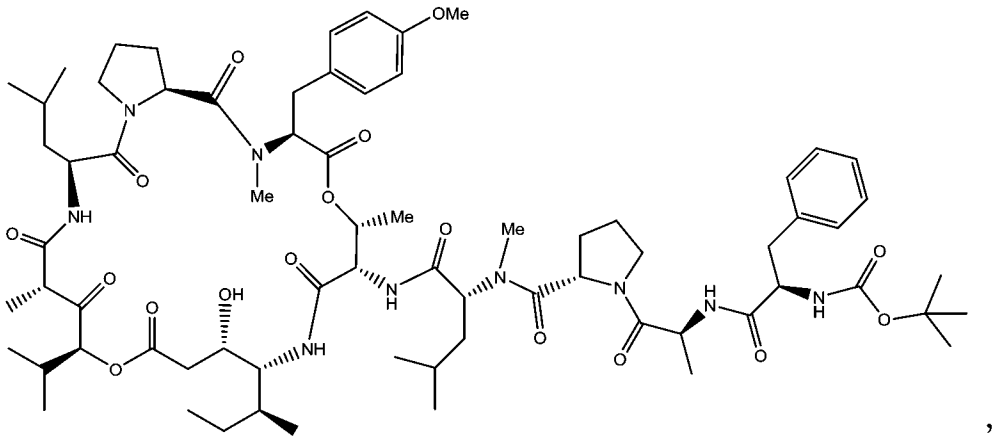
,


OMe
O
N
O
O
N
Me
O
Me
NH
O
O
O
O
Me
O
N
H
N
Me
O
N
O
O
NH
O
OH
O
NH
O
O
O

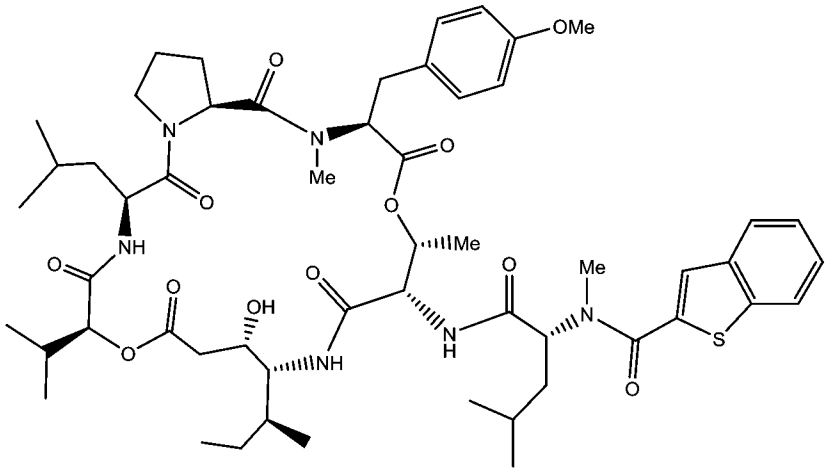
,


OMe
O
N
O
O
N
Me
O
Me
NH
O
O
O
O
Me
O
N
H
N
Me
O
N
O
O
NH
O
OH
O
NH
O
O
O

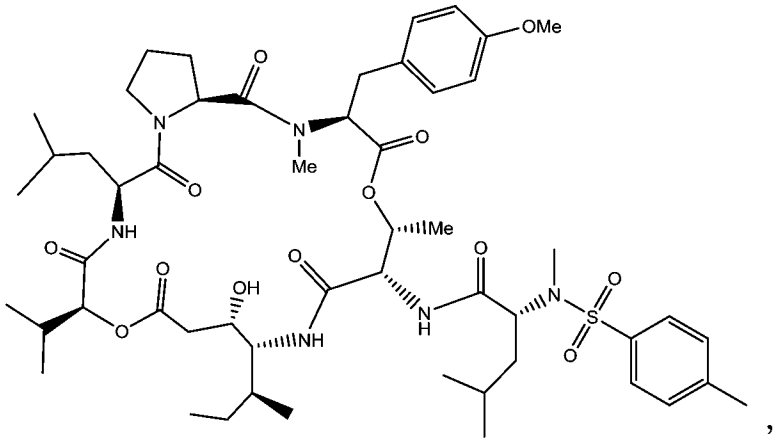
,



，



，以及



，

或其藥學上可接受之鹽或立體異構體。

【0245】 通式**I**、**II**和**III**之化合物可以按照Vera等人. Med. Res. Rev. 2002, 22(2), 102-145, WO 2011/020913 (見示例 1-5), WO 02/02596, WO 01/76616, 以及 WO 2004/084812（它們引入此作為參考）揭露之任何合成方法製備。

【0246】 較佳之化合物係PLD或其藥學上可接受之鹽或立體異構體。最佳為PLD。

【0247】 普立肽之化學名稱為（-）-（3S，6R，7S，10R，11S，15S，17S，20S，25aS）-11-羥基-3-（4-甲氧基苄基）-2,6,17-三甲基-15-（1-甲基乙基）-7-[[[（2R）-4-甲基-2-[甲基[[（2S）-1-（2-氧代丙醯基）吡咯烷-2-基]羰基]氨基]戊醯基]氨基]-10-[（1S）-1-甲基丙基]-20-（2-甲基丙基）十四氫-15H-吡咯並[2,1-f]-[1,15,4,7,10,20]二氧雜環戊環三環烷-1,4,8,13,16,18,21（17H）-庚酮（(-)-(3S,6R,7S,10R,11S,15S,17S,20S,25aS)-11-hydroxy-3-(4-methoxybenzyl)-2,6,17-trimethyl-15-(1-methylethyl)-7-[[(2R)-4-methyl-2-[methyl[[(2S)-1-(2-oxopropanoyl)pyrrolidin-2-yl]carbonyl]amino]pentanoyl]amino]-10-[(1S)-1-methylpropyl]-20-(2-methylpropyl)tetradecahydro-15H-pyrrolo[2,1-f]-[1,15,4,7,10,20]dioxatetrazacyclotricosine-1,4,8,13,16,18,21(17H)-heptone），對應分子式$C_{57}H_{87}N_7O_{15}$。它的相對分子質量係為1110.34g/mol，結構如下：



【0248】 普立肽係一種環酯肽，最初從地中海海洋海鞘白色念珠菌（marine tunicate Aplidium albicans）中分離，目前藉由全化學合成（full chemical synthesis）生產。它於澳大利亞被授權和銷售，品牌名稱為普立肽，用於治療多發性骨髓瘤。

【0249】 於真核細胞中，已證明普立肽靶向真核延伸因子（eEF1A），真核延伸因子於調節與其它蛋白質之相互作用中具有關鍵作用，其中一些蛋白質被

認為於病毒複製中係必需的。值得注意地，上述蛋白之一係冠狀病毒N蛋白，其於感染細胞內大量產生，並且已知與延伸因子EF1A相互作用。如上所述，普立肽與EF1A之間之相互作用可因此降低從頭合成病毒衣殼之效率，並因此導致病毒載量之降低。

【0250】 本發明提供本發明化合物於治療炎症中之用途。特別地，本發明提供了本發明之化合物於治療炎症，特別係與Toll樣受體激活相關之炎症和/或由病原體感染引起之炎症中之用途。

【0251】 於本發明之一方面，提供了用於治療炎症之本發明化合物。於本發明之另一方面，提供了本發明化合物於製備用於治療炎症之藥物中之用途。於本發明之另一方面，提供了治療炎症之方法，該方法包括向有需要之個體給藥治療有效量之本發明化合物。

【0252】 於一實施例中，炎症之特徵在於過量或增加之促炎細胞因子，較佳係IL-12、IL-10、IL-1、IL-6、IL-8、CCL-2和TNF-α中之至少一種，更佳係IL-1、IL-6、IL-8和TNF-α中之至少一種之產生或分泌。於另一實施例中，炎症係高炎症。高炎症之特點係細胞因子之產生或分泌過多（亦稱為細胞因子風暴）。於一實施例中，藉由高水準(高於正常水準)之至少一種以下細胞因子來定義高炎症：白細胞介素(IL)-1、IL-2、IL-6、GM-CSF、IFN-γ和TNF，以及趨化因子、C-C基序趨化因子配體(CCL)-2、CCL-3和CCL-5。於另一實施例中，炎症係慢性炎症。

【0253】 在具體實施例中，病毒係SARS-CoV-2和相關之COVID-19疾病。與COVID-19疾病相關之死亡率似乎與a）呼吸窘迫繼發之嚴重呼吸衰竭和b）由細胞因子風暴引起之炎症狀態有關。因此，於來自中國之最初系列患者中，需要於有或沒有高流量氧氣補充之情況下住院之重症疾病患者和需要機械通氣支援之患者之比例估計分別接近15%和5%。然而，於歐洲，衛生當局報告之數字更

高，達到30%之需要住院治療而不需要機械通氣之重症病例（於馬德里市），接近10%之患者需要機械通氣。同樣，中國系列患者需要機械通氣之時間比馬德里等城市報導的要短得多，因此，患者長時間居留改變了患者通常之流向重症監護室之情況。這給醫院服務帶來了巨大之負擔，這使得有必要採取前所未有之特別措施。相信藉由於患有早期COVID-19肺炎之患者中使用本發明可以避免或減少最初描述之併發症之程度，因為一旦發生細胞因子風暴和呼吸窘迫，抗病毒藥物通常更難具有有益之治療效果。然而，在實施例中，本發明之化合物還可用於病毒感染之後期階段，例如於發生細胞因子風暴和呼吸窘迫之患者中。

【0254】 如上所述，於真核細胞中，FLIM-FRET實驗證明，普立肽位於足夠接近eEF1A之位置以提示藥物-蛋白質複合物之形成。用14C-普立肽和從兔肌肉純化之eEF1A進行之單獨之一組實驗表明，普立肽以高親和力和低解離速率結合eEF1A。

普立肽對SARS-CoV-2之體外作用

【0255】 進行了旨在確定普立肽對SARS-CoV-2之作用之複數體外實驗並於本文揭露。分別使用用SARS-CoV-2感染之Vero E6細胞和直接定量SARS-CoV-2核衣殼（N）蛋白（其明確涉及到普立肽誘導之抗病毒活性之機制）之兩個研究顯示，普立肽於體外係SARS-CoV-2生長之有效抑制劑，其IC_{50}係為0.7至3.0nM。於另一項研究中，將人幹細胞衍生之肺細胞樣細胞預防性地暴露於10nm普立肽1小時，然後用SARS-CoV-2（4×10^4空斑形成單位）感染。於48小時孵育期後，確定抗病毒和細胞毒性普立肽之效果。結果表明，普立肽完全消除了SARS-CoV-2之複製，對肺細胞樣細胞沒有明顯之細胞毒性。

普立肽對體內SARS-CoV-2之影響

【0256】 使用先前描述的用SARS-CoV-2感染之腺病毒介導之hACE2之小鼠模型，證明了普立肽於體內有效之抗病毒效果。使用先前描述之表達由用

SARS-CoV-2感染之細胞角蛋白-18基因啟動子（K18-hACE2）驅動之hACE2之轉基因小鼠模型，證明了普立肽於體內亦有效之抗病毒效果。

普立肽對宿主炎症反應之影響

【0257】 與SARS-CoV類似，SARS-CoV-2感染亦會產生多種細胞因子之高度分泌，隨著疾病之發展，血漿水準亦會增加，這表明細胞因子之釋放與疾病嚴重程度之間可能存在聯繫。

【0258】 固有免疫係抵禦入侵病原體之第一道防線。於SARS-CoV-2之情況下，病毒進入宿主上皮細胞係由病毒包膜刺突(S)蛋白和細胞表面受體ACE2之間之相互作用介導的。病毒RNA，作為病原體相關之分子模式，然後被宿主模式識別受體檢測，宿主模式識別受體包括toll樣受體家族。然後，Toll樣受體藉由激活轉錄因子核因子κB（NF-κB）上調抗病毒和促炎介質（antiviral and proinflammatory mediator），如白細胞介素（IL）6、IL-8和干擾素（IFN）-γ。於非臨床物種和患者中探索SARSCoV感染之研究中，已經強調了NF-κB對促炎基因表達（特別係於肺中）之重要性。於感染SARS CoV之小鼠中，NF-κB之藥理學抑制導致肺中腫瘤壞死因子α（TNF）、CCL2和CXCL2之較高之存活率和降低之表達。

【0259】 如本文所示，普立肽誘導腫瘤細胞中NFκB之下調。隨後，還進行了體外和離體研究，以評估普立肽對免疫細胞之作用。

【0260】 使用THP-1細胞進行體外研究，THP-1細胞係一種自發永生化之單核細胞樣細胞係，來自急性單核細胞白血病兒童患者之外周血，廣泛用於研究單核細胞結構和功能。如圖1和圖2所示，所有與病原體相關之分子模式類比化合物（mimicking compound）都能誘導於THP-1細胞中產生促炎細胞因子，且添加普立肽可顯著減少促炎細胞因子之分泌。

【0261】 離體研究評估了普立肽對小鼠肺中細胞因子IL 6、IL 10和TNFα

表達之影響。如圖51所示，來自安慰劑處理之小鼠之分化簇(CD)45+細胞能夠於LPS-B5刺激下產生IL 6、IL 10和TNFα。然而，與未刺激之對照組相比，來自用普立肽處理之小鼠之CD45+細胞未能顯示出IL 6、IL 10和TNFα之顯著增加。這些結果表明，體內暴露於普立肽阻止了於從支氣管肺泡灌洗液分離之CD45+細胞中增加由LPS-B5介導之促炎細胞因子之產生。

【0262】 於本發明之一方面，提供了本文所定義之化合物，用於治療與Toll樣受體之激活相關(或由其引起)之炎症。於本發明之另一方面，提供了如本文所定義之化合物於製備用於治療與Toll樣受體之激活相關之炎症之藥物中之用途。於本發明之另一方面，提供了用於治療與Toll樣受體之激活相關之炎症之方法，該方法包括向有需要之個體給藥治療有效量之本文所定義之化合物。

【0263】 “與Toll樣受體之激活相關之炎症”係指由一種或多種Toll樣受體(TLR)之激動作用(即刺激)和Toll樣受體信號傳遞級聯之激活或藉由至少一種TLR之增加之信號(其可由至少一種TLR之增加之表達引起)引起之炎症。用於測量響應於已知或可能TLR激動劑之TLR信號傳遞之激活之方法將係本領域技術人員公知的，但於一示例中，NF-κB轉錄之水準可用作TLR激活之指示（indicator）。如本文所述，可以使用實施例中所述之螢光素酶標記之NF-κB轉錄來測量NF-κB轉錄。於另一實施例中，TLR激活可以藉由測量IRAK1(IL-受體相關激酶)、IRAK4磷酸化和TAK1激活(轉化生長因子-β-激活激酶-1)中之任何一種來確定。TLR激活之其它指示於本領域係已知的(例如，見Kawai & Akira，2007，其描述了TLR通路（TLR pathway））。於一實施例中，TLR係TLR-3、TLR4、TLR7或TLR8。

【0264】 Toll樣受體或TLR可被微生物病原體激活。於一實施例中，微生物病原體可以係細菌、病毒、寄生蟲、真菌或其它微生物。

【0265】 於較佳之實施例中，Toll樣受體被病毒激活。於一實施例中，病

毒係RNA病毒。

【0266】 於一實施例中，病毒係單鏈(+)RNA病毒。於進一步較佳之實施例中，病毒選自以下家族：黃病毒科、小RNA病毒科、披膜病毒科、杯狀病毒科、反轉錄病毒科、冠狀病毒科。於替代之實施例中，病毒係呼吸道病毒。

【0267】 於一實施例中，當該病毒係黃病毒科病毒時，該病毒選自丙型肝炎、黃熱病毒(YFV)、西尼羅病毒(WNV)、登革熱病毒(DENV)、日本腦炎病毒(JEV)、蜱傳腦炎病毒(TBEV)、豬瘟病毒和寨卡病毒(ZIKV)。於一實施例中，當該病毒係小RNA病毒時，該病毒選自口蹄疫病毒、腸道病毒A71、柯薩奇病毒、鼻病毒和甲型肝炎。於另一實施例中，當該病毒係披膜病毒科病毒（Togaviridae virus）時，該病毒選自甲病毒科，特別係，基孔肯雅病毒、辛德畢斯病毒、塞姆利基森林病毒、東部馬腦炎病毒/西部馬腦炎病毒/委內瑞拉馬腦炎病毒和風疹病毒。於另一實施例中，當病毒係杯狀病毒科病毒時，病毒選自兔病毒屬（Lagovirus）、諾如病毒屬（Norovirus）、紐布病毒屬（Nebovirus）、Recovirus、札幌病毒屬（Sapovirus）、Valovirus和水泡疹病毒屬（Vesivirus），特別係諾沃克病毒(Norwalk virus)。

【0268】 於一實施例中，病毒感染係CoV感染。術語“CoV”感染係指來自冠狀病毒科和正冠狀病毒亞科之病毒之任意感染。於一實施例中，感染來自乙型冠狀病毒屬（betacoronavirus）中之病毒，乙型冠狀病毒屬包括乙型冠狀病毒屬1、人冠狀病毒HKU1、鼠冠狀病毒、蝙蝠冠狀病毒HKU5、果蝠冠狀病毒HKU9、嚴重急性呼吸綜合征相關冠狀病毒（SARS-CoV）、扁顱蝠冠狀病毒HKU4、中東呼吸綜合征相關冠狀病毒、人冠狀病毒OC43和刺蝟冠狀病毒1（EriCoV）。較佳地，該病毒選自α-型HCoV-229E、HCoV-NL63；β-型HCoV-HKU1、SARS-CoV、MERS-CoV和HCoV-OC43；以及SARS-CoV-2。SARS-CoV-2先前稱為2019-nCoV，並且這些術語於本文中可互換使用。

【0269】 於另一實施例中，當病毒係反轉錄病毒科時，病毒係HIV(人類免疫缺陷病毒)。

【0270】 於另一實施例中，該病毒係反義單鏈RNA病毒。於一實施例中，該病毒選自正粘病毒科、白蛉病毒屬科和沙狀病毒科。

【0271】 於一實施例中，正粘病毒科病毒選自A型流感病毒、B型流感病毒、C型流感病毒、托高土病毒屬（Thogotovirus）、誇蘭紮病毒屬（Quaranjavirus）和傳染性鮭魚貧血病毒屬（Isavirus）。於另一實施例中，正粘病毒科病毒係A型流感病毒，較佳係選自H1N1、H1N2和H3N2。於另一實施例中，正粘病毒科病毒係B型流感病毒，較佳係選自Yamagata或Victoria譜係。

【0272】 於一實施例中，當病毒來自於白蛉病毒屬科時，病毒係白蛉熱病毒組（SFV）或裂谷熱病毒。於一實施例中，當該病毒選自沙狀病毒科時，該病毒係皮欽德病毒（Pichinde virus）。

【0273】 於另一實施例中，病毒係雙鏈DNA病毒。於一實施例中，病毒選自皰疹病毒科，較佳係單純皰疹病毒1或2。

【0274】 於另一實施例中，病毒係呼吸道病毒。呼吸道病毒包括鼻病毒和腸道病毒（小RNA病毒科Picornaviridae），正粘病毒科，流感（副流感病毒），偏肺病毒（metapneumoviruses）和呼吸道合胞病毒（副黏液病毒科（Paramyxoviridae）），冠狀病毒（冠狀病毒科）和幾種腺病毒。除腺病毒外，所有病毒都有RNA基因組。

【0275】 於另一實施例中，本發明化合物可進一步與抗病毒劑組合給藥。抗病毒劑可以與本發明化合物之給藥同時、順序或分開給藥。於該實施例中，本發明之化合物可用作抗炎劑以治療與病毒感染相關或病毒感染引起之炎症或高炎症。

【0276】 於本發明之另一方面，提供本文所定義之化合物，用於治療選自

肺炎和免疫病理，特別係高細胞因子血症(細胞因子風暴綜合征)、敗血症和移植物抗宿主病之疾病。於本發明之另一方面，提供本文所定義之化合物於製備用於治療選自肺炎和免疫病理，特別係高細胞因子血症（細胞因子風暴綜合征）、敗血症和移植物抗宿主病之疾病之藥物中之用途。於本發明之另一方面，提供了一種治療選自肺炎和免疫病理，特別係高細胞因子血症(細胞因子風暴綜合征)敗血症和移植物抗宿主病之疾病之方法，該方法包括向有需要之個體給藥治療有效量之本文所定義之化合物。於特別較佳之實施例中，該疾病係免疫病理，特別係高細胞因子血症。

【0277】 於本發明之另一方面，提供了本文所定義之化合物，用於治療病原體誘導之炎症。於本發明之另一方面，提供了如本文所定義之化合物於製備用於治療病原體誘導之炎症之藥物中之用途。於本發明之另一方面，提供了治療病原體誘導之炎症之方法，該方法包括向有需要之個體給藥治療有效量之本文所定義之化合物。

【0278】 於本發明之另一方面，提供本文所定義之化合物，用於聯合治療病毒感染和與Toll樣受體激活相關之炎症或與病原體感染相關之炎症。於本發明之另一方面，提供了如本文所定義之化合物於製備聯合治療病毒感染和與Toll樣受體激活相關之炎症或與病原體感染相關之炎症之藥物中之用途。於本發明之另一方面，提供了聯合治療病毒感染和與Toll樣受體激活相關之炎症或與病原體感染相關之炎症之方法，該方法包括向有需要之個體給藥治療有效量之本文定義之化合物。

【0279】 於一實施例中，炎症可以係高細胞因子血症。

【0280】 “病原體誘導之炎症”係指由病原體感染引起之任何炎症或免疫病理。因此，於本發明之一方面，提供了本文所述之用於治療免疫病理之化合物和方法。病原體可以係微生物病原體。更佳地，微生物病原體可以係細菌、病毒、

寄生蟲、真菌或其它微生物。於一實施例中，病原體引起TLR之激活。於另一實施例中，病原體不引起TLR之激活。於另一實施例中，病原體引起巨噬細胞激活。炎症可能係慢性炎症。於較佳之實施例中，病原體係病毒。

【0281】 於較佳之實施例中，Toll樣受體被病毒激活。

【0282】 於一實施例中，病毒係正義單鏈(+)RNA病毒。於進一步較佳之實施例中，病毒選自以下科：黃病毒科（Flaviviridae）、小RNA病毒科（Picornaviridae）、披膜病毒科（Togaviridae）、杯狀病毒科（Caliciviridae）、反轉錄病毒科（Retroviridae）和冠狀病毒科（Coronaviridae）。於一實施例中，當該病毒係黃病毒科病毒時，該病毒選自丙型肝炎、黃熱病毒(YFV)、西尼羅病毒(WNV)、登革熱病毒(DENV)、日本腦炎病毒(JEV)、蜱傳腦炎病毒(TBEV)、豬瘟病毒和寨卡病毒(ZIKV)。於一實施例中，當該病毒係小RNA病毒時，該病毒選自口蹄疫病毒、腸道病毒A71、柯薩奇病毒、鼻病毒和甲型肝炎。於另一實施例中，當該病毒係披膜病毒科病毒時，該病毒選自甲病毒科，特別係，基孔肯雅病毒、辛德畢斯病毒、塞姆利基森林病毒、東部馬腦炎病毒/西部馬腦炎病毒/委內瑞拉馬腦炎病毒和風疹病毒。於另一實施例中，當病毒係杯狀病毒科病毒時，病毒選自兔病毒屬（Lagovirus）、諾如病毒屬（Norovirus）、紐布病毒屬（Nebovirus）、Recovirus、札幌病毒屬（Sapovirus）、Valovirus和水泡疹病毒屬（Vesivirus），特別係諾沃克病毒(Norwalk virus)。

【0283】 於一實施例中，病毒感染係CoV感染。術語“CoV”感染係指來自冠狀病毒科和正冠狀病毒亞科之病毒之任意感染。於一實施例中，感染來自乙型冠狀病毒屬（betacoronavirus）中之病毒，乙型冠狀病毒屬包括乙型冠狀病毒屬1、人冠狀病毒HKU1、鼠冠狀病毒、蝙蝠冠狀病毒HKU5、果蝠冠狀病毒HKU9、嚴重急性呼吸綜合征相關冠狀病毒（SARS-CoV）、扁顱蝠冠狀病毒HKU4、中東呼吸綜合征相關冠狀病毒、人冠狀病毒OC43和刺蝟冠狀病毒1（EriCoV）。較佳

地，該病毒選自α-型HCoV-229E、HCoV-NL63；β-型HCoV-HKU1、SARS-CoV、MERS-CoV和HCoV-OC43；以及SARS-CoV-2。SARS-CoV-2先前稱為2019-nCoV，並且這些術語於本文中可互換使用。

【0284】 於另一實施例中，當病毒係反轉錄病毒科時，病毒係HIV(人類免疫缺陷病毒)。

【0285】 於另一實施例中，該病毒係反義單鏈RNA病毒。於一實施例中，該病毒選自正粘病毒科、白蛉病毒屬科和沙狀病毒科。

【0286】 於一實施例中，正粘病毒科病毒選自A型流感病毒、B型流感病毒、C型流感病毒、托高土病毒屬（Thogotovirus）、誇蘭紮病毒屬（Quaranjavirus）和傳染性鮭魚貧血病毒屬（Isavirus）。於另一實施例中，正粘病毒科病毒係A型流感病毒，較佳係選自H1N1、H1N2和H3N2。於另一實施例中，正粘病毒科病毒係B型流感病毒，較佳係選自Yamagata或Victoria譜係。

【0287】 於一實施例中，當病毒來自於白蛉病毒屬科時，病毒係白蛉熱病毒組（SFV）或裂谷熱病毒。於一實施例中，當該病毒選自沙狀病毒科時，該病毒係皮欽德病毒（Pichinde virus）。

【0288】 於另一實施例中，病毒係雙鏈DNA病毒。於一實施例中，病毒選自皰疹病毒科，較佳係單純皰疹病毒1或2。

【0289】 於另一實施例中，病毒係呼吸道病毒。呼吸道病毒包括鼻病毒和腸道病毒（小RNA病毒科Picornaviridae）、副流感病毒、偏肺病毒和呼吸道合胞病毒（副黏液病毒科）、冠狀病毒（冠狀病毒科）和幾種腺病毒。除腺病毒外，所有病毒都有RNA基因組。

【0290】 因此，於一個具體實施例中，提供了如本文所定義之化合物，用於聯合治療SARS-CoV-2感染和高細胞因子血症。宿主對感染之炎症反應亦可能導致肺炎或ARDS。因此，於另一實施例中，提供了用於聯合治療SARS-CoV-2感

染和(相關)肺炎(亦稱為COVID-19肺炎)或相關ARDS之如本文所定義之化合物。於本發明之另一方面，提供了如本文所定義之化合物於製備用於聯合治療SARS-CoV-2感染和高細胞因子血症之藥物中之用途。於另一方面，提供了如本文所定義之化合物於製備用於聯合治療SARS-CoV-2感染和COVID-19肺炎之藥物中之用途。於本發明之另一方面，提供了如本文所定義之化合物於製備用於聯合治療SARS-CoV-2感染和ARDS之藥物中之用途。於本發明之另一方面，提供了聯合治療SARS-CoV-2感染和高細胞因子血症之方法，該方法包括向有需要之個體給藥治療有效量之本文所定義之化合物。於另一實施例中，提供了聯合治療SARS-CoV-2感染和COVID-19肺炎之方法，該方法包括向有需要之個體給藥治療有效量之本文所定義之化合物。於另一實施例中，提供了一種用於聯合治療SARS-CoV-2感染和ARDS之方法，該方法包括向有需要之個體給藥治療有效量之本文所定義之化合物。目前治療病毒感染和宿主對感染之炎症反應（即高細胞因子血症）（其可能導致肺炎或ARDS）之策略需要多種藥物之存在，以分別靶向每種適應症（即病毒複製和消除）和炎症。如例12和圖39-42所示，我們發現PLD可用作單一藥劑以治療感染和隨後之高細胞因子血症或高炎症(這些術語於本文中可互換使用)。

【0291】 或者，病毒感染係HIV(人類免疫缺陷病毒)感染。因此，於一個具體實施例中，提供本文定義之化合物用於聯合治療HIV感染和高細胞因子血症。於本發明之另一方面，提供了如本文所定義之化合物於製備用於聯合治療HIV感染和高細胞因子血症之藥物中之用途。於本發明之另一方面，提供了聯合治療HIV感染和高細胞因子血症之方法，該方法包括向有需要之個體給藥治療有效量之本文所定義之化合物。

【0292】 本發明之化合物可用於具有治療上述病症之生物/藥理學活性之藥物組合物中。這些藥物組合物包含本發明之化合物和藥學上可接受之載體。術

語“載體（carrier）”係指與活性成分一起給藥之稀釋劑、佐劑、賦形劑或載體（vehicle）。E. W. Martin之“Remington’s Pharmaceutical Sciences”，1995，中有描述合適之藥物載體。藥物組合物之示例包括用於口服、局部或胃腸外給藥之任何固體（片劑、丸劑、膠囊劑、顆粒劑等）或液體（溶液、混懸劑、乳劑等）組合物。含有本發明化合物之藥物組合物可以藉由脂質體或納米球包封、以緩釋製劑之方式或藉由其它標準遞送方式遞送。

【0293】 一種示例性組合物係用於注射之溶液之粉末形式。例如WO9942125中描述之組合物。例如包括水溶性材料，其次係混合溶劑之重構溶液之本發明化合物之凍幹製劑。具體例子係PLD和甘露醇和混合溶劑之重構溶液（例如PEG-35蓖麻油、乙醇和注射用水）之凍幹製劑。每個小瓶例如可以包含2mg PLD。重構後，每mL重構溶液可包含：0.5mg PLD、158mg PEG-35蓖麻油和0.15mL/mL乙醇。

【0294】 任何特定患者之特定劑量和治療方案可以變化，並且將取決於多種因素，包括所使用之特定化合物之活性、所使用之特定製劑、應用模式、年齡、體重、綜合健康、性別、飲食、給藥時間、排泄率、藥物組合、反應敏感性和所治療之特定疾病或病症之嚴重性。

【0295】 在本發明之實施例中，本發明之化合物可以根據每日劑量之給藥方案給藥。

【0296】 在本發明之實施例中，本發明之化合物可以根據每日一次劑量之給藥方案給藥。

【0297】 在進一步實施例中，本發明之化合物可以根據每日劑量給藥10天、9天、8天、7天、6天、5天、4天、3天、2天或1天之給藥方案給藥。較佳之方案係2-5天，或3-5天，或3、4或5天，最佳為3天或5天。

【0298】 劑量可為每天5mg或以下、每天4.5mg或以下、每天4mg或以下、

每天3.5mg或以下、每天3mg或以下、每天2.5mg或以下或2mg或以下。

【0299】 具體劑量包括0.5mg/天、1mg/天、1.5mg/天、2mg/天、2.5mg/天、3mg/天、3.5mg/天、4mg/天、4.5mg/天或5mg/天。較佳之劑量係為1mg/天、1.5mg/天、2mg/天和2.5mg/天。

【0300】 在進一步實施例中，本發明之化合物可以根據1-50mg、1-40mg、1-30mg、1-20mg、1-15mg、3-15mg、3-12mg、4-12mg、4-10mg或4.5-10mg之總劑量給藥。總劑量可為4mg、4.5mg、5mg、5.5mg、6mg、6.5mg、7mg、7.5mg、8mg、8.5mg、9mg、9.5mg或10mg。較佳之總劑量係為4.5mg、5mg、6mg、7.5mg、8mg、9mg或10mg。總劑量可以分成1、2、3、4、5、6、7、8、9或10天，較佳為3天或5天。

【0301】 在一個具體實施例中，本發明之化合物可根據每日一次，每天2.5mg或更少之劑量，給藥5天之給藥方案給藥。

【0302】 在另一個實施例中，本發明之化合物可根據每日一次，每天2mg或更少之劑量，給藥5天之給藥方案給藥。

【0303】 在另一個實施例中，本發明之化合物可以根據每日一次，每天1.5mg或更少之劑量，給藥3天之給藥方案給藥。

【0304】 在另一個實施例中，本發明之化合物可根據每日一次，每天2mg或更少之劑量，給藥3天之給藥方案給藥。

【0305】 在另一個實施例中，本發明之化合物可以根據每日一次，每天2.5mg或更少之劑量，給藥3天之給藥方案給藥。

【0306】 在另一個實施例中，本發明之化合物可以根據每日一次，每天1.5mg之劑量，給藥3天之給藥方案給藥。

【0307】 在另一個實施例中，本發明化合物可以根據每日一次，每天2.0mg之劑量，給藥3天之給藥方案給藥。

【0308】 在另一個實施例中，本發明之化合物可以根據每日一次，每天2.5mg之劑量，給藥3天之給藥方案給藥。

【0309】 在另一個實施例中，本發明之化合物可以根據每日一次，每天1.5至2.5mg之劑量，給藥3天之給藥方案給藥。

【0310】 另一種方案係於第1天單劑量給藥。單次劑量可以係1-10 mg、4-10 mg、4.5-10 mg；4mg、4.5mg、5mg、5.5mg、6mg、6.5mg、7mg、7.5mg、8mg、8.5mg、9mg、9.5mg或10mg；較佳係4.5mg、5mg、6mg、7.5mg、8mg、9mg或10mg；更佳係5-9mg、6.5-8.5mg、7-8mg或7.5 mg。

【0311】 在另一個實施例中，本發明之化合物可根據本發明給藥，其中本發明之化合物與皮質類固醇一起給藥。較佳地，皮質類固醇係地塞米松。

【0312】 皮質類固醇可以與本發明之化合物一起每日給藥。給藥可以係按次序的、同時的或連續的。皮質類固醇可於給藥本發明化合物後之幾天內進一步給藥。例如，對於3天給藥方案，皮質類固醇可以於第1-3天給藥，然後每天進一步給藥3、4、5、6、7、8、9或10天或更多天。

【0313】 在一個具體實施例中，皮質類固醇可以於第1-3天以靜脈注射給藥，然後於第6-10天以口服給藥。在另一個實施例中，皮質類固醇之劑量於與本發明化合物之共同給藥階段期間可以更高，並且於隨後天數裡降低。

【0314】 具體劑量時間表包括：

- 於第1天至第3天靜脈注射（IV）1.5mg/天普立肽以及6.6mg/天鹽酸地塞米松，然後從第4天到第10天口服（PO）/IV 6 mg/天地塞米松直至第10天（取決於醫生根據患者臨床狀況和病情進展之判斷）。
- 於第1天至第3天靜脈注射（IV）2.0 mg/天普立肽並靜脈注射6.6mg/天地塞米松，然後從第4天到第10天口服（PO）/IV 6 mg/天地塞米松直至第10天（取決於醫生根據患者臨床狀況和病情進展之判斷）。

- 於第1天至第3天靜脈注射（IV）2.5mg/天普立肽並靜脈注射6.6mg/天地塞米松，然後從第4天到第10天口服（PO）/IV 6 mg/天地塞米松直至第10天（取決於醫生根據患者臨床狀況和病情進展之判斷）。

【0315】 在一個實施例中，為了避免與給藥相關之輸液反應，患者可以於開始注射根據本發明之化合物之前20至30分鐘接受以下藥物：

- 昂丹司瓊8mg IV（或等同藥物）
- 鹽酸苯海拉明25mg IV（或等同藥物）
- 雷尼替丁50mg IV（或等同藥物）
- 地塞米松6.6mg靜脈注射（包括於上述時間表中）

【0316】 另外，於第4天和第5天，用本發明化合物治療之患者可PO接受每天兩次之昂丹司瓊4mg。

【0317】 地塞米松、昂丹司瓊和雷尼替丁之劑量在此以鹼形式係為基礎進行定義。鹽酸苯海拉明之劑量以鹽酸鹽係為基礎給出。本發明化合物之劑量基於鹼形式給出。

【0318】 日劑量可以注射給藥。注射可以係1小時注射、1.5小時注射、2小時注射、3小時注射或更長時間。較佳地，注射係為1.5小時。

【0319】 在某些實施例中，可根據使用負荷劑量和維持劑量之方案來給藥劑量。根據本發明之負荷/維持劑量包括：

第1天2.5mg之負荷劑量，隨後幾天2mg/天之維持劑量；

第1天2.5mg之負荷劑量，隨後幾天1.5mg/天之維持劑量；

第1天2.5mg之負荷劑量，隨後幾天1mg/天之維持劑量；

第1天2.5mg之負荷劑量，隨後幾天0.5mg/天之維持劑量；

第1天2mg之負荷劑量，隨後幾天1.5mg/天之維持劑量；

第1天2mg之負荷劑量，隨後幾天1mg/天之維持劑量；

第1天2mg之負荷劑量，隨後幾天0.5mg/天之維持劑量；

第1天1.5mg之負荷劑量，隨後幾天1mg/天之維持劑量；

第1天1.5mg之負荷劑量，隨後幾天0.5mg/天之維持劑量；以及

第1天1mg之負荷劑量，隨後幾天0.5mg/天之維持劑量。

【0320】 根據另一實施例，日劑量可於方案之最後一天或多天減少。

【0321】 根據另一實施方式，如果日劑量係為2mg，則劑量可於第4天和第5天減少至1mg。

【0322】 具體之治療方案包括：

-1mg普立肽，注射1.5小時，每天一次，連續5天。(總劑量5mg)；

-2mg普立肽，注射1.5小時，每天一次，連續5天。根據研究人員之判斷，第4天和第5天之劑量可以減少到1mg/天（總劑量8-10mg)；

-1.5mg普立肽，注射1.5小時，每天一次，連續3天。(總劑量4.5mg)；

-2mg普立肽，注射1.5小時，每天一次，連續3天。(總劑量6mg)；以及

-2.5mg普立肽，注射1.5小時，每天一次，連續3天。(總劑量7.5mg)。

單劑量方案包括：

- 給藥普立肽，注射1.5小時，第1天一次，劑量係為1-10mg、4-10mg、4.5-10mg、4mg、4.5mg、5mg、5.5mg、6mg、6.5mg、7mg、7.5mg、8mg、8.5mg、9mg、9.5mg或10mg，較佳為4.5 mg、5mg、6mg、7.5 mg、8mg、9mg或10mg，更佳為5-9 mg、6.5-8.5 mg、7-8mg或最佳為7.5 mg。
- 單劑量方案可於注射普立肽前20-30分鐘更包括以下預防性藥物：

  -靜脈注射鹽酸苯海拉明25mg，

  -靜脈注射雷尼替丁50mg，

  -靜脈注射地塞米松6.6mg，

  -靜脈注射昂丹司瓊8mg，緩慢注射15分鐘。

- 服用普立肽後，可每12小時口服昂丹司瓊4mg，持續3天，以減輕藥物引起的噁心和嘔吐。如果於早晨給予普立肽，患者可以於下午接受第一劑量昂丹司瓊。

【0323】 根據另外之實施例，可以基於臨床參數和/或患者特徵選擇患者用於使用普立肽之治療。合適參數可以係本申請中揭露之測量。

【0324】 上述方案和劑量適用於根據本發明之治療方法、用途、以及本文所定義之化合物於製備本文所定義之藥物之用途。

【0325】 於本發明之另一方面，提供了降低受試者或得自受試者之樣品或細胞培養物中之一種或多種促炎細胞因子之表達和/或分泌之方法，該方法包括給藥本文定義之化合物。

【0326】 於本發明之另一方面，提供了增加受試者或得自受試者之樣品或細胞培養物中之巨噬細胞激活之方法，該方法包括給藥本文定義之化合物。

【0327】 在實施例中，本發明係關於根據本發明使用之化合物，其中該化合物與一或多種以下預防性藥物組合給藥：鹽酸苯海拉明、雷尼替丁、地塞米松、昂丹司瓊。特別地，靜脈注射25mg一或多種鹽酸苯海拉明或等同藥物；靜脈注射50mg雷尼替丁或等同藥物；靜脈注射8mg地塞米松；靜脈注射8mg昂丹司瓊或等同藥物，並緩慢注射15分鐘。患者可於注入普立肽前20-30分鐘接受該預防性藥物。靜脈注射8mg地塞米松可以係產生6.6mg地塞米松鹼之磷酸地塞米松。

【0328】 為了提供更簡潔之描述，本文給出的一些定量運算式沒有限定術語“約”。應理解，無論係否明確使用術語“約”，本文給出的每一量均意指實際給定值，且其還意指將基於本領域技術人員合理地推斷之對該給定值之近似值，包括該給定值之實驗和/或測量條件導致之等效物和近似物。

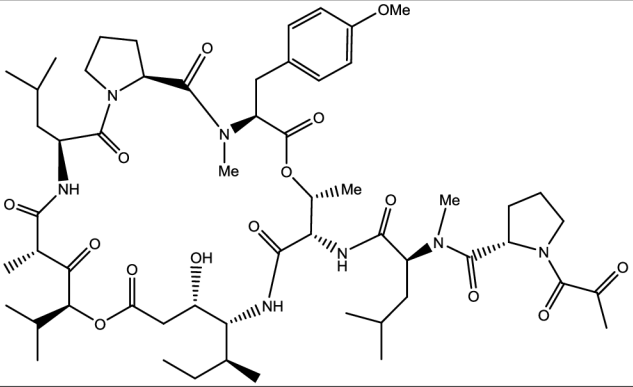
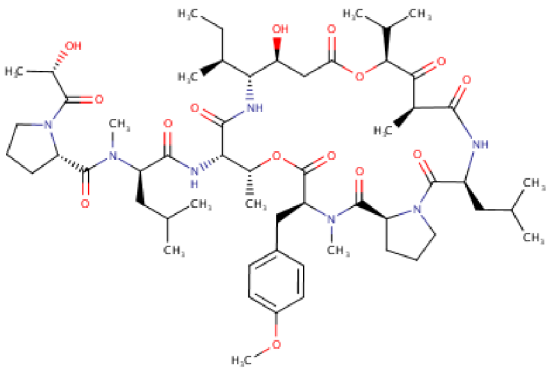
【0329】 雖然上述揭露提供了對包含於本發明範圍內之主題（包括製造和使用本發明之方法及其最佳模式）之概述，但是提供以下實施例以進一步使本領

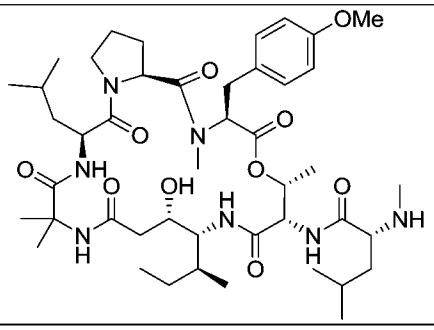
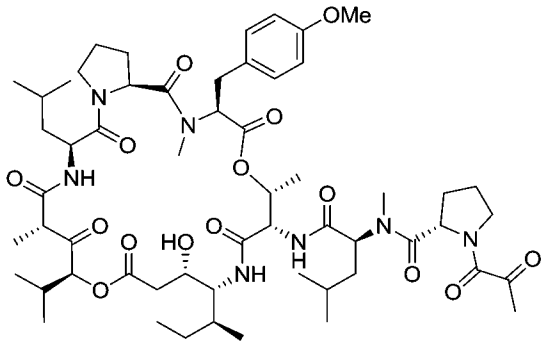
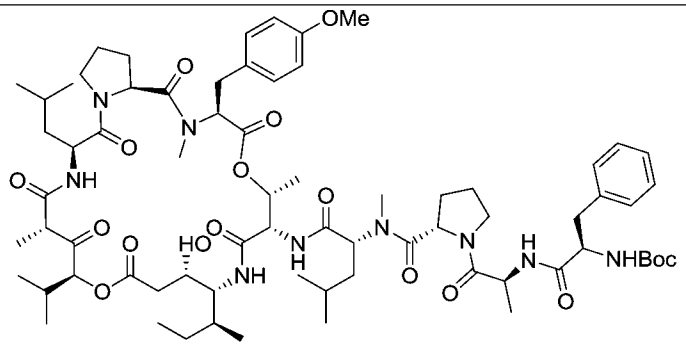
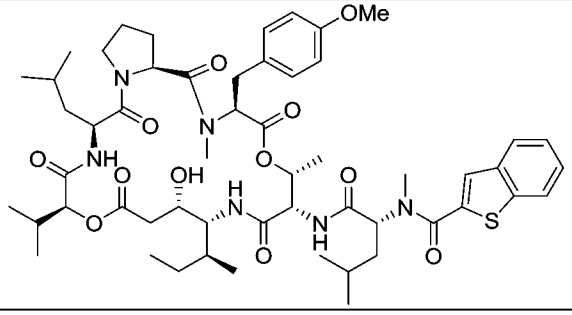
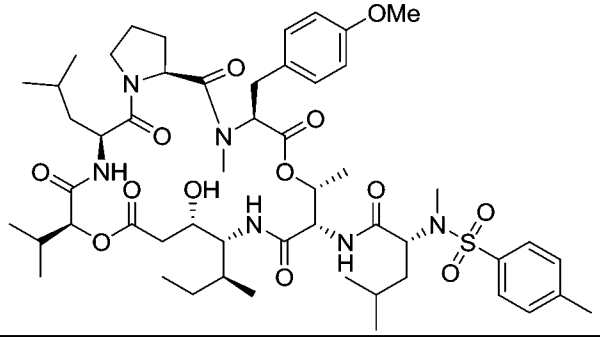
域技術人員能夠實踐本發明並提供完整之書面描述。然而，本領域技術人員將認識到，這些實施例之細節不應理解為對本發明之限制，本發明之範圍應從本揭露之申請專利範圍及其等同藥物中理解。鑒於本揭露，本發明之各種進一步之方面和實施例對於本領域技術人員將係顯而易見的。

示例

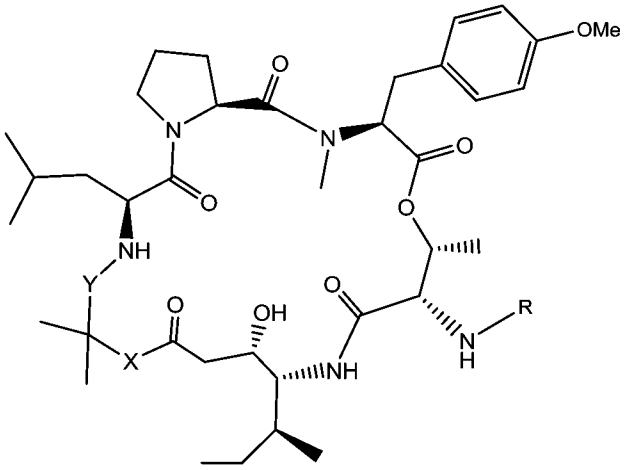
【0330】 本發明之化合物可根據文獻中所述方法獲得，例如：Vera 等人. Med. Res. Rev. 2002, 22(2), 102-145, WO 2011/020913 (具體見示例 1-5), WO 02/02596, WO 01/76616, 以及WO 2004/084812，這些內容藉由引用結合於此。

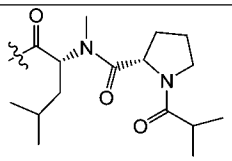
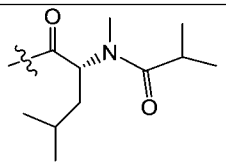
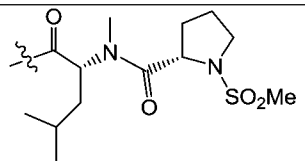
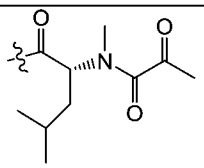
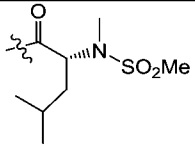
【0331】 在本發明之實驗中使用之具體化合物係：

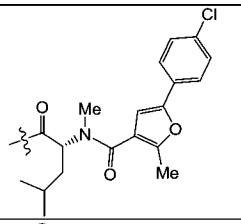
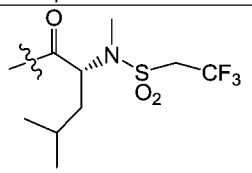
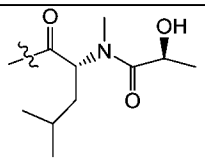
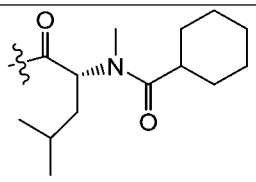
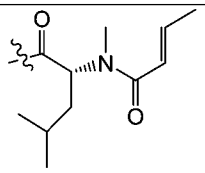
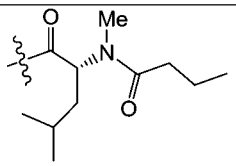
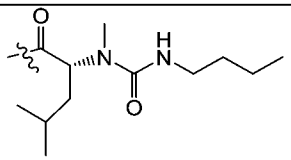
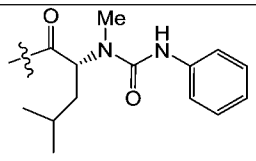
化合物	結構
PLD	
膜海鞘素B（化合物240）	

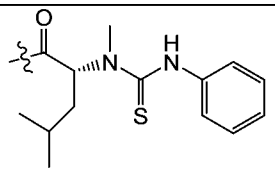
化合物3	
化合物8	
化合物9	
化合物10	
化合物11	

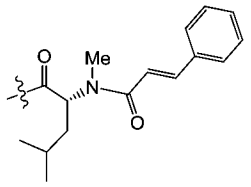
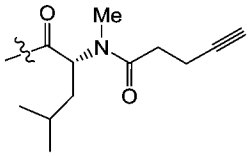
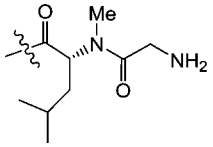
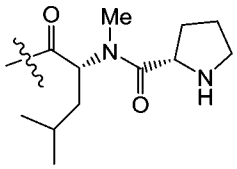
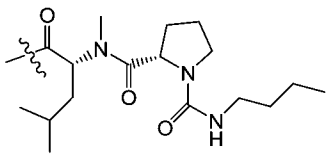
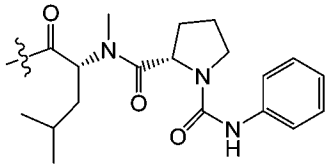
【0332】 按照WO02/02596和說明書中描述之方法，以及於前面之實施例中進一步揭露的，可得到下列化合物：

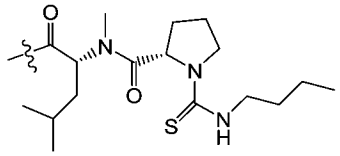
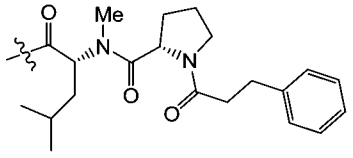
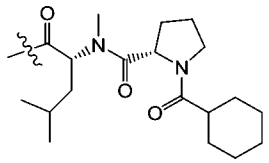
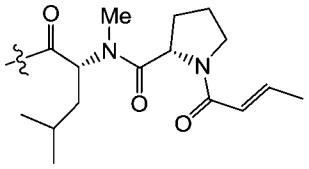


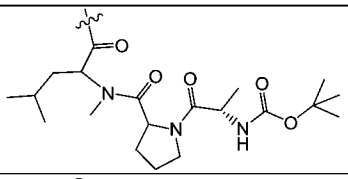
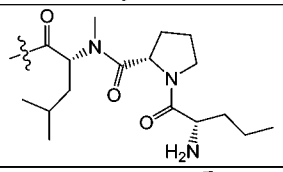
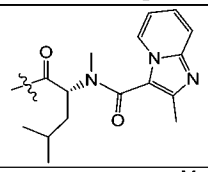
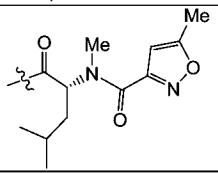
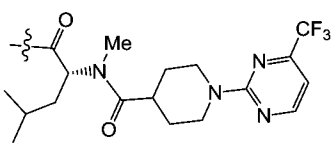
化合物	X	Y	R
12	O	CO	
13	NH	CO	
14	O	-COCH（CH_3）CO-	
15	NH	-COCH（CH_3）CO-	
16	O	CO	
17	NH	CO	
18	O	-COCH（CH_3）CO-	
19	NH	-COCH（CH_3）CO-	
20	O	CO	
21	NH	CO	
22	O	-COCH（CH_3）CO-	
23	NH	-COCH（CH_3）CO-	
24	O	CO	
25	NH	CO	
26	O	-COCH（CH_3）CO-	
27	NH	-COCH（CH_3）CO-	
28	O	CO	
29	NH	CO	
30	O	-COCH（CH_3）CO-	
31	NH	-COCH（CH_3）CO-	
32	O	CO	

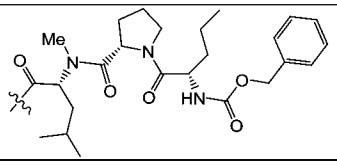
化合物	X	Y	R
33	NH	CO	
34	O	-COCH（CH_3）CO-	
35	NH	-COCH（CH_3）CO-	
36	O	CO	
37	NH	CO	
38	O	-COCH（CH_3）CO-	
39	NH	-COCH（CH_3）CO-	
40	O	CO	
41	NH	CO	
42	O	-COCH（CH_3）CO-	
43	NH	-COCH（CH_3）CO-	
44	O	CO	
45	NH	CO	
46	O	-COCH（CH_3）CO-	
47	NH	-COCH（CH_3）CO-	
48	O	CO	
49	NH	CO	
50	O	-COCH（CH_3）CO-	
51	NH	-COCH（CH_3）CO-	
52	O	CO	
53	NH	CO	
54	O	-COCH（CH_3）CO-	
55	NH	-COCH（CH_3）CO-	
56	O	CO	
57	NH	CO	
58	O	-COCH（CH_3）CO-	
59	NH	-COCH（CH_3）CO-	
60	O	CO	
61	NH	CO	
62	O	-COCH（CH_3）CO-	
63	NH	-COCH（CH_3）CO-	

化合物	X	Y	R
64	O	CO	
65	NH	CO	
66	O	-COCH（CH_3）CO-	
67	NH	-COCH（CH_3）CO-	

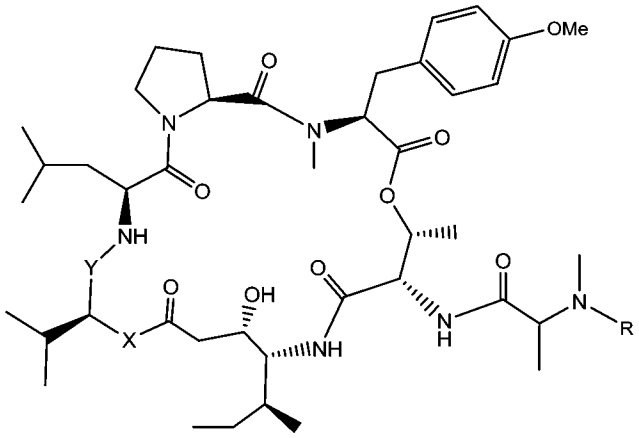
化合物	X	Y	R
68	O	CO	
69	NH	CO	
70	O	-COCH（CH_3）CO-	
71	NH	-COCH（CH_3）CO-	
72	O	CO	
73	NH	CO	
74	O	-COCH（CH_3）CO-	
75	NH	-COCH（CH_3）CO-	
76	O	CO	
77	NH	CO	
78	O	-COCH（CH_3）CO-	
79	NH	-COCH（CH_3）CO-	
80	O	CO	
81	NH	CO	
82	O	-COCH（CH_3）CO-	
83	NH	-COCH（CH_3）CO-	
84	O	CO	
85	NH	CO	
86	O	-COCH（CH_3）CO-	
87	NH	-COCH（CH_3）CO-	
88	O	CO	
89	NH	CO	
90	O	-COCH（CH_3）CO-	
91	NH	-COCH（CH_3）CO-	
92	O	CO	
93	NH	CO	

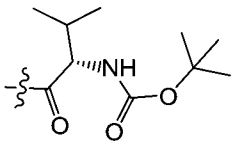
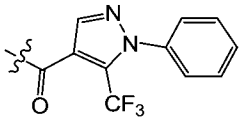
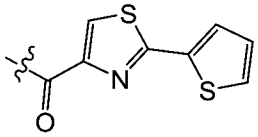
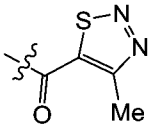
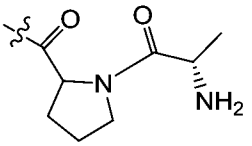
94	O	-COCH（CH_3）CO-	
95	NH	-COCH（CH_3）CO-	
96	O	CO	
97	NH	CO	
98	O	-COCH（CH_3）CO-	
99	NH	-COCH（CH_3）CO-	
100	O	CO	
101	NH	CO	
102	O	-COCH（CH_3）CO-	
103	NH	-COCH（CH_3）CO-	
104	O	CO	
105	NH	CO	
106	O	-COCH（CH_3）CO-	
107	NH	-COCH（CH_3）CO-	

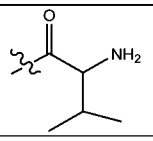
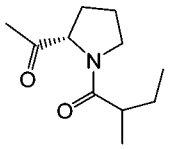
化合物	X	Y	R
108	O	CO	
109	NH	CO	
110	O	-COCH（CH_3）CO-	
111	NH	-COCH（CH_3）CO-	
112	O	CO	
113	NH	CO	
114	O	-COCH（CH_3）CO-	
115	NH	-COCH（CH_3）CO-	
116	O	CO	
117	NH	CO	
118	O	-COCH（CH_3）CO-	
119	NH	-COCH（CH_3）CO-	
120	O	CO	
121	NH	CO	
122	O	-COCH（CH_3）CO-	
123	NH	-COCH（CH_3）CO-	
124	O	CO	
125	NH	CO	
126	O	-COCH（CH_3）CO-	
127	NH	-COCH（CH_3）CO-	
128	O	CO	
129	NH	CO	

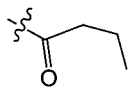
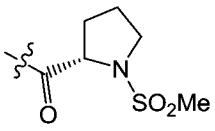
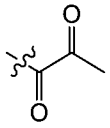
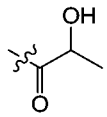
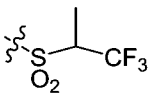
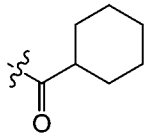
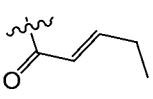
130	O	-COCH（CH_3）CO-	
131	NH	-COCH（CH_3）CO-	

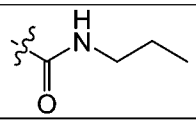
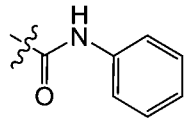
【0333】 按照WO 02/02596和說明書中描述之方法，以及於前面之實施例中進一步揭露的，可得到下列化合物：

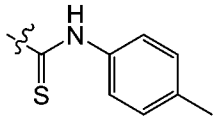
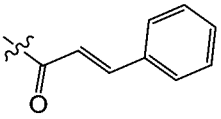
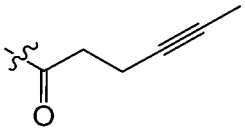
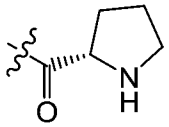
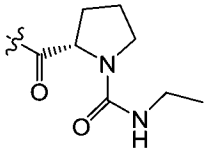
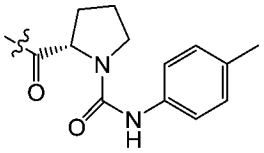
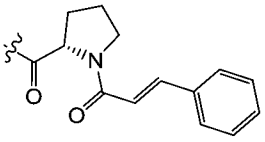
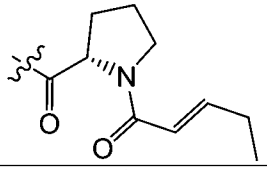
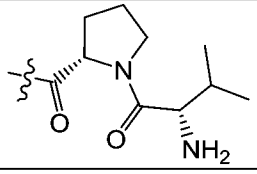


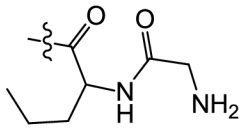
化合物	X	Y	R
132	O	CO	
133	NH	CO	
134	O	-COCH（CH_3）CO-	
135	NH	-COCH（CH_3）CO-	
136	O	CO	
137	NH	CO	
138	O	-COCH（CH_3）CO-	
139	NH	-COCH（CH_3）CO-	
140	O	CO	
141	NH	CO	
142	O	-COCH（CH_3）CO-	
143	NH	-COCH（CH_3）CO-	
144	O	CO	
145	NH	CO	
146	O	-COCH（CH_3）CO-	
147	NH	-COCH（CH_3）CO-	
148	O	CO	
149	NH	CO	
150	O	-COCH（CH_3）CO-	
151	NH	-COCH（CH_3）CO-	
152	O	CO	
153	NH	CO	
154	O	-COCH（CH_3）CO-	

化合物	X	Y	R
155	NH	-COCH（CH_3）CO-	
156	O	CO	
157	NH	CO	
158	O	-COCH（CH_3）CO-	
159	NH	-COCH（CH_3）CO-	

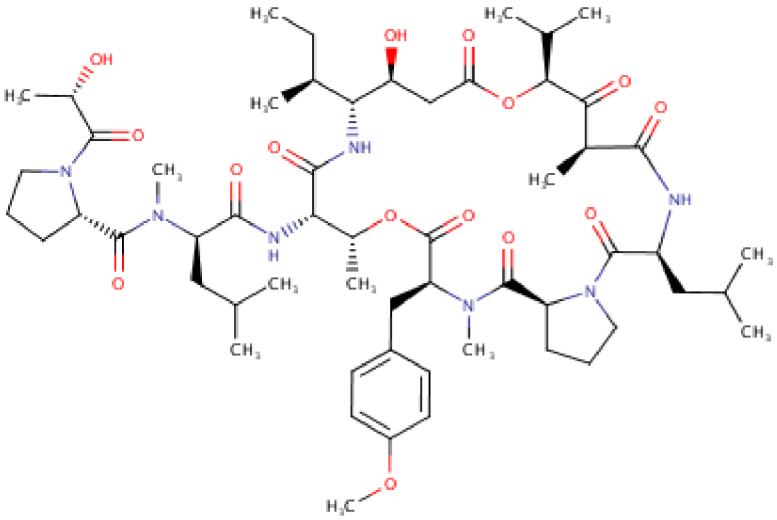
化合物	X	Y	R
160	O	CO	
161	NH	CO	
162	O	-COCH（CH_3）CO-	
163	NH	-COCH（CH_3）CO-	
164	O	CO	
165	NH	CO	
166	O	-COCH（CH_3）CO-	
167	NH	-COCH（CH_3）CO-	
168	O	CO	
169	NH	CO	
170	O	-COCH（CH_3）CO-	
171	NH	-COCH（CH_3）CO-	
化合物	X	Y	R
172	O	CO	
173	NH	CO	
174	O	-COCH（CH_3）CO-	
175	NH	-COCH（CH_3）CO-	
176	O	CO	-SO_2Me
177	NH	CO	
178	O	-COCH（CH_3）CO-	
179	NH	-COCH（CH_3）CO-	
180	O	CO	
181	NH	CO	
182	O	-COCH（CH_3）CO-	
183	NH	-COCH（CH_3）CO-	
184	O	CO	
185	NH	CO	
186	O	-COCH（CH_3）CO-	
187	NH	-COCH（CH_3）CO-	
188	O	CO	
189	NH	CO	
190	O	-COCH（CH_3）CO-	
191	NH	-COCH（CH_3）CO-	
192	O	CO	
193	NH	CO	

194	O	-COCH（CH_3）CO-	
195	NH	-COCH（CH_3）CO-	
196	O	CO	
197	NH	CO	
198	O	-COCH（CH_3）CO-	
199	NH	-COCH（CH_3）CO-	

化合物	X	Y	R
200	O	CO	
201	NH	CO	
202	O	-COCH（CH_3）CO-	
203	NH	-COCH（CH_3）CO-	
204	O	CO	
205	NH	CO	
206	O	-COCH（CH_3）CO-	
207	NH	-COCH（CH_3）CO-	
208	O	CO	
209	NH	CO	
210	O	-COCH（CH_3）CO-	
211	NH	-COCH（CH_3）CO-	
化合物	X	Y	R
212	O	CO	
213	NH	CO	
214	O	-COCH（CH_3）CO-	
215	NH	-COCH（CH_3）CO-	
216	O	CO	
217	NH	CO	
218	O	-COCH（CH_3）CO-	
219	NH	-COCH（CH_3）CO-	
220	O	CO	
221	NH	CO	
222	O	-COCH（CH_3）CO-	
223	NH	-COCH（CH_3）CO-	
224	O	CO	
225	NH	CO	
226	O	-COCH（CH_3）CO-	
227	NH	-COCH（CH_3）CO-	
228	O	CO	
229	NH	CO	
230	O	-COCH（CH_3）CO-	
231	NH	-COCH（CH_3）CO-	
232	O	CO	
233	NH	CO	
234	O	-COCH（CH_3）CO-	
235	NH	-COCH（CH_3）CO-	

236	O	CO	
237	NH	CO	
238	O	-COCH（CH_3）CO-	
239	NH	-COCH（CH_3）CO-	

【0334】 另一種化合物係化合物240，稱為膜海鞘素B，其結構如下所示：



例1

【0335】 如圖1所示，PLD於體外抑制NF-κB之轉錄。

【0336】 我們檢驗了普立肽係否調節NFκB之轉錄活性。為此，我們利用了用NFκB螢光素酶報告質粒穩定轉染之THP-1細胞。我們用100ng/mL之TNFα（NF-κB激活劑）、500μg/mL之聚肌胞苷酸（poly I:C）(TLR3配體)、10μg/mL之LPS-B5(TLR4配體)或10μg/mL之雷西莫特（Resiquimod）(TLR-7/8配體)處理細胞。化合物單獨使用（圖1A灰色條）或與100nM普立肽（圖1A黑色條）組合使用6小時，並定量每種條件下之螢光素酶活性。於每種TLR配體存在之情況下，普立肽明顯抑制了螢光素酶之產生，表明於藥物存在下，NF-κB之轉錄被抑制。用MTT法分析存活情況(圖1B灰色條(激活劑)和紅色條(激活劑與100nM普立肽結合))。未檢測到細胞毒效應。

【0337】 如圖2所示，PLD還於體外抑制人單核細胞中之促炎細胞因子IL-1、IL-6、IL-8和TNF-α之分泌。

【0338】 為了研究了普立肽對TLR誘導之細胞因子分泌之抑制作用，用100ng/mL之TNFα(NF-κB激活劑)、500μg/mL之poly I:C(TLR3配體)、10μg/mL之LPS-B5(TLR4配體)或10μg/mL之雷西莫特(TLR-7/8配體)處理THP-1細胞。化合物單獨使用(灰色條)或與100nM普立肽組合使用(紅色條)6小時。我們藉由ELISA測定比較不同處理之間細胞培養物上清液中細胞因子分泌之變化。如圖2所示，poly I:C、LPS和雷西莫特誘導IL-1、IL-6、IL-8和TNF-α之分泌。此外，普立肽明顯抑制IL-1、IL-6、IL-8和TNF-α之產生。TNF-α不能促進IL-1和IL-6之分泌。THP-1細胞可能需要其他TNF-α暴露次數才能分泌這些細胞因子。而且，於TNF-α刺激之細胞中，普立肽不能降低IL-8和TNF-α。這係因為我們測量了分泌到細胞培養基中之TNF-α和加入到細胞培養基中之TNF-α。因此，用TNF-α治療掩蓋了分泌TNF-α之水準。

【0339】 於每種TLR配體存在之情況下，普立肽素明顯抑制促炎細胞因子IL-1、IL-6、IL-8之分泌。

【0340】 於進一步之體外實驗中，研究了普立肽(APL)預處理對THP-1細胞之影響。使用THP-1 NFκB luc line，於用2.5或5 μg/mL之雷西莫特（RQ）刺激前8小時添加1、10或50nM APL或DMSO（0.2%）。RQ係TLR7/8激動劑，模擬ssRNA。於24時測量細胞因子或細胞活力之水準。如圖50所示，PLD預處理抑制了促炎細胞因子：RQ誘導IL-6、IL-8、IL-1β和TNF-α之分泌。值得注意地，於測定之任何2個RQ濃度下，PLD之加入都不會降低未處理之對照組之活力。雖然RQ本身確實表現出一定程度之劑量相關毒性，但這種作用不會因培養物中PLD之存在而增加，因此細胞因子產生之變化與RQ誘導之輕微細胞毒性無關。

例2

【0341】 如圖3所示，於分離自BAL（支氣管肺泡灌洗液）之小鼠中，PLD抑制促炎細胞因子IL-6、IL-8和TNF-α之體外分泌。

【0342】 我們檢驗了普立肽係否抑制肺泡巨噬細胞中LPS誘導之細胞因子分泌。為此，小鼠靜脈內注射普立肽(1mg/kg)或載體，並於給藥12小時後收集支氣管肺泡灌洗液(BAL)。細胞接種並用15μg/mL LPS-B5離體或不離體處理3或6小時，並測量分泌之細胞因子。可以看出，LPS誘導IL-6、IL-10和TNF-α之分泌(灰色條)。此外，於用普立肽處理之動物中，藥物明顯抑制LPS（紅條）誘導之促炎細胞因子IL-6和TNF-α之產生，並導致整體之抗炎效果。

【0343】 這於圖51中進一步示出。於用普立肽處理之動物中，普立肽能夠顯著減少LPS-B5於3小時和6小時於從支氣管肺泡灌洗液分離之CD45+細胞中誘導之IL-6、IL-10和TNFα之分泌。這種效應與細胞活力無關，如圖51（b）所示。

【0344】 我們進一步檢驗了普立肽係否抑制BALF中雷西莫特(RQ)誘導之細胞因子分泌。於用雷西莫特鼻內接種50μg/小鼠之前1小時，將小鼠靜脈內注射普立肽(1mg/kg)或載體。於鼻內給藥RQ後1或3小時收集支氣管肺泡灌洗液(BALF)。細胞接種並測量分泌之細胞因子。可以看出，RQ於給藥後1小時和3小時都誘導TNFα之分泌。*體內*給藥PLD阻止了TNFα產生之增加。如圖52所示，RQ於給藥後1小時和3小時都誘導TNFα分泌 。體內給藥PLD可防止TNFα產生之增加。

【0345】 我們還檢驗了普立肽對肺泡巨噬細胞募集之影響。激活之單核細胞衍生之巨噬細胞藉由釋放大量之促炎細胞因子而促成COVID-19細胞因子風暴。用流式細胞儀對支氣管肺泡灌洗液細胞進行染色和分析。普立肽可降低支氣管肺泡灌洗液中巨噬細胞之比例，無細胞毒效應。

例3

【0346】 如圖4所示，小鼠單次iv給藥後，PLD減少了BAL中巨噬細胞之數

量。

【0347】 為了研究普立肽係否降低急性炎症動物之肺泡巨噬細胞百分比，我們用普立肽(1mg/kg)i.v、於無菌生理鹽水中之LPS(20μg/kg)i.p和普立肽(1mg/kg；i.v.)結合LPS(20μg/kg,i.p.)處理小鼠。三小時後，收集支氣管肺泡灌洗液。藉由離心獲得支氣管肺泡灌洗液細胞，並藉由流式細胞術進行分析（圖4b）。上圖顯示了對樣品中存在之巨噬細胞群體進行分析之策略。右下圖顯示以細胞百分比表示之相同結果。左下圖顯示CD45+(白細胞標記物)活細胞之百分比。可以看出，LPS誘導肺泡巨噬細胞之募集。用普立肽處理可降低支氣管肺泡灌洗液中巨噬細胞之百分比，而無細胞毒效應。

例4

【0348】 如圖5所示，PLD分佈於小鼠（於藥理學模型中使用之非臨床物種）肺部。此外，於非臨床物種和患者中亦實現了類似之血漿暴露（plasma exposure）。

【0349】 於任何取樣時間，肺中普立肽之濃度始終高於血漿中普立肽之濃度，小鼠、大鼠和倉鼠之肺與血漿比（計算係為$^{lung}AUC_{0-\infty}/^{plasma}AUC_{0-\infty}$）分別為133、460和909，因此證實了普立肽於肺中之分佈。

【0350】 表1

物種（性別）	應變	劑量†（mg/kg）	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{0-\infty}$（ng·h/mL）	$t_{1/2}$ (h)	Cl (L/h/kg)	Vd_{ss} (L7kg)
小鼠（F）	C57BL6/J	1.0[a]	50.7	225.3	18.2	4.4	101.8
人（M/F）	-	0.135[b]	29.1	256.0	20-80	0.7-0.9	29-33
	-	0.02[c]	8.5[d]	174.0[d]	-	-	-

F，女；M，男。

†**方案：**

— 非臨床物種：單次靜脈推注。

— 患者：靜脈輸液3小時。

[a]最大耐受劑量。

[b]根據推薦劑量5 mg/m2、3小時輸注或9.5 mg/患者計算。

[c]相當於1.5mg/患者，這係APLICOV中使用之劑量(於第1、2和3天注射1小時)。

[d]根據普立肽之群體PK模型（CPR/2016/01）評估，每天3次1.5 mg/患者劑量。

人體表面積，1.9。

人體重量，60公斤

材料與方法

轉錄螢光素酶法。

【0351】 按照製造商之說明，使用Bright Glo ™螢光素酶檢測系統檢測NF-κB轉錄。將用NF-κB-Luc質粒(含有4個NF-κB結合位點、1個最小啟動子和1個螢光素酶基因)穩定轉染之NF-κB報告基因(Luc)-THP-1人單核細胞暴露於100ng/mL TNFα(陽性對照組)、500μmg/mL poly(I:C)（Polyinosinic–polycytidylic聚肌胞苷酸）、10μg/mL LPS-B5(大腸桿菌055:B5之脂多糖)或10μg/mL雷西莫特。化合物單獨使用或與100nM普立肽結合使用6小時。於Perkin-Elmer EnVision reader中測量發光。同時進行MTT(3-(4，5-二甲基噻唑-2-基)-2，5-二苯基溴化四唑)細胞增殖實驗以控制化合物之細胞毒性。細胞存活以對照組細胞生長之百分比表示。所提供之資料係一式三份進行之三個獨立實驗之平均值。

分泌細胞因子之ELISA檢測

【0352】 如上所述地處理THP1-NFκB-LUC細胞培養物，並且於處理後6小時取樣培養基以藉由ELISA測定分泌之細胞因子。介質樣品（media sample）儲

存在4℃下。用高度特異和敏感之ELISA試劑盒定量分泌到培養基中之IL-8、IL-1β、IL-6和TNF-α蛋白。人IL-1b、人IL-6、人IL-8和人TNF OptEIA™ ELISA試劑盒獲自BD Biosciences，並按製造商所述進行。所提供之資料係一式三份進行之三個獨立實驗之平均值。

MTT法

【0353】 將細胞接種於96孔微量滴定板中，並於上述處理之前於37℃和5%CO2下放置24小時。連續處理6小時後，藉由將MTT轉化為其有色反應產物MTT甲臢來評估細胞活力，MTT甲臢被溶解以測量其於540nm之吸光度。這裡提供之資料代表了一式三份進行之一系列三個獨立實驗。

“體內”和“離體”處理。

【0354】 將小鼠隨機分成待接受治療之五隻動物之組。給小鼠靜脈注射(i.v.)普立肽(1mg/kg)，給藥後12小時安樂死。對照組用生理鹽水(聚氧乙烯蓖麻油（Cremophor）/乙醇/水)稀釋之普立肽載體。收集各組支氣管肺泡灌洗液（BAL），離心得到支氣管肺泡灌洗液細胞。細胞經歷紅細胞裂解(Roche)，接種，並用15μg/mL之LPS-B5進行離體或不進行離體處理3或6小時。分泌之細胞因子使用高度特異性和敏感之ELISA試劑盒測量。小鼠IL-6、小鼠IL-10和小鼠TNF DuoSet ELISA試劑盒獲自R&D Systems，並如製造商所述進行。這裡提供之資料係來自一系列三個獨立實驗之代表。

動物炎症模型。

【0355】 將小鼠隨機分為待接受治療之兩隻動物之組。小鼠接受普立肽(1mg/kg)(靜脈注射，i.v.)、於無菌生理鹽水中之LPS(20μg/kg)(腹膜內，i.p.)、或普立肽與LPS(20μg/kg,i.p.)結合。對照組接受用鹽水稀釋之普立肽載體(Cremophor/乙醇/水)。三小時後，對動物實施安樂死並收集支氣管肺泡灌洗液(總共1.2ml，PBS)。藉由離心獲得支氣管肺泡灌洗液細胞並藉由流式細胞術分析。

這裡提供之資料係來自一系列三個獨立實驗之代表。

【0356】 於另一種炎症模型中，將小鼠隨機分成接受治療之兩隻動物之組。小鼠靜脈內(i.v.)接受1mg/kg之普立肽，1小時後接受雷西莫特(50μg/小鼠，鼻內)。對照組接受用鹽水稀釋之普立肽載體(Cremophor/乙醇/水)。1小時和3小時後，對動物實施安樂死，收集支氣管肺泡灌洗液（總量係為1.2ml，PBS），然後用ELISA試劑盒定量TNFα。這裡提供之資料係來自一系列三個獨立實驗之代表。

巨噬細胞之流式細胞術分析。

【0357】 用抗F4/80-BV510、CD45-APC700、CD11b-BV650、CD11c-APC-Fire、CD24-PC7和Ly6C-BV605單克隆抗體（Biolegend）和LIVE/DEAD ™可固定之綠色死細胞染色試劑盒對支氣管肺泡灌洗液細胞進行染色，用於488nm激發（ThermoFisher）。將巨噬細胞(F4/80+)門控（gated）於活免疫細胞(CD45+ LIVE/DEAD dye-)上，而將肺泡巨噬細胞(F4/80+ CD24-)特異性門控於來自活免疫細胞之CD11c+ CD11b-群上。同型對照（isotype control）和補償微球（compensation bead）用於設定補償和門控策略。

例5：本發明化合物之抗病毒活性已於HIV中得到證實。

【0358】 於預先用PHA+ IL-2激活之MT-2细胞和PBMC中進行重组病毒測定。用從293t細胞獲得之上清液感染細胞，該293t細胞用全長感染性HIV-1質粒：pNL4.3-Luc（X4嗜性病毒）、pNL4.3-Renilla（X4嗜性病毒，能够進行多輪復製）、pNL4.3-Δenv-Luc加pVSV-env（用VSV之G蛋白假型化之HIV）或pJR-Renilla（R5嗜性病毒，能够進行多輪復製）轉染。將来自不同感染供體之病毒之*pol*基因克隆到NL4.3-Renilla中獲得抗性病毒。病毒9D攜帶以下突變：41L、67N、70R、98G、118I、184V、215F、219Q、74I和病毒4D：K65R、K70R、V75I、F77L、F116Y、Q151M、M184I、L10I。然后於96孔微板中進行檢測，該微板接種100μl，每孔含有250.000（PBMC）或100.000（MT-2）細胞。將待測試

化合物以50至0.0016μg/mL（100μl/孔）之濃度添加到培養物中。最後，用轉染上述不同質粒獲得之上清液感染細培養物。48小時後，除去細胞培養物上清液，並按照製造商之說明用螢光素酶（Luciferase）測定系統或海腎（Renilla）測定系統(均来自Promega)溶解細胞，於光度計(Berthold檢測系統)中測量Luciferase-Renilla活性。所有實驗用用載體(DMSO)處理之細胞和未處理之細胞控制。

【0359】 HIV-1复制抑制藉由测量光度计中萤光素酶-海肾活性或RLU（相对光单位）之降低来评估，係未处理细胞之感染之100%。

【0360】 化合物3（图6A和6B）於MT-2细胞和PBMC中都显示出抗病毒活性（IC_{50}分別係为1.39μM和0.16μM）。这种化合物於PBMC中毒性更大，如图6所示。MT-2细胞於57.3μM时未达到毒性浓度，而於PBMCS中，CC_{50}值约係为27μM。

【0361】 化合物8(圖7A和7B)於MT-2細胞和PBMC中亦顯示出抗病毒活性。雖然濃度係為50μM時係非特異性的，但於10μM時係特異性的，IC_{50}值低100倍。

【0362】 化合物9（图8A和图8B）、10（图9A和图9B）和11（图10A和图10B)係所有测试化合物中最有效之化合物。化合物9、10和11於PBMC中显示出纳摩尔范围内之IC_{50}值(分别係为0.63、0.86和69.4nM)，并且它们係文献中存在之体外抗病毒化合物中最有效的。

例6：本發明化合物對冠狀病毒科之抗病毒活性已得到證實。

【0363】 於用HCoV-229E感染之Huh-7细胞(人肝癌细胞係)中测试本发明化合物之抗病毒活性。HCoV-229E具有与SARS-COV-2非常相似之繁殖和传播机制。事实上，HCoV-229E之N蛋白与SARS-CoV-2中之同源N蛋白具有大於90%之蛋白同源性。所有冠状病毒都需要其N(核衣壳)蛋白与EF1A结合，以便有效地复制和合成病毒蛋白。减少或消除N与EF1A之结合降低了病毒传播之活

力。

【0364】 於下表2中列出之本发明化合物於DMSO中重构，并於-20℃下储存。

【0365】 以0.01pfu之moi(感染复数)用HCoV-229E-GFP病毒感染於M96孔板中生长至融合（grown to confluence）之Hu-7细胞(人肝癌细胞係)。病毒原液（virus stock）係为HCoV-229E-GFP（2013年1月31日起），3x10^7 pfu/ml。

【0366】 於8hpi(hours post infection，感染后之小时)，用具有合适之化合物稀释液(DMSO终浓度2%)之培养基替换培养基，遵循以下方案：

表2

	1	2	3	4	5
A（圖11-15）	50nM	5nM	0.5nM	5nM	0.5nM
B（圖16-19）	50nM	5nM	0.5nM	0.5nM	
C（圖20-23）	50nM	5nM	0.5nM	0.5nM	
D（圖24-26）	50nM	5nM	0.5nM		
E（圖27-29）	50nM	5nM	0.5nM		
F（圖30-33）	50nM	5nM	0.5nM	0.5nM	

A＝DMSO(對照)；B＝化合物240(膜海鞘素B)；C＝PLD；D＝化合物9；E＝化合物10；F＝PLD

【0367】 24hpi观察到荧光细胞。照片係使用自动係统获得的。用4%PFA固定细胞30分钟，用PBS洗涤，用PBS中1:200之DAPI对细胞核染色20分钟RT。绿色图像显示GFP标记之小瓶颗粒。蓝色图像显示DAPI染色之细胞核。

【0368】 短时间内，以0.01pfu/细胞之感染复数（MOI），用3x10^7pfu/ml之病毒接种物感染Huh-7融合培养物，8小时后，加入浓度係为0.5nM至50μM之普立肽。将含有普立肽之培养物温育48小时，然后藉由荧光测量病毒活力。所获得之结果显示出浓度低至0.5nM（0.555μg/l）（远低於其他抗病毒药物）之普立肽

诱导之抗病毒效果。

【0369】 顯示本發明之化合物於測試濃度範圍內係有效之抗病毒劑，同時保持細胞活力。

例7

【0370】 進行了一項多中心、隨機、平行和概念驗證研究，以評估需要住院治療之COVID-19患者中三劑普立肽之安全性。研究細節可藉由ClinicalTrials.gov標識符：NCT04382066獲得。

【0371】 本研究之主要目的係確定根據提議的給藥方案於COVID-19入院患者中給藥之每個劑量水準下之普立肽之安全性和毒理學特性。

【0372】 次要目標係藉由以下指標評估以建議劑量水準對COVID-19患者使用普立肽之療效：自基線之SARS-CoV-2病毒載量之變化；PCR陰性檢測到SARS-CoV-2之時間；疾病嚴重程度之累積發生率（評估依據：死亡率；對有創機械通氣和/或ICU入院之需要；對無創機械通氣之需要；對氧氣治療之需要）和普立肽II/III期療效研究之推薦劑量水準之選擇。

【0373】 研究中包括的患者以1:1:1:1之比例隨機接受：

- 組A）1.5mg普立肽，1.5小时注射給藥，每天一次，連續3天（總劑量4.5mg）。
- 組B）2.0mg普立肽，1.5小时注射給藥，每天一次，連續3天（總劑量6.0mg）。
- 組C）2.5mg普立肽，1.5小时注射給藥，每天一次，連續3天（總劑量7.5mg）。

【0374】 所有患者於注入普立肽前20-30分鐘接受以下預防性藥物治療：

- 靜脈注射25mg鹽酸苯海拉明或等同藥物。
- 靜脈注射50mg雷尼替丁或等同藥物。

- 靜脉注射地塞米松6.6mg。
- 靜脉注射8mg昂丹司琼或等同藥物，缓慢注射15分鐘。

【0375】 包括於研究中之患者接受為期3天之治療。

【0376】 提供粉末形式的普立肽用於濃度為2mg/小瓶之用於注射之濃縮溶液。於使用前，用4ml重構溶液重構小瓶以獲得無色至淺黃色之溶液，該溶液包含0.5mg/ml普立肽、25mg/ml甘露醇、0.15ml/ml聚乙二醇甘油蓖麻油（macrogolglycerol ricinoleate oil）、0.15ml/ml乙醇和0.70ml/ml注射用水。於注射前，應於任何合適之靜脈溶液中進行額外稀釋。

【0377】 2毫克普立肽裝於一個I型透明玻璃瓶中，玻璃瓶帶有一個用鋁密封覆蓋之溴丁基橡膠塞。每瓶含2毫克普立肽。

【0378】 於I型無色玻璃小瓶中提供用於重構聚乙二醇甘油蓖麻油（聚乙二醇35蓖麻油）/無水乙醇/注射用水15%/15%/70%（v/v/v）之溶劑。安瓿之體積係為4毫升。

【0379】 普立肽將被標記研究方案代碼、批號、內容物、有效期、儲存條件、研究人員和發起人之名稱。研究藥物將按照《European Good Manufacturing Practices》附件13進行標記。普立肽應儲存在2℃和8℃之間，小瓶應保存在外紙箱中，以保護它們免受光照。該藥物於這些條件下穩定60個月。

【0380】 在用4ml用於重構聚乙二醇甘油蓖麻油酸酯/乙醇/水之溶液重構2mg普立肽小瓶後，應當將重構之溶液稀釋並於製備後立即使用。如果不立即使用，使用者應負責儲存時間和使用前條件。重構後之藥物之濃縮溶液於冷藏條件下（5℃±3℃）下物理、化學和微生物穩定24小時，於室溫下於室內光照下儲存在原小瓶中6小時。如果於給藥前需要儲存，溶液應冷藏儲存，避光，並應於重構後24小時內使用。

血漿濃度

【0381】 第34圖顯示了1.0mg和2.0mg日劑量（D1-D5）後總血漿普立肽濃度曲線對時間之模擬。水準黑線表示體外相當於IC50、IC90和3xIC90之與肺中之濃度相關之總血漿濃度。對於兩種劑量水準（1.0mg和2.0mg），於整個治療期間將獲得高於IC50之血漿濃度，並且於大部分給藥間隔期間將保持高於IC90。經過五次重複給藥後之積累係最小的。

【0382】 另一個劑量方案係每天1.5mg，持續5天。另一種方案如第35圖所示，其模擬了與初始固定劑量（flat dose）相關之普立肽總血漿濃度，1小時靜脈注射給予1mg（第1天），隨後係0.5mg（D2-D5）日劑量。於該劑量方案中，於整個治療期間，普立肽血漿濃度保持於IC50以上，且於分別注射1mg和0.5mg劑量後18和14小時期間保持於IC90以上。值得注意地，預計於反復給藥後積累最少。該方案於治療第一天提供1mg之普立肽之負荷劑量，1小時靜脈注射，隨後維持劑量係為0.5mg，每日一次，持續4天。

【0383】 第36圖示出了於1.5mg、2.0mg和2.5mg日劑量（D1-D3）之後總血漿普立肽濃度曲線相對時間之模擬。水準黑線表示體外相當於IC50、IC90和3xIC90之與肺中濃度相關之總血漿濃度。對於所有三個劑量水準（1.5mg、2.0mg和2.5mg），於整個治療期間將獲得高於IC50之血漿濃度，並且於大部分給藥間隔期間將保持高於IC90。三次重複用藥後之積累很少。

中期結果

【0384】 到目前為止，有9名患者資料。於基線、第4天、第7天和第15天和第31天藉由PCR評估病毒載量之情況下，PLD以90分鐘靜脈注射每天給藥，持續3天（第1-3天）。

【0385】 **患者1**-50歲男性，雙側肺炎。接受PLD 1.5mg x 3。PCR COVID 19檢測：基線陽性，到第4天轉化為陰性（無病毒載量）。急性臨床好轉。第7天出院。因此，PLD 1.5mg x 3於第4天去除病毒載量。PLD獲得了急性臨床改善，

包括消除所有病毒負荷和治療雙側肺炎，以便於第7天出院。

【0386】 **患者2**：40歲男性，雙側肺炎。接受PLD 1.5mg x 3。到第六天，缺乏改善，並過渡到瑞德西韋（Remdesivir）+TOL+皮質固醇+阿片類藥物。第15天PCR轉為陰性，第19天出院。

【0387】 **患者3**：53歲男性，雙側肺炎。接受PLD 1.5mg x 3。PLD防止了臨床惡化。第10天出院，第31天PCR轉為陰性。

【0388】 **患者4**：42歲男性，雙側肺炎。接受PLD 2.0 mg x 3。需要激素治療。PCR COVID 19檢測：基線時係為陽性，第7天仍係為陽性。到第15天，患者PCR陰性，如第42a圖所示。患者於第10天充分康復出院。

【0389】 **患者5**：33歲女性，雙側肺炎。接受PLD 1.5mg x 3。PCR COVID 19檢測：基線陽性，到第4天轉化為陰性（無病毒載量），如第42b圖所示。雙側肺炎於第6天消失（正常Rx肺）。臨床有重大改善。第8天出院。X射線顯示肺炎消退，如第39a-c圖所示。雙側肺炎如第39a圖所示。在用PLD治療後，於第6天觀察到改善。層狀肺不張（Laminar atelectasis）如第39b圖所示。第15天之後續x射線顯示恢復正常，第39c圖。PLD 1.5mg x 3於第4天去除病毒載量。PLD取得了重大臨床改善，包括消除了所有病毒負荷，治療了雙側肺炎，使第8天出院。

【0390】 **患者6**：69歲女性，症狀嚴重之COPD。登記時有單側肺炎。接受PLD 1.5mg x 3。PCR COVID 19檢測：基線陽性，到第7天轉化為陰性（無病毒載量），如第42c圖所示。出現重大臨床改善。患者於第8天出院。X射線顯示肺炎進展，如第40a-c圖所示。單側肺炎於第40a圖中表現明顯，於第40b圖中發展係為雙側肺炎。於第40c圖中，可以看到改善。PLD取得了重大臨床改善，包括消除所有病毒負荷和治療肺炎，如第40d圖所示，使第8天出院。

【0391】 **患者7**：39歲女性，肺部浸潤。接受PLD 2.0 mg x 3。PCR COVID19檢測：基線陽性，到第7天轉化為陰性（無病毒載量），如第42d圖所示。PLD治

療後，取得了重大臨床改善。第8天出院。

【0392】 **患者8**：32歲男性。接受PLD 1.5mg x 3。無法評估療效，第4天出院。

【0393】 **患者9**：34歲男性。接受PLD 2.0 mg x 3。PCR COVID 19檢測：基線時係為陽性，第7天仍係為陽性。然而，到第8天重大臨床改善並出院。

C-反應蛋白試驗

【0394】 亦進行了PLD對患者5、7和9之炎性細胞因子之影響之測量，C反應蛋白測試之結果如第41圖所示。對於患者5（第41a圖），於給藥PLD後，於第2天出現急性下跌。患者7（第41b圖）和9（第41c圖）於服用PLD後，於第3天出現急性下跌。這些資料證明了PLD之抗炎特性。

討論

【0395】 對COVID-19患者之PLD臨床試驗之初步結果進一步證明了PLD於治療SARS-CoV-2感染和COVID-19方面之顯著特性。

【0396】 8名可評價患者中有6名顯示SARS-CoV-2 PCR轉化為陰性，PCR轉化之中位時間係為7天（4-31）。PLD對CoV感染，即SARS-CoV-2之抗病毒特性，於臨床上被證明完全消除了病毒負荷。

【0397】 值得注意地，於目前測試之9名患者中，由於服用PLD，沒有一名患者需要機械通氣或ICU入院，研究中沒有死亡。8名可評價患者中有6名PDL誘導疾病控制和重大臨床改善，其中8名患者中只有2名需要後PLD特異性抗COVID 19治療。出院之中位時間係為8天(7-19天)。這些結果表明PLD對於SARS-CoV-2感染和COVID-19以及由SARS-CoV-2感染引起之肺炎係有效之療法。

【0398】 對第一組1.5mg和2mg之特別分析證實，於給藥劑量下之PLD係有效的，實現了急性改善和完全疾病控制。注意到絕大多數患者之病毒負荷都完全消除。

結果

【0399】 研究完成後，45名因COVID 19住院之患者隨機接受每天1.5、2.0和2.5mg之普立肽之治療，持續3天。治療於所有3個劑量組中之耐受性都很好。由出院率評估之治療結果由基線時之疾病嚴重程度和病毒載量決定。於整個劑量組中，100%（9/9）之輕度疾病患者、82%（23/28）之中度疾病患者和57%（4/7）之重度疾病患者於第15天出院。於整個劑量組中，基線時之病毒載量中值係為6.2（0至10.6）log_{10} copies/mL，到第7天達到病毒載量之平均減少係為-3.1 log_{10}copies/mL，到第15天達到-4.5log_{10} copies/mL。

【0400】 這項研究係一項1期、多中心、開放標籤研究，其中45名因COVID 19治療而住院之患者被隨機分為3個劑量組，包括1.5、2.0和2.5mg普立肽，每天一次1.5小時靜脈注射，連續3天。本研究之主要目的係根據（1）採用美國國家癌症研究所（NCI）《不良事件通用術語標準》（CTCAE）5.0版標準，於第3、7、15和31天出現 ≥ 3級治療期間出現之不良事件（TEAE）之頻率，（2）無法完成治療之患者百分比和原因，（3）第3、7、15和31天出現TEAE和SAE之患者百分比，（4）第3天、第7天、第15天和第31天之血液學和非血液學參數基線變化，以及（5）第2天、第3天、第4天、第5天、第6天、第7天、第15天和第31天出現心電圖異常之患者百分比，確定各劑量水準下之安全性和毒理學特徵。第二個目標係選擇關鍵研究之推薦劑量。

【0401】 協議規定之安全性終點之結果總結如下：

- 等級≥3AE：只有31%（14/45）患者出現等級≥3AE，只有2名患者出現與治療相關之等級≥3AE：於第一次普立肽注射過程中發生過敏反應各1例，導致停止治療，1例腹瀉，對普立肽治療沒有影響。與主要由COVID 19感染引起之等級≥ 3AE相一致，等級≥ 3AE之患病率於很大程度上反映了每個組中嚴重疾病患者之百分比，其中2.5mg組患病率最高（26.7%

嚴重疾病患者，40.0%等級≥3AE），1.5mg組百分比較低（13.3%嚴重疾病患者，33.3%等級≥3AE），2.0mg組百分比最低（6.7%之嚴重疾病患者，20.0%等級≥3AE）。除1例等級≥3ALT升高外，其餘均未發生特別關注事件。

- 無法完成治療之患者：只有1例患者未能完成普立肽治療。
- 嚴重不良事件（SAE）患者：共有10名患者經歷了SAE，包括6名1.5mg劑量、1名2.0mg劑量和3名2.5mg劑量。除1例過敏反應外，其餘均與COVID 19感染有關。
- 不良事件（AE）患者：對於任何報告之不良事件，沒有發現與劑量相關之趨勢，最常報告之不良事件（不包括感染）與接受單藥普立肽之晚期血液惡性腫瘤和實體腫瘤患者之安全性一致，包括胃腸道便秘疾病（癌症和COVID 19患者分別為29%比18%）、腹瀉（31%比18%）、噁心（64%比42%）、嘔吐（38%比18%）、乏力/疲勞之體質症狀（83%比13%）和發熱（28%比47%）。
- 實驗室參數變化：儘管大約一半患者（51%）之血液學參數變化≥1級，大多數患者（89%）化學參數變化≥1級，但很少有患者出現>1級變化。就血液學參數而言，6例患者之淋巴細胞減少症加重2～3級，2例中性粒細胞減少症加重2級。就化學參數而言：5例ALT升高2～3級2例，AST升高2～3級，2例GGT升高2～3級，1例CPK升高2級。

【0402】 基於這些發現，結論係，普立肽治療具有良好耐受性，並且不可能檢測到所研究3個劑量之間之安全性差異。

COVID 19患者之療效-

【0403】 共有44名患者之療效可評估；於1.5mg組中，有1名患者於首次注射普立肽時出現過敏反應，已停止治療，療效不可評估。協議規定之療效終點之

結果於3個劑量組中顯示了相同結果（表3）。治療結果受基線疾病嚴重程度和病毒載量之影響。與這些發現一致，最近一項研究表明，SARS-CoV-2病毒載量與疾病嚴重程度和死亡率增加有關。於整個劑量組中，100%（9/9）輕度疾病患者於第15天出院，而82%（23/28）中度疾病患者和57%（4/7）重度疾病患者出院。

終點	劑量組			
	1.5mg N=14[A]	2.0mg N=15	2.5mg N=15	總的 N=44
出院患者		n（%）		
第8天	6（42.9）	9（60.0）	10（66.7）	25（56.8）
第15天	11（78.6）	14（93.3）	11（73.3）	36（81.8）
第31天	13（92.9）	14（93.3）	13（86.7）	40（90.9）
死亡率（第1天到				
第7天	0	0	0	0
第15天	0	0	0	0
第31天）	1（7.1）	0	1（6.7）	2（4.5）
需要有創機械通氣和/或ICU入院患者（第1天到				
第7天	2（14.3）	1（6.7）	2（13.3）	5（11.4）
第15天	2（14.3）	1（6.7）	3（20.0）	6（13.6）
第31天）	2（14.3）	1（6.7）	3（20.0）	6（13.6）
需要無創機械通氣患者（從第1天到				
第7天	3（21.4）	0	1（6.7）	4（9.1）
第15天	3（21.4）	0	2（13.3）	5（11.4）
第31天）	3（21.4）	1（6.7）	2（13.3）	6（13.6）
需要ICU入院患者（從第1天到				
第7天	2（14.3）	1（6.7）	2（13.3）	5（11.4）
第15天	2（14.3）	1（6.7）	3（20.0）	6（13.6）
第31天）	2（14.3）	1（6.7）	3（20.0）	6（13.6）
需要氧氣治療患者				
第7天	10（71.4）	10（66.7）	11（73.3）	31（70.5）
第15天	4（28.6）	1（6.7）	4（26.7）	9（20.5）
第31天	0	2（13.3）	1（6.7）	3（6.8）
病毒載量之平均變化（從基線到[B]		log_{10} copies/mL		
第4天	-1.58	-1.92	-2.16	-1.90
第7天	-3.39	-2.69	-3.21	-3.07
第15天	-5.47	-3.62	-4.40	-4.48
第31天）	-6.06	-4.71	-5.20	-5.27
從基線到檢測不到病毒載量之平均時間，天	7	13	12	11

表3研究APLICOV-PC中協議規定之療效終點匯總表

縮寫：ICU=重症監護病房

A：於第一次注射普立肽過程中出現過敏反應之患者已停止治療，其療效不可評價

B：根據39名患者結果：1名患者錯過了基線病毒載量評估，4名患者基線病毒載量低於定量極限，儘管於加入前48小時內進行了陽性聚合酶鏈反應檢測

收益-風險考慮因素

【0404】 於APLICOV-PC研究中，大多數患者（84%）患有輕度至中度疾病，82%之患者於第15天出院。由於呼吸功能之進行性惡化和細胞因子釋放綜合征之發展通常於症狀出現後平均10天發生，因此認為第15天之出院率終點反映了威脅生命之併發症之成功改善。

【0405】 事後分析表明，藉由出院率評估之治療反應與基線疾病嚴重程度和病毒載量相關。於整個劑量組中，100%（9/9）輕度疾病患者於第15天出院，而82%（23/28）中度疾病患者和57%（4/7）重度疾病患者出院。

【0406】 於APLICOV-PC研究中，中值基線病毒載量為6.1$\log_{10}$ copies/mL，到第15天，觀察到病毒載量平均減少-4.2 $\log_{10}$。這些結果支持這樣的結論，即普立肽減少病毒複製。

【0407】 考慮到與藥物相關之等級≥3AE之低發生率和第15天之高出院率，以及到第15天基線病毒載量平均減少4.2-$\log_{10}$（中度疾病患者被報告減少-3.0-log），證明普立肽對治療COVID 19感染住院患者有積極的獲益風險。

例8

【0408】 於使用vero細胞之體外測定中進一步證實了普立肽對抗SARS-CoV-2之活性。

病毒和細胞

【0409】 SARS-CoV-2獲自韓國疾病控制和預防中心（KCDC）。Vero細胞

從美國典型培養物保藏中心（(ATCC CCL-81）獲得。

藉由免疫螢光法進行劑量反應曲線（DRC）分析

【0410】 化合物分別用DMSO和Ampolla（聚氧乙烯蓖麻油:乙醇:水（15:15:70））於20點濃度(20-point concentrations)下用兩倍連續稀釋法製備。細胞接種後24小時，於細胞中以最高濃度5uM處理化合物。一小時後，將板轉移到BSL-3安全設施中進行病毒感染，並以0.0125之感染複數（MOI）加入SARS-CoV-2。板於37℃下培養24小時。用4%多聚甲醛（PFA）固定細胞24hpi用於透化（permeabilization）。處理抗SARS-CoV-2核衣殼（N）1抗體和488綴合之山羊抗兔IgG 2抗體到細胞，並將Hoechst 33342處理以染色細胞用於免疫螢光分析。使用內部軟件分析用Operetta（Perkin Elmer）獲得之圖像以量化細胞數和感染率，並將抗病毒活性標準化為每個測定板中陽性（空白對照（mock））和陰性（0.5%DMSO）對照。

【0411】 DRC藉由S形劑量-反應模型，利用以下方程：Y=Bottom + (Top Bottom)/(1 + (IC_{50}/X)Hillslope)，使用XLfit 4軟件或Prism7擬合。從標準化活性資料集擬合曲線計算IC_{50}值。所有IC_{50}和CC_{50}值一式兩份測量，並且每個測定質量由Z'因子和百分比變異係數（%CV）控制。

【0412】 劑量-反應曲線如第37A-C圖所示（三次重複）。藍色方塊表示對病毒感染抑制(%)，紅色三角形表示細胞活力(%)。由重複實驗計算平均值±SD。於所有實驗中未觀察到藥物之細胞毒效應（圓圈）之濃度下，普立肽能夠抑制病毒誘導之致細胞病變效應（方塊）。於本實驗中，普立肽之IC_{50}係為0.0033-0.0039μM，而CC_{50}係為0.178-0.431μM，SI係為49.95-129.92。

例9

【0413】 於使用vero細胞之不同體外測定中進一步證實了普立肽對抗SARS-CoV-2之活性。

細胞培養

【0414】 Vero E6細胞（ATCC CRL-1586）於Dulbecco改良之Eagle培養基（DMEM；Lonza）中培養，該培養基補充了5%胎牛血清（FCS；EuroClone）、100U/mL鏈黴素和2mM穀氨醯胺（均為ThermoFisher Scientific）。

病毒分離、滴定和測序

【0415】 從鼻咽拭子中分離SARS-CoV-2病毒，該拭子從89歲男性患者收集，該患者給予知情同意，並於樣品收集前用倍泰龍和羥氯喹治療2天。將拭子收集於3mL培養基（Deltaswab VICUM）中以降低粘度，並於-80℃下儲存直至使用。Vero E6細胞以1.5x10^6細胞於細胞培養瓶（25cm^2）中過夜，然後用1mL處理樣品接種，於37℃和5%CO_2下培養1小時。然後，提供4mL補充了2%FCS之DMEM，並將細胞孵育48小時。收集上清液，於200 x g下離心10分鐘以去除細胞碎片，並於-80℃下儲存。每天評估細胞病變效應，並使用SARS-CoV-2 UPE、RdRp和N測定對上清進行病毒RNA提取和特異性RT-qPCR（Corman等人，2020年）。病毒繁殖兩代，製備病毒原液，收集Vero E6上清液。

【0416】 使用Indimag病原體試劑盒（Indical Biosciences）直接從病毒儲備中提取病毒RNA，並使用PrimeScript ™ RT試劑盒（Takara，使用oligo-dT和hexamer引物，根據製造商協定）將病毒RNA轉錄成cDNA。使用SWIFT擴增子SARS-CoV-2板（Swift Biosciences）進行DNA文庫製備。測序準備好的文庫，然後載入到Illumina MiSeq平臺和300bp雙端測序試劑盒上。對序列讀數（sequence reads）進行質量過濾，並使用trimmomatic修剪銜接子引物序列。使用cutadapt去除擴增引物序列。然後使用bowtie2工具繪製序列讀數相對冠狀病毒參考序列（NC_045512.2）的圖(Langmead, B. and Salzberg, S, 2012)。使用samtools以18x1800x879平均覆蓋度進行比對，得到共有基因組序列。基因組序列以登錄ID EPI_ISL_510689保藏於GISAID儲存庫（http://gisaid.org）。

化合物

【0417】 於1/5連續稀釋下使用濃度範圍為100μM至0.0512nM的普立肽，並於1/3稀釋下測定濃度範圍為100μM至0.5nM的普立肽。

抗病毒活性

【0418】 向Vero E6細胞中加入濃度漸增之普立肽以及$10^{1.8}$ $TCID_{50}$/mL SARS-CoV-2，濃度$10^{1.8}$ $TCID_{50}$/mL達到50%之細胞病變效應。未暴露之細胞用作感染之陰性對照。為了檢測任何藥物相關之細胞毒效應，於存在增加之藥物濃度但不存在病毒之情況下，同樣培養Vero E6細胞。於感染後3天使用CellTiter-Glo發光法細胞活力測定（Promega）測量病毒或藥物之細胞病變或細胞毒效應。於Fluoroskan Ascent FL光度計（ThermoFisher Scientific）中測量發光。

IC_{50}計算與統計分析

【0419】 將反應曲線調整到非線性擬合回歸模型，用具有可變斜率之四參數logistic曲線計算。未暴露於病毒之細胞用作感染之陰性對照並設定為100%活力，並用於標準化資料和計算細胞病變效應百分比。使用一個樣本t檢驗評估與100%之統計差異。所有分析和圖形均使用GraphPad Prism v8.0b軟件生成。

【0420】 第38圖顯示了於存在漸增濃度之普立肽情況下，暴露於固定濃度SARS-CoV-2之Vero E6細胞之細胞病變效應。使用濃度範圍為10μmM至0.5nM之藥物，稀釋度為1/3。示出了來自一個具有兩個重複之代表性實驗之可變反應曲線之非線性擬合（方形）。該實驗之具體IC_{50}值於圖中示出。還示出了於沒有病毒情況下，暴露於漸增濃度之普立肽Vero E6細胞之細胞毒效應（圓圈）。

【0421】 將恒定濃度的SARS-CoV-2與漸增濃度之普立肽混合並加入Vero E6細胞中。為了控制藥物誘導之細胞毒性，還於不存在SARS-CoV-2之情況下用漸增濃度之普立肽培養Vero E6細胞。於沒有觀察到藥物之細胞毒效應之濃度下（灰色圓圈），普立肽能夠抑制病毒誘導之細胞病變效應（紅色方塊）。於具有兩

個重複之兩個實驗中，普立肽之平均IC_{50}值和標準差為0.06±0.02μM。

例10

【0422】 此處之目的是於體內評價普立肽於治療由小鼠適應之A/H1N1流感病毒感染(A/Puerto Rico/8/34)引起之重症肺炎中之效果，以及對病毒滴度水準之影響。

【0423】 實驗裝置：為了實現該目的，我們採用了基於給藥高劑量PR8流感病毒(2x105pfu)之病毒發病機制之體內模型，該PR8流感病毒於肺中產生嚴重感染。然後我們評價了普立肽對小鼠中之嚴重流感病毒感染之治療效果。9周之雌性小鼠藉由腹膜內注射氯胺酮-賽拉嗪溶液（ketamine-xylazine solution）來麻醉，並且藉由將病毒溶液PBS以每鼻孔20ul鼻內給藥來進行感染。

【0424】 接受治療之小鼠皮下注射0.3mg/kg或0.15mg/kg之普立肽。隨後，監測存活情況和體重減輕，直到第3天。於治療期間沒有記錄到死亡小鼠或減重超過起始體重30%之小鼠。

【0425】 呼吸道流感感染之控制係藉由支氣管肺泡灌洗液（BALF）炎症之增強來實現的。圖43顯示了用或不用普立肽治療之受感染小鼠之BALF中之炎症圖形。於主要之促炎細胞因子中,普立肽可顯著降低IL-6、CCL2、IL-1α、IFN-γ和TNF-α之水準。只接受一半劑量藥物之小鼠受保護較少，表現出中間表型（intermediated phenotype）。

【0426】 還評估了肺中之病毒滴度。如圖44所示，於0.3mg/kg和0.15mg/kg時，普立肽可降低肺部病毒滴度。

【0427】 BALF細胞組合物被定義為肺免疫應答病毒感染之標誌物。於流感感染之小鼠中評估與炎性細胞因子水準相關之浸潤細胞之定量測量。用普立肽治療沒有減少BALF之總細胞組合物($CD45^+ \times 10^6$)。如圖45所示，我們還發現肺泡巨噬細胞（AM）浸潤增加，這表明AM有助於病毒清除。

【0428】 總之，這些結果證實了於流感感染之小鼠中連續三次給藥(總劑量係為0.9mg/kg)普立肽可積極地減少炎症，如藉由治療減少早期促炎細胞因子所顯示的。此外，我們檢測到肺泡巨噬細胞絕對數量之增加，這可能表明AM於病毒傳播和保護中起著關鍵作用。我們還觀察到於受高劑量普立肽治療之小鼠之肺中減少之病毒滴度。

例11

【0429】 於本實施例中，研究了於細胞培養物中普立肽對西尼羅病毒傳播之抗病毒活性。

（a） 人肝癌細胞(Huh7)和非洲綠猴腎細胞(Vero-E6)中之重組病毒WNV-GFP(譜係2；分子克隆WN956)。

【0430】 為了確定普立肽對WNV-GFP之抗病毒能力，於存在濃度增加之普立肽（從2.3pM或2.5pg/ml開始，以4.5μ M或5μg/mL係為最高濃度）之情況下，用感染性病毒原液稀釋液（infectious virus stock dilution）接種目標細胞係Vero-E6和Huh7。於病毒已經擴散到載體處理之培養物中之大部分靶細胞後48小時評估感染效率。

【0431】 藉由自動螢光顯微鏡於綠色通道中評估相對感染效率，並且藉由於藍色通道中用DAPI核染色評估總細胞生物量/孔，作為化合物有效劑量以及總化合物細胞毒性之初步評估。

【0432】 如圖46所示，於VeroE6細胞中，WNV-GFP感染效率於5nM左右迅速降低，於36nm及以上達到背景螢光水準。細胞數保持不變直到36nM，但於更高之濃度下顯著降低（180nM；$p<0.05$），表明於36nM以上之濃度下，普立肽干擾細胞複製能力。評估之普立肽於VeroE6細胞中之EC50值係為4.9nM，EC90值係為9.5nM。基於細胞生物量，CC50值係為2330nM。因此，以VeroE6細胞中之CC50/EC50比表示之治療指數係為475。

【0433】 於Huh7細胞中，如圖47所示，感染效率呈劑量依賴性降低，EC50和EC90值分別為0.665nM和3.86nM。這種減少與孔中細胞生物量之平行損失相關，於7.2nm處具有統計顯著性（$p<0.05$），CC50值係為14.7，治療指數22。

【0434】 以上資料表明，於Vero-E6和Huh-7細胞之細胞培養物感染模型中，普立肽均會干擾WNV-GFP繁殖。於一實施例中，於不存在可測量之對細胞活力之干擾之情況下，可以於Huh-7細胞中1.5nM($p<0.05$)和Vero-E6細胞中7.2nM($p<0.05$)下觀察到抗病毒活性。

（b）Huh7人肝癌細胞和非洲綠猴腎細胞(Vero-E6)中具有野生型WNV-NY99基因組之重組病毒(譜係1；分子克隆NY99)。

【0435】 於該實施例中，使用病毒RNA載量作為感染效率之讀數，評估了普立肽對WNV-NY99繁殖之影響。用基於NY99 WNV株之重組病毒接種Vero-E6或Huh-7細胞(MOI 0.01)。感染係於存在於WNV-GFP模型中顯示生物活性(45、15、5、1.5nM；見上文)之載體或一定劑量範圍之普立肽之情況下進行的。將接種之細胞孵育48小時，於該時間處理上清液之樣品，以藉由細胞外感染性滴定來確定感染效率。此外，從對照組細胞和經普立肽處理之細胞中提取總RNA，以確定病毒RNA載量並獨立地評估總病毒感染效率。

【0436】 如圖48所示，細胞外感染性滴度顯示，普立肽之存在強烈干擾了WNV之繁殖，於VeroE6和Huh-7細胞中於45nm處減少>3個數量級。這種現象於兩種細胞係中都係劑量依賴性的。

【0437】 藉由RT-qPCR測定對照組細胞和普立肽處理之細胞中之細胞內WNV RNA載量。值得注意地，如圖49所示，從用45nM普立肽處理之Huh-7細胞中不能回收RNA。然而，於兩個細胞係之其餘樣品組中測定病毒RNA載量。與細胞外感染性滴度顯示之趨勢一致，Vero-E6細胞於15nM和45nM處之病毒RNA載量以劑量依賴性方式顯著降低，而於5nM和1.5nM處之病毒載量與對照組沒有

區別（圖49）。類似地，Huh-7於15nM處病毒載量顯著降低，其幅度以劑量依賴性方式下降。

【0438】 WNV感染繁殖效率資料表明，於高於5nM之劑量下，普立肽於Vero-E6和Huh-7細胞中都干擾病毒複製，儘管於Huh-7細胞中於低濃度下可以觀察到一定程度之干擾。基於用WNV-GFP獲得之資料，使用功能性(感染性)以及分子(RT-qPCR)方法測量總體繁殖效率之結果證實，於預期濃度範圍內，普立肽降低病毒繁殖效率。

【0439】 總之，於兩種感染(WNV-GFP和WNV/NY99)模型中以及於Vero-E6和Huh-7細胞中，用增加劑量之普立肽補充細胞培養基導致WNV繁殖效率之強烈降低。

（c）方法

【0440】 **化合物製備：**將預稱重之固體稀釋至最終之1mg/ml之二甲基亞碸（DMSO）溶液，並於-20℃下等分，直至進一步使用。細胞培養：將亞融合Vero-E6細胞和Huh-7細胞培養物保持於完全培養基[（DMEM，補充10mM HEPES、1x非必需氨基酸（Gibco）、100U/mL青黴素鏈黴素（Gibco）和10%胎牛血清（56℃下熱滅活30分鐘）]中。

【0441】 **病毒：**WNV(NY99)和WNV-GFP重組病毒如前該從克隆之cDNA中拯救（rescue）出來。如前文該，藉由Vero-E6細胞上之空斑測定（plaque assay）來測定原液感染性滴度（Stock infectivity titer）。

【0442】 **第一部分：**WNV-GFP模型

【0443】 感染實驗：將細胞接種到96孔板上(2×104細胞/孔)。第二天，於含2%FCS之完全培養基中製備5倍連續稀釋液，以達到指示之最終濃度。將WNV-GFP原液（WNV-GFP stock）於含有2%FCS之完全培養基中稀釋，以獲得所需之感染複數(MOI 0.01)。將化合物和病毒稀釋液1:1混合並添加到靶細胞上。細胞於

37℃、5% CO2和95%濕度下孵育48小時。於室溫下，加入5X甲醛溶液固定細胞30分鐘，達到4%之最終濃度。按照製造商之建議，用PBS洗滌細胞並用DAPI(4′,6-二脒基-2-苯基吲哚)染色。藉由於自動顯微鏡裝置(Tecan Spark Cyto)中之圖像分析來評估相對感染效率。未感染之細胞和載體處理之對照組包括於每個板中。

【0444】 **第二部分：WNV(NY99)模型**

【0445】 使用1.2 × 105細胞/孔將細胞接種到24孔板上。第二天，用WNV/NY99原液接種細胞以獲得0.01之感染複數(MOI 0.01)和指示之於1ml最終體積中之普立肽濃度。培養物於37℃下保持48小時，收集上清液並於-80℃下保存。藉由將TrizolTM試劑直接加入細胞中並遵循製造商之說明書，從細胞收集總RNA。

【0446】 感染性滴定：使用終點稀釋和免疫螢光顯微鏡，使用抗黃病毒E蛋白之單克隆抗體（4G2; ATCC® HB-112™)測定感染性滴度。簡言之，Huh-7細胞用96孔形式之上清稀釋液接種。感染後48小時，於室溫下用PBS中之4%之甲醛溶液將細胞固定30分鐘，用PBS洗滌兩次，並用結合緩衝液(0.3%Triton X100，PBS中之3%之BSA)孵育1小時。一級抗體（primary antibody）於結合緩衝液中稀釋，並與細胞一起孵育1小時，之後用PBS洗滌細胞，隨後用與Alexa 488(ThermoFisher)綴合之山羊抗小鼠之1:500稀釋液孵育。用DAPI(4′,6-二脒基-2-苯基吲哚;ThermoFisher)作為細胞核染色劑以評估細胞數目。用PBS洗滌細胞，於螢光顯微鏡下測定感染灶數（infection foci number）。

【0447】 反轉錄和qPCR：使用NZYSpeedy One-Step（一步法）qPCR probe master mix，使用製造商之建議和引物（primer），對60ng之總細胞RNA進行RT-qPCR。

【0448】 統計分析：用Excel計算平均值和SEM。使用單向ANOVA和使用IBM-spss之Dunnet事後分析(2尾（2-tails）；α=0.05)比較平均值。

例12　3階段，多中心、隨機、對照試驗，以確定需要住院以治療中度COVID 19感染之成人患者中兩種劑量水準之普立肽相對對照組之效力和安全性

指示：中度COVID 19感染住院患者之治療

目標：

【0449】　主要目標：

- 比較1.5或2.5mg普立肽相對對照組於第8天（±1）實現完全恢復之患者百分比，完全恢復定義係為（i）滿足於世界衛生組織（WHO）臨床進展量表中以下11類之0至2類，（ii）出院時Barthel指數>90/100，（iii）到第31天沒有COVID 19感染

  0：未感染，未檢測到病毒RNA

  1：無症狀，檢測到病毒RNA

  2：有症狀，自主的

  3：有症狀，需要幫助的

  4：住院，無氧氣治療（如果住院僅為隔離，記錄為非臥床患者狀態）

  5：住院，用口罩或鼻塞吸氧

  6：住院，藉由無創通氣（NIV）或高流量供氧

  7：插管和機械通氣，$pO_2/FIO_2 \geq 150$或$SpO_2/FIO_2 \geq 200$

  8：機械通氣$pO_2/FIO_2 < 150$ ($SpO_2/FIO_2 < 200$)或血管加壓

  9：機械通氣$pO_2/FIO_2 < 150$和血管加壓、透析或體外膜肺氧合（ECMO）

  10：死亡

【0450】　本研究之主要次要目標於以下方面比較1.5和2.5mg普立肽與對照組：

- 完成恢復之時間（以天計），定義為第一天，從第1天到後續之第31天，患者（i）滿足上述之WHO臨床進展量表11類中之第0至2類，（ii）出院

時Barthel指數>90/100，（iii）沒有因COVID 19感染而再次入院

- 第8天（±1）之臨床狀況（按11類WHO臨床進展量表評定）

本研究之其他次要目標：

- 安全性和耐受性，基於治療期間出現不良事件（TEAE）、等級≥3 TEAE、嚴重不良事件（SAE）和嚴重不良反應（SARs）
- 於主要終點時兩普立肽組明顯優於對照組之情況下，比較兩普立肽組（1.5mg比2.5mg）之間之療效和安全性/耐受性
- 比較於第8天（±1）天達到完全恢復之患者百分比，如上文所定義，合併之普立肽組與對照組相比
- 每個研究組因COVID 19感染需要重新入院的患者百分比
- 於第4天、第15天和第31天，每個研究組之臨床狀況（藉由11類WHO臨床進展量表評估）
- 每個研究組之氧療持續時間（以天計）
- 於第4天、第8天、第15天和第31天每個研究組中需要高流量氧氣之患者之百分比
- 第4天、第8天、第15天和第31天每個研究組中需要無創機械通氣之患者百分比
- 第4天、第8天、第15天和第31天每個研究組中需要有創機械通氣或ECMO之患者百分比
- 於第4天、第8天、第15天和第31天需要重症監護病房（ICU）入院之各研究組患者百分比
- 每個研究組於ICU住院時間
- 於第4、8、15和31天接受後續抗病毒治療或免疫調節藥物之患者百分比
- 各研究組醫院內感染患者百分比

- 第4天、第8天、第15天和第31天每個研究組死亡率
- 從給藥研究藥物前第1天到第8天，每個研究組嚴重急性呼吸綜合征冠狀病毒2（SARSCoV2）病毒載量之變化（藉由定量聚合酶鏈式反應（qPCR）從口鼻咽分泌物樣本測量）
- 每個研究組中於第8天具有不可檢測的SARSCoV2病毒載量的患者百分比（藉由qPCR從口鼻咽分泌物樣本測量）

【0451】 從基線到第2、3、4、8、15和31天，每個研究組炎性生物標誌物（C反應蛋白[CRP]、乳酸脫氫酶[LDH]、鐵蛋白、白細胞介素[IL]-6、IL-1β、IL-10和腫瘤壞死因子α[TNF α]）的變化

方法/研究設計：

這係一項多中心、開放標籤、對照之三階段研究，需要住院和補充氧氣以治療中度COVID 19感染之成年人將以1:1:1:1隨機分為：

- 1.5mg普立肽組：患者將於第1天至第3天靜脈（IV）接受1.5mg/天普立肽以及6.6mg/天地塞米松，然後從第4天至第10天口服（PO）/IV地塞米松6mg/天（取決於醫生根據患者臨床狀況和進展之判斷）。
- 2.5mg普立肽組：患者將於第1至3天靜脈接受2.5mg/天普立肽以及6.6mg/天地塞米松，然後從第4天到第10天（PO）/IV接受6mg/天地塞米松（取決於醫生根據患者臨床狀況和進展之判斷）。
- 對照組：患者將於第1至3天靜脈接受地塞米松6.6mg/天，然後從第4天到第10天PO/IV接受地塞米松6mg/天（取決於醫生根據患者臨床狀況和進展之判斷）。此外，根據當地治療指南，患者可於第1天靜脈接受瑞德西韋200mg，隨後於第2至第5天靜脈接受100mg/天。

隨機化將分為兩個因素：

- 如果患者被隨機分配到對照組（是與否），則有意使用瑞德西韋；以及

- 嚴重度指標13，14（0-1 vs.>1）

從第1天開始治療起，患者將於醫院被跟蹤至少4天，然後到第31天或到第31天發生消除/穩定TEAE。於第8天之前出院之患者將於第8天和第31天返回門診診所進行評估（附錄5）。

【0452】 一個獨立的資料監察委員會（IDMC）將監督研究之實施（安全性和主要終點），包括根據試驗要求對匯總的安全資料進行分析。

【0453】 納入和排除之診斷和主要標準：

納入標準如下：

1. 於開始任何研究具體方法和研究治療之前獲得的簽字知情同意書
2. 實驗室確認的SARS-CoV-2感染（由當地實驗室藉由定性聚合酶鏈式反應（PCR）從於第1天研究治療前不超過48小時收集的口腔/鼻咽分泌物（或其他呼吸樣本）確定）
3. 入院治療中度SARS-CoV-2（COVID 19）感染，由以下標準定義：
   - SARS-CoV-2 PCR檢測陽性
   - 伴有COVID 19之中度疾病症狀，包括任何輕微疾病或用力呼吸急促之症狀
   - 臨床症狀提示COVID 19之中度疾病，如呼吸頻率每分鐘 ≥20次但<30次，於海平面條件下吸入室內空氣SpO2>93%但<95%，心率 ≥90但<125次/分鐘，需要補充氧氣
   - 無嚴重疾病之臨床症狀，包括休息時呼吸急促或呼吸窘迫
4. 不遲於第1天開始研究治療前6天出現COVID 19症狀
5. 年齡≥18歲之男性或女性
6. 充足之骨髓、肝臟、腎臟和代謝功能，由當地實驗室進行以下測試確定：
   - 中性粒細胞絕對計數≥1000/mm3（1.0 x 109/L）

- 淋巴細胞計數≥500/mm3（0.5 x 109/L）
- 血小板計數≥10萬/mm3（100 x 109/L）
- 血紅蛋白>9.0g/dL
- 丙氨酸轉氨酶(ALT)、天冬氨酸轉氨酶(AST)≤3 x正常上限(ULN)
- 血清膽紅素≤1 x ULN（≤3 x ULN，如果有吉爾伯氏綜合征）
- 計算之肌酐清除率≥30 mL/min（Cockcroft和Gault公式）
- 肌酸磷酸激酶≤2.5 x ULN

7. 同意於第31天之前不參加另一項介入臨床試驗
8. 具有生殖能力之女性必須於研究登記時接受當地實驗室之陰性血清妊娠測試，並且必須係非哺乳期的
9. 有生育潛力之伴侶之女性和男性於接受研究治療時和最後一次服用普立肽後3個月內必須使用有效之避孕措施。

以下係排除標準：

1. 由於COVID 19外之任何原因，基線前（即前一個月）全身健康狀況受損、需要日常生活活動之幫助或慢性氧氣治療之受試者
2. 參與另一項治療COVID 19感染之臨床試驗，或先前參加臨床試驗並正在跟進之患者，或先前接種COVID 19疫苗之患者
3. 隨機化時呼吸衰竭之證據，基於至少需要以下一項資源利用：氣管插管和機械通氣、高流量鼻導管輸送氧氣、無創正壓通氣、ECMO或呼吸衰竭之臨床診斷（即，臨床需要1種前述治療，但於資源限制之情況下不能進行前述治療）
4. 臨床上需要治療SARS-CoV-2（COVID 19）之患者，其基線疾病嚴重程度被評為嚴重（如果藉由標準RT PCR測定或同等測試呈陽性，則症狀提示COVID 19嚴重疾病，包括任何中度疾病症狀或休息時呼吸短促，

或呼吸窘迫，臨床症狀表明患有COVID 19之嚴重系統性疾病，如呼吸頻率 ≥ 30/分鐘，心率≥125/分鐘，於海平面條件下吸入室內空氣SpO2≤93%，或PaO2/FiO2<300）

5. 於登記前4周內接受抗病毒藥物、IL 6受體抑制劑、皮質類固醇或免疫調節藥物治療COVID 19感染之患者
6. 研究登記前4周內之活疫苗接種史；受試者不得於登記前4周內或研究期間任何時間接種活疫苗、減毒流感疫苗
7. 於登記前8周或研究期間接受氯喹或其衍生物治療患者
8. 接受強細胞色素P450 3A4 (CYP3A4)抑制劑或誘導劑治療
9. 需要治療之病毒性疾病（非COVID 19），但已經接受治療並得到充分控制（檢測不到）之人類免疫缺陷病毒感染患者除外
10. 根據篩查時三次心電圖（ECG），使用Fridericia公式校正之QT間期延長男性>450 msec，女性>470 msec
11. 任何類型之等級≥2之預先存在之神經病變
12. 對活性成分或任何賦形劑（甘露醇、聚乙二醇甘油羥基硬脂酸酯和乙醇）過敏。
13. 懷孕女性（篩查時所有有生育潛力之女性都需要血清妊娠試驗陰性）或母乳餵養
14. 有生育潛力之伴侶之女性和男性（沒有手術不孕或絕經12個月以上被定義係為閉經之女性），她們沒有使用至少1種協議規定之避孕方法
15. 研究者認為會危及患者安全或可能影響患者依從性或研究中之安全性/有效性觀察結果之任何其他具有臨床意義的醫學狀況或實驗室異常。

試驗產品、劑量和給藥方式：

【0454】 注射用普立肽裝於含有2mg普立肽粉末之小瓶中。對於給藥，藉

由添加4mL用於普立肽之溶劑來重構小瓶內容物，以獲得含有0.5mg/mL普立肽與甘露醇、聚乙二醇甘油羥基硬脂酸酯和乙醇賦形劑之淺黃色溶液。將所需量之普立肽重構溶液加入到含有0.9%氯化鈉注射液或5%葡萄糖注射液之IV袋中，並於60分鐘內以IV注射形式給藥。

【0455】 為了防止與普立肽相關之輸液反應，所有患者必須於開始普立肽注射前20至30分鐘接受以下藥物：

- 昂丹司瓊8mg靜脈注射（或等同藥物；注：於QT評估[第1至3天]期間，昂丹司瓊係校正QT間期[QTc]子研究中患者之禁用藥物）
- 鹽酸苯海拉明25mg IV（或等同藥物）
- 雷尼替丁50mg IV（或等同藥物）
- 地塞米松6.6mg靜脈注射

【0456】 此外，於第4天和第5天，用普立肽治療之患者必須每天兩次PO接受昂丹司瓊4mg。

參考治療、劑量、劑型和給藥方式：

【0457】 地塞米松：普立肽和對照組患者均於第1天至第3天IV接受6.6mg/天地塞米松，然後從第4天至第10天PO/IV給藥6mg/天地塞米松，直至第10天（取決於醫生根據患者臨床狀況和進展之判斷）。

【0458】 瑞德西韋：根據當地治療指南，隨機分配到對照組之患者可於第1天靜脈注射瑞德西韋200mg，然後於第2至第5天靜脈注射100mg/天。

【0459】 最佳為支援性護理（BSC）：符合國家衛生研究所COVID 19治療指南（www.covid19treatmentguidelines.nih.gov）或其他國家指南之BSC將提供給所有研究參與者。

實施例7. 開放標籤、隨機II階段研究，以評價於從急診部出院之患有COVID-19之成人患者中用普立肽之單線治療（single-line treatment）之安全性和

病毒載量之減少

【0460】 **指示：**輕度COVID 19感染之治療。

【0461】 如果患者出現急性臨床感染（於前5天出現症狀），患者將被納入本研究，其中藉由可以係陽性抗原測試或陽性PCR測試之診斷方法來診斷COVID-19感染。

【0462】 這項研究包括兩個部分：

組A）單劑量7.5 mg普立肽，緩慢注射90分鐘（±10分鐘），並根據參與中心之常規臨床實踐進行對症治療。

組B）根據參與中心之常規臨床實踐進行對症治療。

所有患者於注入普立肽前20-30分鐘接受以下預防性藥物：

-鹽酸苯海拉明25mg i.v，

-雷尼替丁50mg i.v，

-地塞米松6.6mg靜脈注射，

-昂丹司瓊8mg靜脈注射，緩慢注射15分鐘。

昂丹司瓊每12小時口服4mg，持續3天，以減輕藥物引起之噁心和嘔吐。如果於早晨給藥普立肽，患者於下午接受第一劑量昂丹司瓊。

【0463】 該研究將顯示，給予患者單劑量普立肽導致病毒載量減少。這可以表示為於給藥後第6天，複製週期閾值（Ct）大於30（Ct>30）。例如，這項研究將表明，當給藥要從急診科出院之COVID-19感染患者單劑量普立肽時，於出院後第6天表現出病毒載量減少，表示為複製週期閾值（Ct）大於30（Ct>30）。這可以表示為相對於基線之SARS-CoV-2病毒載量減少。這可以表示為給藥後需要住院治療之患者百分比降低。這可以表示為於給藥後需要有創機械通氣和/或進入ICU之患者百分比降低。這可以表現為出現與持續性疾病有關之後遺症之患者減少。這可以表示為被選擇為不良預後標準（包括例如淋巴細胞減少症、LDH、

D-二聚體或PCR）之分析參數正常化患者百分比增加。這可以表示為臨床標準正常化（包括例如：頭痛、發燒、咳嗽、疲勞、呼吸困難（氣短）、關節肌痛或腹瀉發症狀消失）之患者百分比增加。

【0464】 這項研究將表明，使用單劑量普立肽治療可以消除患者第6天之SARS-CoV-2病毒載量，根據複數研究表明，這會導致臨床改善，從而減少併發症，即減少住院、ICU和死亡。除了於短期內改善患者之預後外，病毒載量之降低被認為係其他兩個目標之關鍵。首先，降低無症狀或症狀不明顯之高病毒載量（TC<25）患者，即所謂的超級傳染源之傳染性。其次，減少病毒載量對於避免長期併發症（稱為持續性COVID或長COVID）具有決定性意義。

【0465】 驗證的普立肽群體藥代動力學模型(Nalda-Molina R等，Population pharmacokinetics meta-analysis of plitidepsin (Aplidin) in cancer subjects. Cancer Chemother Pharmacol. 2009 Jun；64(1)：97-108. Doi：10.1007/s00280-008-0841-4)用於確認總血漿濃度將達到估計之肺目標濃度。第53圖顯示了結果，並且可以看出，可以獲得高於IC50和IC90之血漿濃度超過6天。

參考資料

- Almazan, F., Galan, C., Enjuanes, L., 2004. The nucleoprotein is required for efficient coronavirus genome replication. J. Virol. 78, 12683–12688. 10 Baric et al., **1988**
- Baric, R.S., Nelson, G.W., Fleming, J.O., Deans, R.J., Keck, J.G., Casteel, N., Stohlman, S.A. Interactions between coronavirus nucleocapsid protein and viral RNAs: implications for viral transcription. J. Virol. **1988,** 62, 4280–4287
- Escors, D., Camafeita, E., Ortego, J., Laude, H., Enjuanes, L. Organization of two

transmissible gastroenteritis coronavirus membrane protein topologies within the virion and core. J. Virol. **2001,**75, 12228–12240.

- Fang, S.G.; Shen, H.; Wang, J.; Tay, F.P.; Liu, D.X. Proteolytic processing of polyproteins 1a and 1ab between non-structural proteins 10 and 11/12 of Coronavirus infectious bronchitis virus is dispensable for viral replication in cultured cells. *Virology* **2008**, *379*, 175–180.
- Graham, R.L.; Donaldson, E.F.; Baric, R.S. A decade after SARS: Strategies for controlling emerging coronaviruses. *Nat. Rev. Microbiol.* **2013**, *11*, 836–848.
- Lai, M.M.; Cavanagh, D. The molecular biology of coronaviruses. *Adv. Virus Res.* **1997**, *48*, 1–100.
- Losada A, Berlanga JJ, Molina-Guijarro JM, Jiménez-Ruiz A, Gaggo F, Avilés P, de Haro C, Martínez-Leal JF., Generation of endoplasmic reticulum stress and inhibition of autophagy by plitidepsin induces proteotoxic apoptosis in cancer cells. Biochem Pharmacol. **2020** Feb; 172:113744
- Losada A, Muñoz-Alonso MJ, García C, Sánchez-Murcia PA, Martínez-Leal JF, Domínguez JM, Lillo MP, Gago F, Galmarini CM., Translation Elongation Factor eEF1A2 is a Novel Anticancer Target for the Marine Natural Product Plitidepsin. Sci Rep. **2016** 7;6:35100
- Losada A, Muñoz-Alonso MJ, Martínez-Díez M, Gago F, Domínguez JM, Martínez-Leal JF, Galmarini CM., Binding of eEF1A2 to the RNA-dependent protein kinase PKR modulates its activity and promotes tumour cell survival. Br J Cancer. **2018**;119(11):1410-1420
- M. D. Vera and M. M. Joullié, Natural products as probes of cell biology: 20 years of didemnin research Med. Res. Rev., **2002**, 22, 102

- Pyrc, K.; Berkhout, B.; van der Hoek, L. The novel human coronaviruses NL63 and HKU1. *J. Virol.* **2007**, *81*, 3051–3057.
- Rabouw HH, Langereis MA, Knaap RC, Dalebout TJ, Canton J, Sola I, Enjuanes L, Bredenbeek PJ, Kikkert M, de Groot RJ, van Kuppeveld FJ., Middle East Respiratory Coronavirus Accessory Protein 4a Inhibits PKR-Mediated Antiviral Stress Responses. PLoS Pathog. **2016,** 26;12(10):e1005982.
- Remington s Pharmaceutical Sciences, 17th Ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., **1995**
- Risco, C., Anton, I.M., Enjuanes, L., Carrascosa, J.L. The transmissible gastroenteritis coronavirus contains a spherical core shell consisting of M and N proteins. J. Virol. **1996,** 70, 4773- 4777
- Snijder, E.J.; Bredenbeek, P.J.; Dobbe, J.C.; Thiel, V.; Ziebuhr, J.; Poon, L.L.; Guan, Y.; Rozanov, M.; Spaan, W.J.; Gorbalenya, A.E. Unique and conserved features of genome and proteome of SARS-coronavirus, an early split-off from the coronavirus group 2 lineage. *J. Mol. Biol.* **2003**, *331*, 991–1004
- Stark G.R., Kerr, I.M., Williams, B.R., Silverman, R.H., and Schreiber, R.D., How cells respond to interferons. Annu. Rev. Biochem. **1998**, 67**:** 227–264.
- Stohlman, S.A., Baric, R.S., Nelson, G.N., Soe, L.H., Welter, L.M., Deans, R.J. Specific interaction between coronavirus leader RNA and nucleocapsid protein. J. Virol. **1988,** 62, 4288–4295
- Sturman, L.S., Holmes, K.V., Behnke, J. Isolation of coronavirus envelope glycoproteins and interaction with the viral nucleocapsid. J. Virol. **1980,**33, 449–462.
- Williams B.R. PKR; a sentinel kinase for cellular stress. Oncogene.

1999;18:6112–6120

- Xin Z, Hongyan S, Jianfei C, Da S, Changlong L, Li F., EF1A interacting with nucleocapsid protein of transmissible gastroenteritis coronavirus and plays a role in virus replication. Vet Microbiol. **2014**, 27;172(3-4):443-8
- Xu, Jiabao & Zhao, Shizhe & Teng, Tieshan & Abdalla, Abualgasim & Zhu, Wan & Xie, Longxiang & Wang, Yunlong & Guo, Xiangqian., Systematic Comparison of Two Animal-to-Human Transmitted Human Coronaviruses: SARS-CoV-2 and SARS-CoV. Viruses. **2020**, 12. 244.
- Zhou, B., Liu, J., Wang, Q., Liu, X., Li, X., Li, P., Ma, Q., Cao, C. The nucleocapsid protein of severe acute respiratory syndrome coronavirus inhibits cell cytokinesis and proliferation by interacting with translation elongation factor 1 alpha. J. Virol. **2008,** 82, 6962–6971.
- Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, et al. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. JAMA 2012; 307: 2526-2533;
- Technical document. Clinical management of COVID-19: hospital care. Date: 03/19/2020 Source: Ministry of Health. Spain.
- Wiersinga WJ, Bonten MJ, Boersma WG, et al. Management of community-acquired pneumonia in adults: 2016 guideline update from the Dutch Working Party on Antibiotic Policy (SWAB) and Dutch Association of Chest Physicians (NVALT). Neth J Med. 2018 Jan; 76 (1): 4-13.
- Lim WS1, Baudouin SV, George RC, et al. BTS guidelines for the management of community acquired pneumonia in adults: update 2009. Thorax. 2009 Oct; 64 Suppl 3: iii1-55. doi: 10.1136 / thx.2009.121434.]
- Rodriguez-Morales AJ, Cardona-Ospina JA, Gutiérrez-Ocampo E, et al. Clinical,

laboratory and imaging features of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. Travel Med Infect Dis. 2020 Mar 13: 101623

- Contingency plan for intensive medicine services against the pandemic COVID-19 of the Spanish Society of Intensive Nursing and Coronary Units.
- Fleming TR. One-sample multiple testing procedure for phase II clinical trials. Biometrics. 1982 Mar; 38 (1): 143-51.
- Rinehart KL Jr, Gloer JB, Hughes RG et al. Didemnins: antiviral and antitumor depsipeptides from a caribbean tunicate. Science. 1981 May 22; 212 (4497): 933-5.
- Canonico PG, Pannier WL, Huggins JW, Rienehart KL. Inhibition of RNA viruses in vitro and in Rift Valley fever-infected mice by didemnins A and B. Antimicrob Agents Chemother. 1982 Oct; 22 (4): 696-7.
- Losada, A., et al., Translation Elongation Factor eEF1A2 is a Novel Anticancer Target for the Marine Natural Product Plitidepsin. Sci Rep, 2016. 6: p. 35100.
- Mateyak, M.K. and T.G. Kinzy, eEF1A: thinking outside the ribosome. J Biol Chem, 2010. 285 (28): p. 21209-13.
- Zhou, B., et al., The nucleocapsid protein of severe acute respiratory syndrome coronavirus inhibits cell cytokinesis and proliferation by interacting with translation elongation factor 1alpha. J Virol, 2008. 82 (14): p. 6962-71.
- Ma-Lauer, Y., et al., Influences of cyclosporin A and non-immunosuppressive derivatives on cellular cyclophilins and viral nucleocapsid protein during human coronavirus 229E replication. Antiviral Res, 2020. 173: p. 104620.
- Cervantes-Barragan, L., et al., Dendritic cell-specific antigen delivery by coronavirus vaccine vectors induces long-lasting protective antiviral and

antitumor immunity. mBio, 2010. 1 (4).

- Wang M, Cao R, Zhang L, et al. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. Cell Research 2020; 30: 269–271.
- PharmaMar, data on file; VPT1992 / 2014.
- PharmaMar, data on file; VPT2678 / 2014.
- Maroun, J.A., et al., Phase I study of Aplidine in a dailyx5 one-hour infusion every 3 weeks in patients with solid tumors refractory to standard therapy. A National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group study: NCIC CTG IND 115. Ann Oncol, 2006. 17 (9): p. 1371-8.
- Nalda-Molina R, et al. Population pharmacokinetics meta-analysis of plitidepsin (Aplidin) in cancer subjects. Cancer Chemother Pharmacol. 2009 Jun; 64 (1): 97-108. doi: 10.1007 / s00280-008-0841-4.
- Kaul D. An overview of coronaviruses including the SARS-2 coronavirus - Molecular biology, epidemiology and clinical implications [published online ahead of print, 2020 Apr 9] [published correction appears in Curr Med Res Pract. 2020 May-Jun;10(3):135]. *Curr Med Res Pract.* 2020;10(2):54-64. doi:10.1016/j.cmrp.2020.04.001
- Wang C et al. Alveolar macrophage activation and cytokine storm in the pathogenesis of severe COVID-19; Immunology Network; 25 March 2020.
- Kawai T & Akira S (2007); Signaling to NF-κB by Toll-like receptors; Trends in Molecular Medicine; Volume 13, Issue 11, p.460-469.
-
- Pang T, Cardosa MJ, Guzman MG. Of cascades and perfect storms: the

immunopathogenesis of dengue haemorrhagic fever-dengue shock syndrome (DHF/DSS). Immunol Cell Biol. 2007;85(1):43-5.

- Monath TP. Treatment of yellow fever. Antiviral Res. 2008;78(1):116-24.
- Rothman AL. Immunity to dengue virus: a tale of original antigenic sin and tropical cytokine storms. Nat Rev Immunol. 2011;11(8):532-43.
- Henchal EA, Putnak JR. The dengue viruses. Clin Microbiol Rev. 1990;3(4):376-96.
- Hayes EB, Gubler DJ. Dengue and dengue hemorrhagic fever. Pediatr Infect Dis J. 1992;11(4):311-7.
- Monath TP. Dengue: the risk to developed and developing countries. Proc Natl Acad Sci U S A. 1994;91(7):2395-400.
- Srikiatkhachorn A, Mathew A, Rothman AL. Immune-mediated cytokine storm and its role in severe dengue. Semin Immunopathol. 2017;39(5):563-74.
- Rothman AL. Immunology and immunopathogenesis of dengue disease. Adv Virus Res. 2003;60:397-419.
- Leclercq TM, Moretti PA, Pitson SM. Guanine nucleotides regulate sphingosine kinase 1 activation by eukaryotic elongation factor 1A and provide a mechanism for eEF1A-associated oncogenesis. Oncogene. 2011;30(3):372-8.
- Carr JM, Kua T, Clarke JN, Calvert JK, Zebol JR, Beard MR, et al. Reduced sphingosine kinase 1 activity in dengue virus type-2 infected cells can be mediated by the 3' untranslated region of dengue virus type-2 RNA. J Gen Virol. 2013;94(Pt 11):2437-48.
- Kuno G, Chang GJ. Full-length sequencing and genomic characterization of Bagaza, Kedougou, and Zika viruses. Arch Virol. 2007;152(4):687-96.

- Duffy MR, Chen TH, Hancock WT, Powers AM, Kool JL, Lanciotti RS, et al. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. N Engl J Med. 2009;360(24):2536-43.
- Rasmussen SA, Jamieson DJ, Honein MA, Petersen LR. Zika Virus and Birth Defects--Reviewing the Evidence for Causality. N Engl J Med. 2016;374(20):1981-7.
- Watrin L, Ghawche F, Larre P, Neau JP, Mathis S, Fournier E. Guillain-Barre Syndrome (42 Cases) Occurring During a Zika Virus Outbreak in French Polynesia. Medicine (Baltimore). 2016;95(14):e3257.
- Tappe D, Perez-Giron JV, Zammarchi L, Rissland J, Ferreira DF, Jaenisch T, et al. Cytokine kinetics of Zika virus-infected patients from acute to reconvalescent phase. Med Microbiol Immunol. 2016;205(3):269-73.
- 1Chen Q, Gouilly J, Ferrat YJ, Espino A, Glaziou Q, Cartron G, et al. Metabolic reprogramming by Zika virus provokes inflammation in human placenta. Nat Commun. 2020;11(1):2967.
- ter Meulen J, Sakho M, Koulemou K, Magassouba N, Bah A, Preiser W, et al. Activation of the cytokine network and unfavorable outcome in patients with yellow fever. J Infect Dis. 2004;190(10):1821-7.
- S
- Heim MH, Thimme R. Innate and adaptive immune responses in HCV infections. J Hepatol. 2014;61(1 Suppl):S14-25.
- Zeremski M, Petrovic LM, Talal AH. The role of chemokines as inflammatory mediators in chronic hepatitis C virus infection. J Viral Hepat. 2007;14(10):675-87.

- Li H, Li T, Crispe IN, Tu Z. HCV immune evasion and regulatory T cell activation: cause or consequence? Cell Mol Immunol. 2018;15(5):536-8.
- Lindquist L, Vapalahti O. Tick-borne encephalitis. Lancet. 2008;371(9627):1861-71.
- Blom K, Cuapio A, Sandberg JT, Varnaite R, Michaelsson J, Bjorkstrom NK, et al. Cell-Mediated Immune Responses and Immunopathogenesis of Human Tick-Borne Encephalitis Virus-Infection. Front Immunol. 2018;9:2174.
- Haller O, Kochs G, Weber F. The interferon response circuit: induction and suppression by pathogenic viruses. Virology. 2006;344(1):119-30.
- Shevtsova AS, Motuzova OV, Kuragina VM, Akhmatova NK, Gmyl LV, Kondrat'eva YI, et al. Lethal Experimental Tick-Borne Encephalitis Infection: Influence of Two Strains with Similar Virulence on the Immune Response. Front Microbiol. 2016;7:2172.
- Kulakowska A, Byfield FJ, Zendzian-Piotrowska M, Zajkowska JM, Drozdowski W, Mroczko B, et al. Increased levels of sphingosine-1-phosphate in cerebrospinal fluid of patients diagnosed with tick-borne encephalitis. J Neuroinflammation. 2014;11:193.
- Leclercq TM, Moretti PA, Vadas MA, Pitson SM. Eukaryotic elongation factor 1A interacts with sphingosine kinase and directly enhances its catalytic activity. J Biol Chem. 2008;283(15):9606-14.
- Moennig V, Floegel-Niesmann G, Greiser-Wilke I. Clinical signs and epidemiology of classical swine fever: a review of new knowledge. Vet J. 2003;165(1):11-20.
- Petrov A, Blohm U, Beer M, Pietschmann J, Blome S. Comparative analyses of

host responses upon infection with moderately virulent classical swine fever virus in domestic pigs and wild boar. Virol J. 2014;11:134.

- Blome S, Staubach C, Henke J, Carlson J, Beer M. Classical Swine Fever-An Updated Review. Viruses. 2017;9(4).
- Husser L, Ruggli N, Summerfield A. N(pro) of classical swine fever virus prevents type I interferon-mediated priming of conventional dendritic cells for enhanced interferon-alpha response. J Interferon Cytokine Res. 2012;32(5):221-9.
- Massilamany C, Koenig A, Reddy J, Huber S, Buskiewicz I. Autoimmunity in picornavirus infections. Curr Opin Virol. 2016;16:8-14.
- Baj A, Colombo M, Headley JL, McFarlane JR, Liethof MA, Toniolo A. Post-poliomyelitis syndrome as a possible viral disease. Int J Infect Dis. 2015;35:107-16.
- Chapman NM, Kim KS. Persistent coxsackievirus infection: enterovirus persistence in chronic myocarditis and dilated cardiomyopathy. Curr Top Microbiol Immunol. 2008;323:275-92.
- Klein J. Understanding the molecular epidemiology of foot-and-mouth-disease virus. Infect Genet Evol. 2009;9(2):153-61.
- Fairweather D, Frisancho-Kiss S, Rose NR. Viruses as adjuvants for autoimmunity: evidence from Coxsackievirus-induced myocarditis. Rev Med Virol. 2005;15(1):17-27.
- Fensterl V, Chattopadhyay S, Sen GC. No Love Lost Between Viruses and Interferons. Annu Rev Virol. 2015;2(1):549-72.
- Schulz KS, Mossman KL. Viral Evasion Strategies in Type I IFN Signaling - A

Summary of Recent Developments. Front Immunol. 2016;7:498.

- Feng Q, Langereis MA, Lork M, Nguyen M, Hato SV, Lanke K, et al. Enterovirus 2Apro targets MDA5 and MAVS in infected cells. J Virol. 2014;88(6):3369-78.
- Chinsangaram J, Koster M, Grubman MJ. Inhibition of L-deleted foot-and-mouth disease virus replication by alpha/beta interferon involves double-stranded RNA-dependent protein kinase. J Virol. 2001;75(12):5498-503.
- de Los Santos T, de Avila Botton S, Weiblen R, Grubman MJ. The leader proteinase of foot-and-mouth disease virus inhibits the induction of beta interferon mRNA and blocks the host innate immune response. J Virol. 2006;80(4):1906-14.
- Losada A, Berlanga JJ, Molina-Guijarro JM, Jimenez-Ruiz A, Gago F, Aviles P, et al. Generation of endoplasmic reticulum stress and inhibition of autophagy by plitidepsin induces proteotoxic apoptosis in cancer cells. Biochem Pharmacol. 2020;172:113744.
- Lin TY, Hsia SH, Huang YC, Wu CT, Chang LY. Proinflammatory cytokine reactions in enterovirus 71 infections of the central nervous system. Clin Infect Dis. 2003;36(3):269-74.
- Weller AH, Simpson K, Herzum M, Van Houten N, Huber SA. Coxsackievirus-B3-induced myocarditis: virus receptor antibodies modulate myocarditis. J Immunol. 1989;143(6):1843-50.
- Arnesjo B, Eden T, Ihse I, Nordenfelt E, Ursing B. Enterovirus infections in acute pancreatitis - a possible etiological connection. Scand J Gastroenterol. 1976;11(7):645-9.
- David P, Baleriaux D, Bank WO, Amrom D, De Temmerman D, Babusiaux C, et

al. MRI of acute disseminated encephalomyelitis after coxsackie B infection. J Neuroradiol. 1993;20(4):258-65.

- Klingel K, Stephan S, Sauter M, Zell R, McManus BM, Bultmann B, et al. Pathogenesis of murine enterovirus myocarditis: virus dissemination and immune cell targets. J Virol. 1996;70(12):8888-95.
- Corsten MF, Schroen B, Heymans S. Inflammation in viral myocarditis: friend or foe? Trends Mol Med. 2012;18(7):426-37.
- Fuse K, Chan G, Liu Y, Gudgeon P, Husain M, Chen M, et al. Myeloid differentiation factor-88 plays a crucial role in the pathogenesis of Coxsackievirus B3-induced myocarditis and influences type I interferon production. Circulation. 2005;112(15):2276-85.
- Papageorgiou AP, Heymans S. Interactions between the extracellular matrix and inflammation during viral myocarditis. Immunobiology. 2012;217(5):503-10.
- Triantafilou K, Vakakis E, Richer EA, Evans GL, Villiers JP, Triantafilou M. Human rhinovirus recognition in non-immune cells is mediated by Toll-like receptors and MDA-5, which trigger a synergetic pro-inflammatory immune response. Virulence. 2011;2(1):22-9.
- Slater L, Bartlett NW, Haas JJ, Zhu J, Message SD, Walton RP, et al. Co-ordinated role of TLR3, RIG-I and MDA5 in the innate response to rhinovirus in bronchial epithelium. PLoS Pathog. 2010;6(11):e1001178.
- Zhu Z, Tang W, Gwaltney JM, Jr., Wu Y, Elias JA. Rhinovirus stimulation of interleukin-8 in vivo and in vitro: role of NF-kappaB. Am J Physiol. 1997;273(4):L814-24.
- Turner RB, Weingand KW, Yeh CH, Leedy DW. Association between interleukin-

8 concentration in nasal secretions and severity of symptoms of experimental rhinovirus colds. Clin Infect Dis. 1998;26(4):840-6.

- Deinhardt F. Prevention of viral hepatitis A: past, present and future. Vaccine. 1992;10 Suppl 1:S10-4.
- Wang X, Ren J, Gao Q, Hu Z, Sun Y, Li X, et al. Hepatitis A virus and the origins of picornaviruses. Nature. 2015;517(7532):85-8.
- Kaplan G, Totsuka A, Thompson P, Akatsuka T, Moritsugu Y, Feinstone SM. Identification of a surface glycoprotein on African green monkey kidney cells as a receptor for hepatitis A virus. EMBO J. 1996;15(16):4282-96.
- FitzSimons D, Hendrickx G, Vorsters A, Van Damme P. Hepatitis A and E: update on prevention and epidemiology. Vaccine. 2010;28(3):583-8.
- Wang D, Fang L, Wei D, Zhang H, Luo R, Chen H, et al. Hepatitis A virus 3C protease cleaves NEMO to impair induction of beta interferon. J Virol. 2014;88(17):10252-8.
- Choi YS, Jung MK, Lee J, Choi SJ, Choi SH, Lee HW, et al. Tumor Necrosis Factor-producing T-regulatory Cells Are Associated With Severe Liver Injury in Patients With Acute Hepatitis A. Gastroenterology. 2018;154(4):1047-60.
- Thiberville SD, Moyen N, Dupuis-Maguiraga L, Nougairede A, Gould EA, Roques P, et al. Chikungunya fever: epidemiology, clinical syndrome, pathogenesis and therapy. Antiviral Res. 2013;99(3):345-70.
- White LK, Sali T, Alvarado D, Gatti E, Pierre P, Streblow D, et al. Chikungunya virus induces IPS-1-dependent innate immune activation and protein kinase R-independent translational shutoff. J Virol. 2011;85(1):606-20.
- Ng KW, Chow A, Win MK, Dimatatac F, Neo HY, Lye DC, et al. Clinical features

and epidemiology of chikungunya infection in Singapore. Singapore Med J. 2009;50(8):785-90.

- Colavita F, Vita S, Lalle E, Carletti F, Bordi L, Vincenti D, et al. Overproduction of IL-6 and Type-I IFN in a Lethal Case of Chikungunya Virus Infection in an Elderly Man During the 2017 Italian Outbreak. Open Forum Infect Dis. 2018;5(11):ofy276.
- Shirako Y, Niklasson B, Dalrymple JM, Strauss EG, Strauss JH. Structure of the Ockelbo virus genome and its relationship to other Sindbis viruses. Virology. 1991;182(2):753-64.
- Laine M, Luukkainen R, Toivanen A. Sindbis viruses and other alphaviruses as cause of human arthritic disease. J Intern Med. 2004;256(6):457-71.
- Laine M, Vainionpaa R, Oksi J, Luukkainen R, Toivanen A. The prevalence of antibodies against Sindbis-related (Pogosta) virus in different parts of Finland. Rheumatology (Oxford). 2003;42(5):632-6.
- Assuncao-Miranda I, Bozza MT, Da Poian AT. Pro-inflammatory response resulting from sindbis virus infection of human macrophages: implications for the pathogenesis of viral arthritis. J Med Virol. 2010;82(1):164-74.
- Klimstra WB, Ryman KD, Bernard KA, Nguyen KB, Biron CA, Johnston RE. Infection of neonatal mice with sindbis virus results in a systemic inflammatory response syndrome. J Virol. 1999;73(12):10387-98.
- Davies MG, Hagen PO. Systemic inflammatory response syndrome. Br J Surg. 1997;84(7):920-35.
- Atkins GJ, Sheahan BJ, Liljestrom P. The molecular pathogenesis of Semliki Forest virus: a model virus made useful? J Gen Virol. 1999;80 (Pt 9):2287-97.

- Balluz IM, Glasgow GM, Killen HM, Mabruk MJ, Sheahan BJ, Atkins GJ. Virulent and avirulent strains of Semliki Forest virus show similar cell tropism for the murine central nervous system but differ in the severity and rate of induction of cytolytic damage. Neuropathol Appl Neurobiol. 1993;19(3):233-9.
- Berger ML. Humoral and cell-mediated immune mechanisms in the production of pathology in avirulent Semliki Forest virus encephalitis. Infect Immun. 1980;30(1):244-53.
- Aguilar PV, Adams AP, Wang E, Kang W, Carrara AS, Anishchenko M, et al. Structural and nonstructural protein genome regions of eastern equine encephalitis virus are determinants of interferon sensitivity and murine virulence. J Virol. 2008;82(10):4920-30.
- Painter GR, Bowen RA, Bluemling GR, DeBergh J, Edpuganti V, Gruddanti PR, et al. The prophylactic and therapeutic activity of a broadly active ribonucleoside analog in a murine model of intranasal venezuelan equine encephalitis virus infection. Antiviral Res. 2019;171:104597.
- Weaver SC, Salas R, Rico-Hesse R, Ludwig GV, Oberste MS, Boshell J, et al. Re-emergence of epidemic Venezuelan equine encephalomyelitis in South America. VEE Study Group. Lancet. 1996;348(9025):436-40.
- Vogel P, Kell WM, Fritz DL, Parker MD, Schoepp RJ. Early events in the pathogenesis of eastern equine encephalitis virus in mice. Am J Pathol. 2005;166(1):159-71.
- Gardner CL, Burke CW, Tesfay MZ, Glass PJ, Klimstra WB, Ryman KD. Eastern and Venezuelan equine encephalitis viruses differ in their ability to infect dendritic cells and macrophages: impact of altered cell tropism on pathogenesis. J Virol.

2008;82(21):10634-46.

- George S, Viswanathan R, Sapkal GN. Molecular aspects of the teratogenesis of rubella virus. Biol Res. 2019;52(1):47.
- Alford CA, Jr., Neva FA, Weller TH. Virologic and Serologic Studies on Human Products of Conception after Maternal Rubella. N Engl J Med. 1964;271:1275-81.
- Fazil Z, Ten Berge JC, Langerak AW, Rothova A, Dik WA. An Intraocular Inflammatory Profile of Rubella Associated Uveitis. Ocul Immunol Inflamm. 2019;27(3):418-23.
- Vinje J, Estes MK, Esteves P, Green KY, Katayama K, Knowles NJ, et al. ICTV Virus Taxonomy Profile: Caliciviridae. J Gen Virol. 2019;100(11):1469-70.
- Karst SM, Wobus CE, Goodfellow IG, Green KY, Virgin HW. Advances in norovirus biology. Cell Host Microbe. 2014;15(6):668-80.
- Wobus CE, Karst SM, Thackray LB, Chang KO, Sosnovtsev SV, Belliot G, et al. Replication of Norovirus in cell culture reveals a tropism for dendritic cells and macrophages. PLoS Biol. 2004;2(12):e432.
- Weiss SR, Navas-Martin S. Coronavirus pathogenesis and the emerging pathogen severe acute respiratory syndrome coronavirus. Microbiol Mol Biol Rev. 2005;69(4):635-64.
- Ruan YJ, Wei CL, Ee AL, Vega VB, Thoreau H, Su ST, et al. Comparative full-length genome sequence analysis of 14 SARS coronavirus isolates and common mutations associated with putative origins of infection. Lancet. 2003;361(9371):1779-85.
- Huang KJ, Su IJ, Theron M, Wu YC, Lai SK, Liu CC, et al. An interferon-gamma-

related cytokine storm in SARS patients. J Med Virol. 2005;75(2):185-94.

- Zumla A, Hui DS, Perlman S. Middle East respiratory syndrome. Lancet. 2015;386(9997):995-1007.
- Min CK, Cheon S, Ha NY, Sohn KM, Kim Y, Aigerim A, et al. Comparative and kinetic analysis of viral shedding and immunological responses in MERS patients representing a broad spectrum of disease severity. Sci Rep. 2016;6:25359.
- Cardone M, Yano M, Rosenberg AS, Puig M. Lessons Learned to Date on COVID-19 Hyperinflammatory Syndrome: Considerations for Interventions to Mitigate SARS-CoV-2 Viral Infection and Detrimental Hyperinflammation. Front Immunol. 2020;11:1131.
- Xu J, Yang X, Yang L, Zou X, Wang Y, Wu Y, et al. Clinical course and predictors of 60-day mortality in 239 critically ill patients with COVID-19: a multicenter retrospective study from Wuhan, China. Crit Care. 2020;24(1):394.
- Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Manson JJ, et al. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. Lancet. 2020;395(10229):1033-4.
- Davis WG, Blackwell JL, Shi PY, Brinton MA. Interaction between the cellular protein eEF1A and the 3'-terminal stem-loop of West Nile virus genomic RNA facilitates viral minus-strand RNA synthesis. J Virol. 2007;81(18):10172-87.
- Suthar MS, Diamond MS, Gale M, Jr. West Nile virus infection and immunity. Nat Rev Microbiol. 2013;11(2):115-28.
- Rossi SL, Ross TM, Evans JD. West Nile virus. Clin Lab Med. 2010;30(1):47-65.
- Rossini G, Landini MP, Gelsomino F, Sambri V, Varani S. Innate host responses to West Nile virus: Implications for central nervous system immunopathology.

World J Virol. 2013;2(2):49-56.

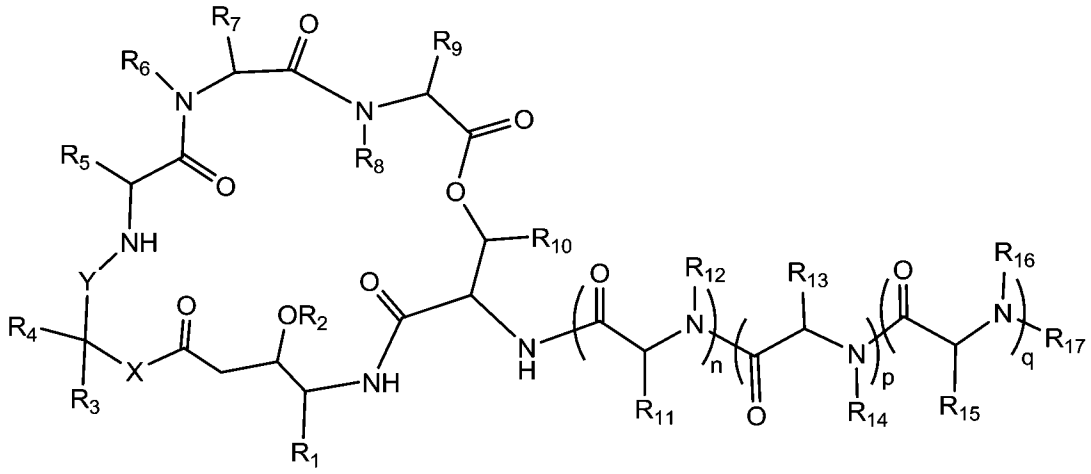
- Getts DR, Terry RL, Getts MT, Muller M, Rana S, Shrestha B, et al. Ly6c+ "inflammatory monocytes" are microglial precursors recruited in a pathogenic manner in West Nile virus encephalitis. J Exp Med. 2008;205(10):2319-37.
- Wang T, Town T, Alexopoulou L, Anderson JF, Fikrig E, Flavell RA. Toll-like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

【符號說明】

無

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種用於治療炎症之通式I之化合物，



（I）

其中X選自O和NH；

Y選自CO和–COCH(CH_3)CO-；

n和p各自獨立地選自0和1，q選自0、1和2；

R_1、R_3、R_5、R_9、R_{11}、以及R_{15}各自獨立地選自氫、取代或未取代之C_1-C_6烷基、取代或未取代之C_2-C_6烯基和取代或未取代之C_2-C_6炔基；

R_2選自氫、COR_a、$COOR_a$、取代或未取代之C_1-C_6烷基、取代或未取代之C_2-C_6烯基和取代或未取代之C_2-C_6炔基；

R_4、R_8、R_{10}、R_{12}和R_{16}各自獨立地選自氫和取代或未取代之C_1-C_6烷基；

R_7和R_{13}各自獨立地選自氫、取代之或未取代之C_1-C_6烷基、取代之或未取代之C_2-C_6烯基和取代之或未取代之C_2-C_6炔基；R_6和R_{14}各自獨立地選自氫、和取代之或未取代之C_1-C_6烷基；或者R_6和R_7和/或R_{13}和R_{14}與它們所連接之相應之N原子和C原子一起可形成取代之或未取代之雜環基；

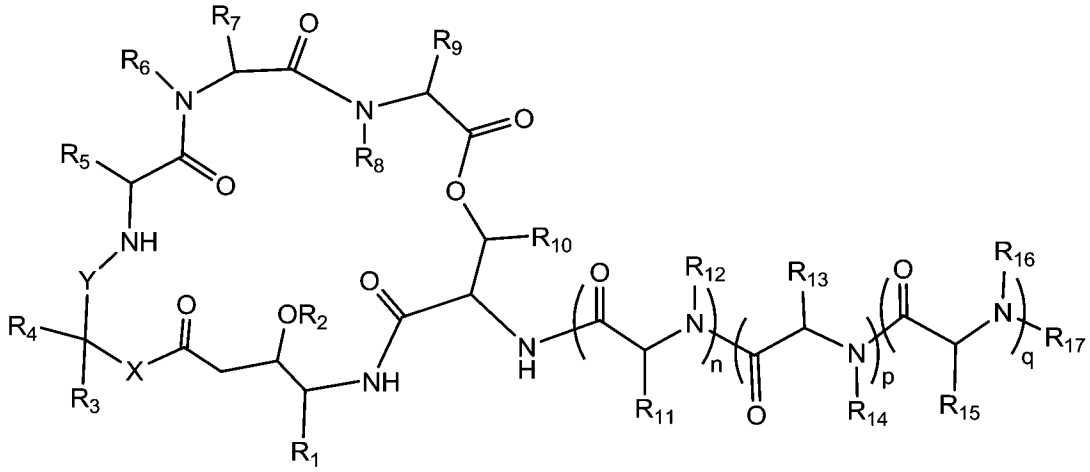
R_{17}選自氫、COR_a、$COOR_a$、$CONHR_b$、$COSR_c$、$(C=NR_b)OR_a$、$(C=NR_b)NHR_b$、$(C=NR_b)SR_c$、$(C=S)OR_a$、$(C=S)NHR_b$、$(C=S)SR_c$、SO_2R_c、SO_3R_c、取代或未取代之C_1-C_{12}烷基、取代或未取代之C_2-C_{12}烯基、取代或未取代之C_2-C_{12}炔基、取代或未取代之芳基、以及取代或未取代之雜環基，前提係當n、p、以及q係為0時，R_{17}

不係氫；且

R_a、R_b和R_c各自獨立地選自氫、取代或未取代之C_1-C_{12}烷基、取代或未取代之C_2-C_{12}烯基、取代或未取代之C_2-C_{12}炔基、取代或未取代之芳基和取代或未取代之雜環基；

或其藥學上可接受之鹽或立體異構體。

【請求項2】一種用於治療與Toll樣受體激活相關之炎症之通式**I**之化合物，



（**I**）

其中X選自O和NH；

Y選自CO和–COCH(CH_3)CO-；

n和p各自獨立地選自0和1，q選自0、1和2；

R_1、R_3、R_5、R_9、R_{11}、以及R_{15}各自獨立地選自氫、取代或未取代之C_1-C_6烷基、取代或未取代之C_2-C_6烯基和取代或未取代之C_2-C_6炔基；

R_2選自氫、COR_a、$COOR_a$、取代或未取代之C_1-C_6烷基、取代或未取代之C_2-C_6烯基和取代或未取代之C_2-C_6炔基；

R_4、R_8、R_{10}、R_{12}和R_{16}各自獨立地選自氫和取代或未取代之C_1-C_6烷基；

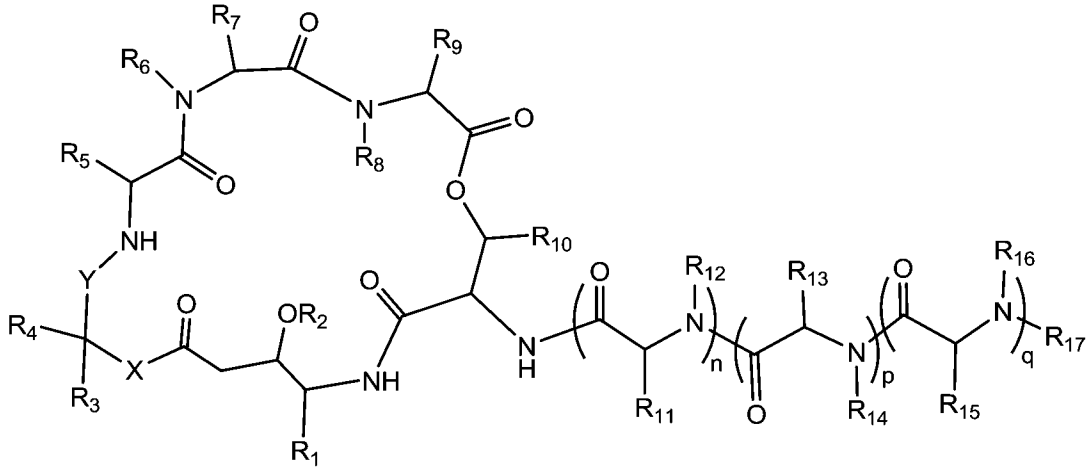
R_7和R_{13}各自獨立地選自氫、取代之或未取代之C_1-C_6烷基、取代之或未取代之C_2-C_6烯基和取代之或未取代之C_2-C_6炔基；R_6和R_{14}各自獨立地選自氫、和取代之或未取代之C_1-C_6烷基；或者R_6和R_7和/或R_{13}和R_{14}與它們所連接之相應之N原子和C原子一起可形成取代之或未取代之雜環基；

R_{17}選自氫、COR_a、$COOR_a$、$CONHR_b$、$COSR_c$、$(C=NR_b)OR_a$、$(C=NR_b)NHR_b$、$(C=NR_b)SR_c$、$(C=S)OR_a$、$(C=S)NHR_b$、$(C=S)SR_c$、SO_2R_c、SO_3R_c、取代或未取代之C_1-C_{12}烷基、取代或未取代之C_2-C_{12}烯基、取代或未取代之C_2-C_{12}炔基、取代或未取代之芳基、以及取代或未取代之雜環基，前提係當n、p、以及q係為0時，R_{17}不係氫；且

R_a、R_b和R_c各自獨立地選自氫、取代或未取代之C_1-C_{12}烷基、取代或未取代之C_2-C_{12}烯基、取代或未取代之C_2-C_{12}炔基、取代或未取代之芳基和取代或未取代之雜環基；

或其藥學上可接受之鹽或立體異構體。

【請求項3】一種用於治療選自肺炎、急性呼吸窘迫(ARDS)、免疫病理、較佳係高細胞因子血症(細胞因子風暴綜合征)、敗血症和移植物抗宿主病之疾病之通式**I**之化合物，



（**I**）

其中X選自O和NH；

Y選自CO和–COCH(CH_3)CO-；

n和p各自獨立地選自0和1，q選自0、1和2；

R_1、R_3、R_5、R_9、R_{11}、以及R_{15}各自獨立地選自氫、取代或未取代之C_1-C_6烷基、取代或未取代之C_2-C_6烯基和取代或未取代之C_2-C_6炔基；

R_2選自氫、COR_a、$COOR_a$、取代或未取代之C_1-C_6烷基、取代或未取代之C_2-

C_6烯基和取代或未取代之C_2-C_6炔基；

R_4、R_8、R_{10}、R_{12}和R_{16}各自獨立地選自氫和取代或未取代之C_1-C_6烷基；

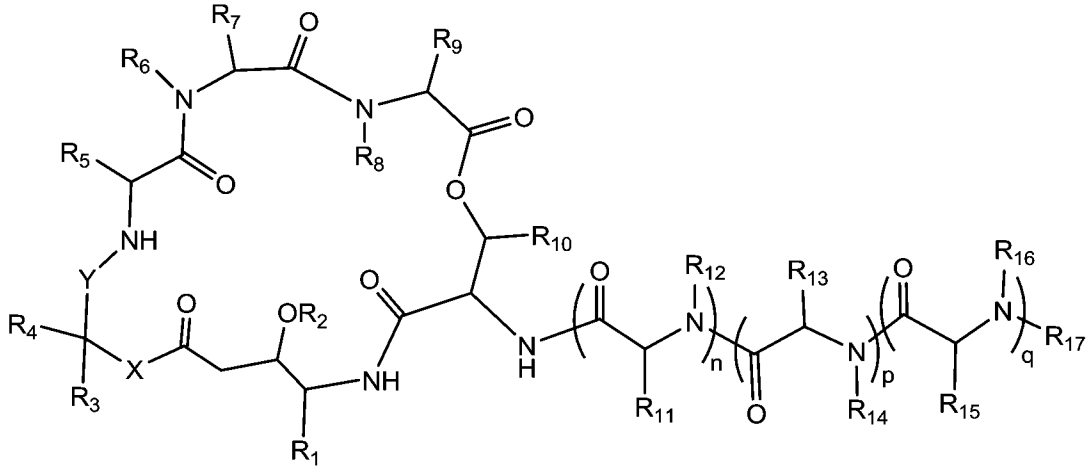
R_7和R_{13}各自獨立地選自氫、取代之或未取代之C_1-C_6烷基、取代之或未取代之C_2-C_6烯基和取代之或未取代之C_2-C_6炔基；R_6和R_{14}各自獨立地選自氫、和取代之或未取代之C_1-C_6烷基；或者R_6和R_7和/或R_{13}和R_{14}與它們所連接之相應之N原子和C原子一起可形成取代之或未取代之雜環基；

R_{17}選自氫、COR_a、$COOR_a$、$CONHR_b$、$COSR_c$、$(C=NR_b)OR_a$、$(C=NR_b)NHR_b$、$(C=NR_b)SR_c$、$(C=S)OR_a$、$(C=S)NHR_b$、$(C=S)SR_c$、SO_2R_c、SO_3R_c、取代或未取代之C_1-C_{12}烷基、取代或未取代之C_2-C_{12}烯基、取代或未取代之C_2-C_{12}炔基、取代或未取代之芳基、以及取代或未取代之雜環基，前提係當n、p、以及q係為0時，R_{17}不係氫；且

R_a、R_b和R_c各自獨立地選自氫、取代或未取代之C_1-C_{12}烷基、取代或未取代之C_2-C_{12}烯基、取代或未取代之C_2-C_{12}炔基、取代或未取代之芳基和取代或未取代之雜環基；

或其藥學上可接受之鹽或立體異構體。

【請求項4】一種用於治療病原體誘導之炎症之通式**I**之化合物，



（**I**）

其中X選自O和NH；

Y選自CO和–$COCH(CH_3)CO$-；

n和p各自獨立地選自0和1，q選自0、1和2；

R_1、R_3、R_5、R_9、R_{11}、以及R_{15}各自獨立地選自氫、取代或未取代之C_1-C_6烷基、取代或未取代之C_2-C_6烯基和取代或未取代之C_2-C_6炔基；

R_2選自氫、COR_a、$COOR_a$、取代或未取代之C_1-C_6烷基、取代或未取代之C_2-C_6烯基和取代或未取代之C_2-C_6炔基；

R_4、R_8、R_{10}、R_{12}和R_{16}各自獨立地選自氫和取代或未取代之C_1-C_6烷基；

R_7和R_{13}各自獨立地選自氫、取代之或未取代之C_1-C_6烷基、取代之或未取代之C_2-C_6烯基和取代之或未取代之C_2-C_6炔基；R_6和R_{14}各自獨立地選自氫、和取代之或未取代之C_1-C_6烷基；或者R_6和R_7和/或R_{13}和R_{14}與它們所連接之相應之N原子和C原子一起可形成取代之或未取代之雜環基；

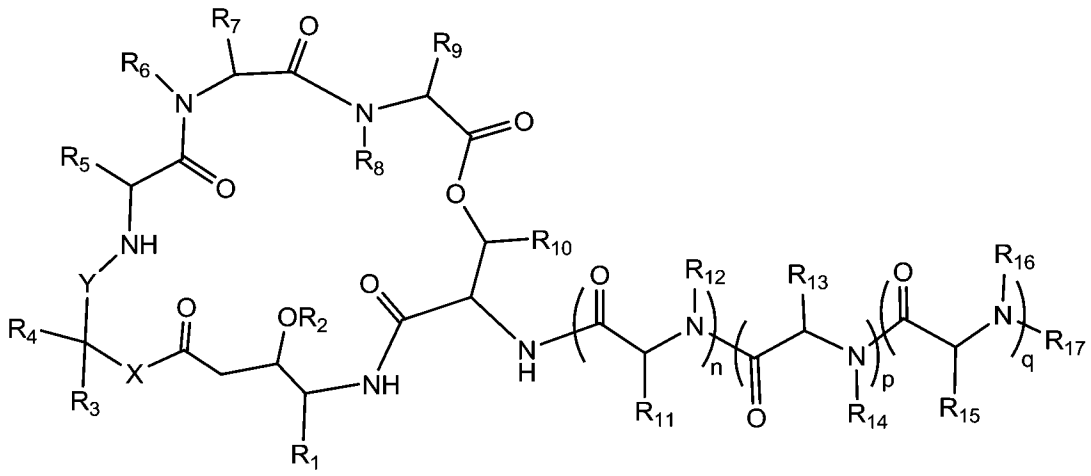
R_{17}選自氫、COR_a、$COOR_a$、$CONHR_b$、$COSR_c$、$(C=NR_b)OR_a$、$(C=NR_b)NHR_b$、$(C=NR_b)SR_c$、$(C=S)OR_a$、$(C=S)NHR_b$、$(C=S)SR_c$、SO_2R_c、SO_3R_c、取代或未取代之C_1-C_{12}烷基、取代或未取代之C_2-C_{12}烯基、取代或未取代之C_2-C_{12}炔基、取代或未取代之芳基、以及取代或未取代之雜環基，前提係當n、p、以及q係為0時，R_{17}不係氫；且

R_a、R_b和R_c各自獨立地選自氫、取代或未取代之C_1-C_{12}烷基、取代或未取代之C_2-C_{12}烯基、取代或未取代之C_2-C_{12}炔基、取代或未取代之芳基和取代或未取代之雜環基；

或其藥學上可接受之鹽或立體異構體。

【請求項5】根據請求項4所述之化合物，其中該病原體選自病毒和細菌。

【請求項6】一種用於聯合治療與Toll樣受體激活相關之炎症或病原體誘導之炎症和治療病毒感染之通式I之化合物，



（I）

其中X選自O和NH；

Y選自CO和–COCH(CH_3)CO-；

n和p各自獨立地選自0和1，q選自0、1和2；

R_1、R_3、R_5、R_9、R_{11}、以及R_{15}各自獨立地選自氫、取代或未取代之C_1-C_6烷基、取代或未取代之C_2-C_6烯基和取代或未取代之C_2-C_6炔基；

R_2選自氫、COR_a、$COOR_a$、取代或未取代之C_1-C_6烷基、取代或未取代之C_2-C_6烯基和取代或未取代之C_2-C_6炔基；

R_4、R_8、R_{10}、R_{12}和R_{16}各自獨立地選自氫和取代或未取代之C_1-C_6烷基；

R_7和R_{13}各自獨立地選自氫、取代之或未取代之C_1-C_6烷基、取代之或未取代之C_2-C_6烯基和取代之或未取代之C_2-C_6炔基；R_6和R_{14}各自獨立地選自氫、和取代之或未取代之C_1-C_6烷基；或者R_6和R_7和/或R_{13}和R_{14}與它們所連接之相應之N原子和C原子一起可形成取代之或未取代之雜環基；

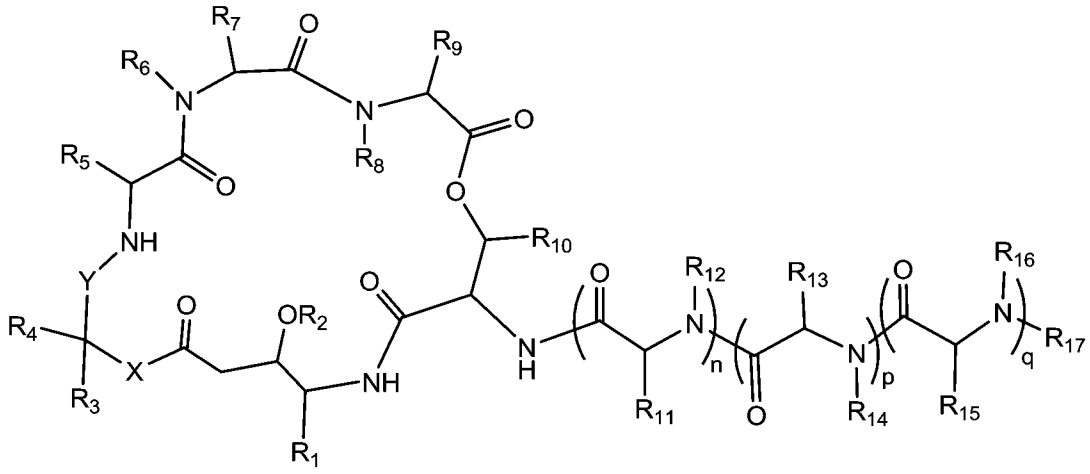
R_{17}選自氫、COR_a、$COOR_a$、$CONHR_b$、$COSR_c$、$(C=NR_b)OR_a$、$(C=NR_b)NHR_b$、$(C=NR_b)SR_c$、$(C=S)OR_a$、$(C=S)NHR_b$、$(C=S)SR_c$、SO_2R_c、SO_3R_c、取代或未取代之C_1-C_{12}烷基、取代或未取代之C_2-C_{12}烯基、取代或未取代之C_2-C_{12}炔基、取代或未取代之芳基、以及取代或未取代之雜環基，前提係當n、p、以及q係為0時，R_{17}不係氫；且

R_a、R_b和R_c各自獨立地選自氫、取代或未取代之C_1-C_{12}烷基、取代或未取代

之C_2-C_{12}烯基、取代或未取代之C_2-C_{12}炔基、取代或未取代之芳基和取代或未取代之雜環基；

或其藥學上可接受之鹽或立體異構體。

【請求項7】一種用作抗炎藥和抗病毒藥之通式**I**之化合物，



（**I**）

其中X選自O和NH；

Y選自CO和–COCH(CH_3)CO-；

n和p各自獨立地選自0和1，q選自0、1和2；

R_1、R_3、R_5、R_9、R_{11}、以及R_{15}各自獨立地選自氫、取代或未取代之C_1-C_6烷基、取代或未取代之C_2-C_6烯基和取代或未取代之C_2-C_6炔基；

R_2選自氫、COR_a、$COOR_a$、取代或未取代之C_1-C_6烷基、取代或未取代之C_2-C_6烯基和取代或未取代之C_2-C_6炔基；

R_4、R_8、R_{10}、R_{12}和R_{16}各自獨立地選自氫和取代或未取代之C_1-C_6烷基；

R_7和R_{13}各自獨立地選自氫、取代之或未取代之C_1-C_6烷基、取代之或未取代之C_2-C_6烯基和取代之或未取代之C_2-C_6炔基；R_6和R_{14}各自獨立地選自氫、和取代之或未取代之C_1-C_6烷基；或者R_6和R_7和/或R_{13}和R_{14}與它們所連接之相應之N原子和C原子一起可形成取代之或未取代之雜環基；

R_{17}選自氫、COR_a、$COOR_a$、$CONHR_b$、$COSR_c$、$(C=NR_b)OR_a$、$(C=NR_b)NHR_b$、$(C=NR_b)SR_c$、$(C=S)OR_a$、$(C=S)NHR_b$、$(C=S)SR_c$、SO_2R_c、SO_3R_c、取代或未取代

之C_1-C_{12}烷基、取代或未取代之C_2-C_{12}烯基、取代或未取代之C_2-C_{12}炔基、取代或未取代之芳基、以及取代或未取代之雜環基，前提係當n、p、以及q係為0時，R_{17}不係氫；且

R_a、R_b和R_c各自獨立地選自氫、取代或未取代之C_1-C_{12}烷基、取代或未取代之C_2-C_{12}烯基、取代或未取代之C_2-C_{12}炔基、取代或未取代之芳基和取代或未取代之雜環基；

或其藥學上可接受之鹽或立體異構體。

【請求項8】根據任一前述請求項所述之化合物，其中R_3和R_4獨立地選自氫和取代或未取代之C_1-C_6烷基；較佳地，其中R_3係異丙基，R_4係氫。

【請求項9】根據任一前述請求項所述之通式**II**之化合物，其中R_3和R_4係甲基。

【請求項10】根據任一前述請求項所述之化合物，其中R_{11}選自氫和取代或未取代之C_1-C_6烷基；較佳地，其中R_{11}係甲基或異丁基。

【請求項11】根據任一前述請求項所述之通式**III**之化合物，其中R_{11}係甲基，並且n＝1。

【請求項12】根據任一前述請求項所述之化合物，其中R_1、R_5、R_9和R_{15}獨立地選自氫和取代或未取代之C_1-C_6烷基；較佳地，其中R_1選自仲丁基和異丙基，R_5係異丁基，R_9係對甲氧基苄基，並且R_{15}選自甲基和苄基。

【請求項13】根據任一前述請求項所述之化合物，其中R_8、R_{10}、R_{12}和R_{16}獨立地選自氫和取代或未取代之C_1-C_6烷基；較佳地，其中R_8、R_{10}和R_{12}係甲基，並且R_{16}係氫。

【請求項14】根據任一前述請求項所述之化合物，其中R_6和R_{14}獨立地選自氫和取代或未取代之C_1-C_6烷基；較佳地，其中R_6選自氫和甲基，並且R_{14}係氫。

【請求項15】根據任一前述請求項所述之化合物，其中R_7和R_{13}獨立地選自

氫和取代或未取代之C_1-C_6烷基；較佳地，其中R_7係甲基，R_{13}選自氫、甲基、異丙基、異丁基和3-氨基-3-氧丙基。

【請求項16】根據請求項1至13中任一項所述之化合物，其中R_6和R_7和/或R_{13}和R_{14}與它們所連接之相應之N原子和C原子一起形成取代或未取代之吡咯烷基團。

【請求項17】根據任一前述請求項所述之化合物，其中R_2選自氫、取代或未取代之C_1-C_6烷基和COR_a，並且其中R_a係取代或未取代之C_1-C_6烷基；較佳地，其中R_2係氫。

【請求項18】根據任一前述請求項所述之化合物，其中R_{17}選自氫、COR_a、$COOR_a$、$CONHR_b$、$(C=S)NHR_b$、以及SO_2R_c，並且其中R_a、R_b和R_c各自獨立地選自取代或未取代之C_1-C_6烷基、取代或未取代之C_2-C_6烯基、取代或未取代之C_2-C_6炔基、取代或未取代之芳基和取代或未取代之雜環基；較佳地，其中R_{17}選自氫、COO苄基、CO苯並[b]噻吩-2-基、SO_2（對甲基苯基）、$COCOCH_3$和$COOC(CH_3)_3$。

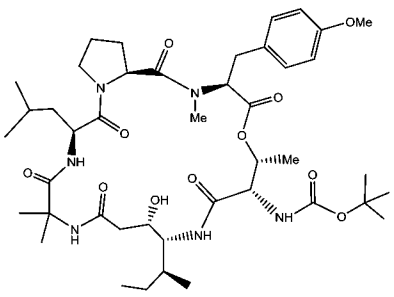
【請求項19】根據任一前述請求項所述之化合物，其中X係NH。

【請求項20】根據請求項1至18中任一項所述之化合物，其中X係O。

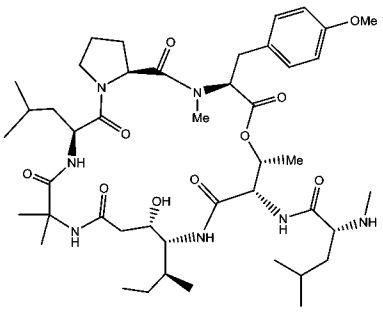
【請求項21】根據任一前述請求項所述之化合物，其中Y係CO。

【請求項22】根據請求項1至20中任一項所述之化合物，其中Y係-$COCH(CH_3)CO$-。

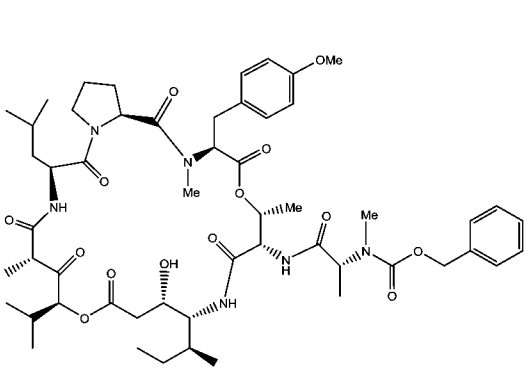
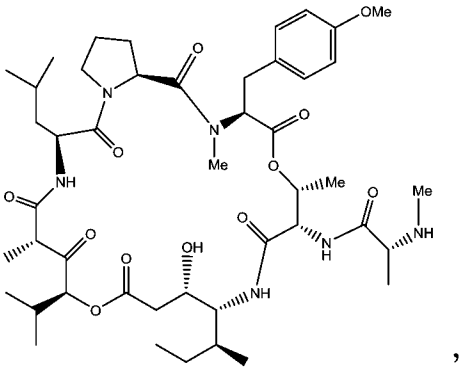
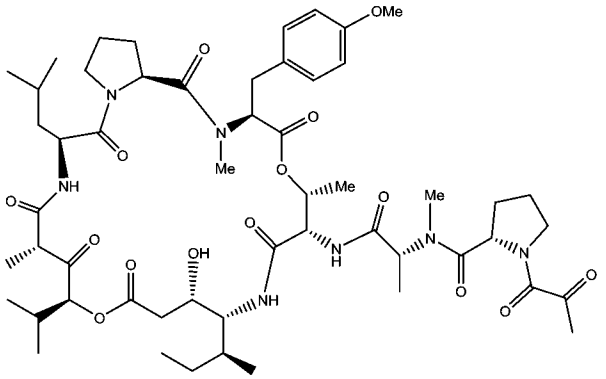
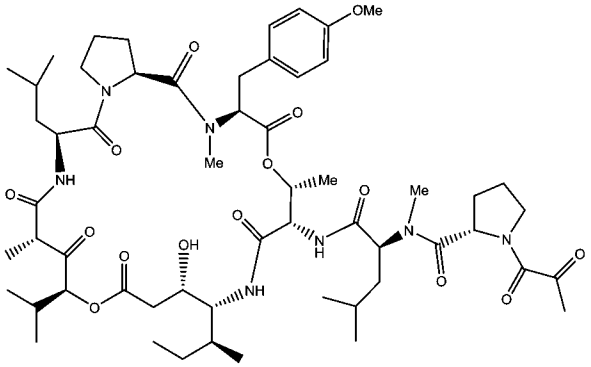
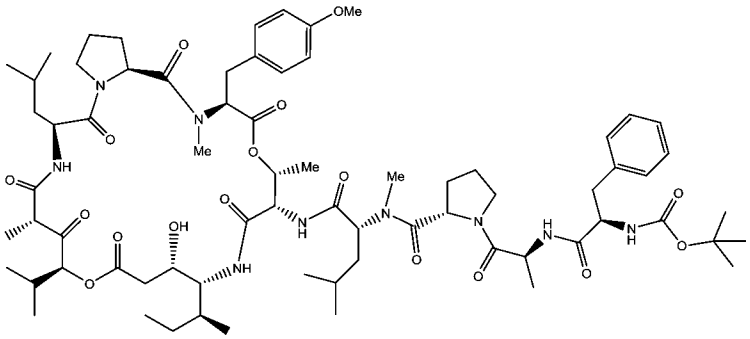
【請求項23】根據請求項1至7中任一項所述之化合物，該化合物具有以下結構：

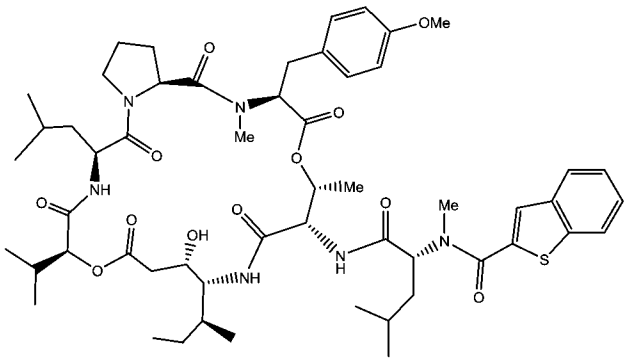


，

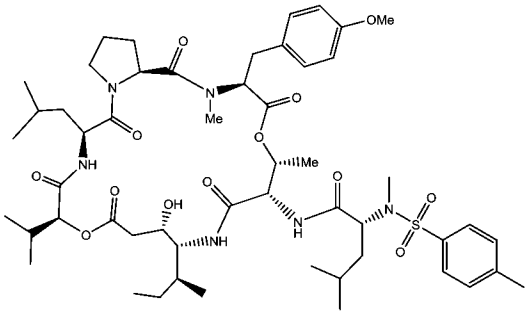


，

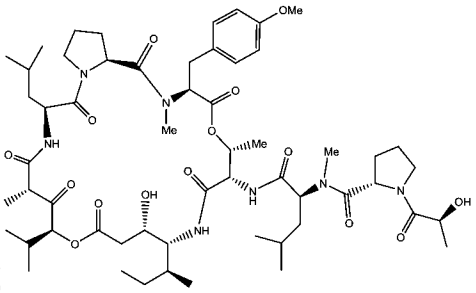

,

,

,

,

,



，



，或



或其藥學上可接受之鹽或立體異構體。

【請求項24】根據請求項1至7中任一項所述之化合物，其中該化合物係PLD或其藥學上可接受之鹽或立體異構體。

【請求項25】根據請求項1至7中任一項所述之化合物，其中該化合物係膜海鞘素B，或其藥學上可接受之鹽或立體異構體。

【請求項26】根據請求項2所述之化合物，其中Toll樣受體被單鏈RNA病毒激活，其中，較佳地，該病毒選自黃病毒科、小RNA病毒科、披膜病毒科、杯狀病毒科、反轉錄病毒科、冠狀病毒科、正粘病毒科、白蛉病毒屬、沙狀病毒科、或雙鏈DNA病毒，較佳係皰疹病毒科。

【請求項27】根據請求項4至6中任一項所述之化合物，其中該病原體係病毒，較佳係單鏈RNA病毒，其中，較佳地，該病毒選自黃病毒科、小RNA病毒科、披膜病毒科、杯狀病毒科、反轉錄病毒科、冠狀病毒科、正粘病毒科、白蛉病毒屬、沙狀病毒科、或雙鏈DNA病毒，較佳係皰疹病毒科。

【請求項28】根據請求項5、6或7所述之化合物，其中該病毒係單鏈RNA病

毒，其中，較佳地，該病毒選自黃病毒科、小RNA病毒科、披膜病毒科、杯狀病毒科、反轉錄病毒科、冠狀病毒科、正粘病毒科、白蛉病毒屬、沙狀病毒科、或雙鏈DNA病毒，較佳係皰疹病毒科。

【請求項29】根據請求項26至28中任一項所述之化合物，其中該病毒係黃病毒科病毒；並且可選地選自黃熱病病毒(YFV)、丙型肝炎病毒、西尼羅病毒(WNV)、登革熱病毒(DENV)、日本腦炎病毒(JEV)、蜱傳腦炎病毒(TBEV)、豬瘟病毒和寨卡病毒(ZIKV)。

【請求項30】根據請求項26至28中任一項所述之化合物，其中該病毒係冠狀病毒亞科；並且可選地係為SARS-CoV-2。

【請求項31】根據請求項26至28中任一項所述之化合物，其中該病毒係小RNA病毒科，並且可選地係口蹄疫病毒、腸道病毒A71、柯薩奇病毒、鼻病毒和甲型肝炎。

【請求項32】根據請求項26至28中任一項所述之化合物，其中該病毒係披膜病毒科；並且可選地係基孔肯雅病毒、辛德畢斯病毒、塞姆利基森林病毒、東部馬腦炎病毒/西部馬腦炎病毒/委內瑞拉馬腦炎病毒和風疹病毒。

【請求項33】根據請求項26至28中任一項所述之化合物，其中該病毒係杯狀病毒科；並且可選地係兔出血熱病毒、諾如病毒、紐布病毒、Recovirus、紮幌病毒、Valovirus、水泡疹病毒，特別係諾沃克病毒。

【請求項34】根據請求項26至28中任一項所述之化合物，其中該病毒係反轉錄病毒科；並且可選地係HIV。

【請求項35】根據請求項26至28任一項所述之化合物，其中該病毒係正粘病毒科，並且可選地係流感。

【請求項36】根據請求項26至28中任一項所述之化合物，其中該病毒係白蛉病毒屬，並且可選地係白蛉熱病毒或裂谷熱病毒。

【請求項37】根據請求項26至28中任一項所述之化合物，其中該病毒係沙狀病毒科，並且可選地係伯欽特病毒。

【請求項38】根據請求項26至28中任一項所述之化合物，其中該病毒係皰疹病毒科，較佳係單純皰疹病毒1或2。

【請求項39】根據請求項26至28中任一項所述之化合物，其中該病毒係呼吸道病毒。

【請求項40】一種用於治療COVID-19和/或用於治療由COVID-19引起之肺炎或ARDS之根據請求項1至39中任一項所述之化合物，其中該病毒係為SARS-CoV-2。

【請求項41】根據請求項30所述之化合物，其中該CoV感染係輕度感染；和/或其中該CoV感染係中度感染；和/或其中該CoV感染係重度感染。

【請求項42】根據請求項30所述之化合物，其中該CoV感染係急性CoV感染，較佳地，其中該CoV感染係急性COVID-19感染；和/或其中該CoV感染係持續症狀之CoV感染，較佳地，其中該CoV感染係持續症狀之COVID-19感染；和/或其中該CoV感染係後CoV綜合征、持續性CoV或長CoV；較佳地，其中該CoV感染係後COVID-19綜合征、持續性COVID或長COVID感染。

【請求項43】根據請求項42所述之化合物，其中後CoV綜合征、持續性CoV或長CoV包括由以下引起之一種或多種症狀：心血管、呼吸、胃腸、神經、肌肉骨骼、代謝、腎臟、皮膚、耳鼻咽喉、血液學和自主神經系統；精神問題、全身疼痛、疲勞和/或持續發燒。

【請求項44】根據請求項30所述之化合物，該化合物用於治療具有CoV感染，較佳係COVID-19症狀和體征長達4周之患者；和/或用於治療具有CoV感染，較佳係COVID-19症狀和體征4周至12周之患者；和/或用於治療具有CoV感染，較佳係COVID-19症狀和體征超過12周之患者。

【請求項45】根據請求項30所述之化合物，其中該化合物用於預防、減少或治療持續性COVID、長COVID或後COVID綜合征；較佳地，該預防、減少或治療將患者患有持續性COVID、長COVID或後COVID綜合征症狀之可能性降至最低；和/或降低此類症狀之嚴重程度；進一步較佳地，該治療將CoV感染之症狀降至最低。

【請求項46】根據請求項30所述之化合物，其中該治療降低CoV患者之傳染性；包括其中該患者係無症狀之或症狀不明顯之患者但具有高病毒載量。

【請求項47】根據任一前述請求項所述用途之化合物，其中該化合物與皮質類固醇，較佳地塞米松聯合給藥。

【請求項48】根據請求項47所述用途之化合物，其中該化合物和皮質類固醇同時、分別或依次給藥。

【請求項49】根據任一前述請求項所述用途之化合物，其中根據每日劑量之方案給藥10天、9天、8天、7天、6天、5天、4天、3天、2天或1天；較佳係2-5天、3-5天或3、4或5天；最佳係3天或5天；最佳係3天。

【請求項50】根據任一前述請求項所述用途之化合物，其中該化合物以每天5mg或更少、每天4.5mg或更少、每天4mg或更少、每天3.5mg或更少、每天3mg或更少、每天2.5mg或更少、或每天2mg或更少；0.5mg/天、1mg/天、1.5mg/天、2mg/天、2.5mg/天、3mg/天、3.5mg/天、4mg/天、4.5mg/天、或5mg/天；較佳係1mg/天、1.5mg/天、2mg/天或2.5mg/天；更佳係1.5-2.5mg/天；最佳係1.5mg/天、2.0mg/天或2.5mg/天之劑量給藥。

【請求項51】根據任一前述請求項所述用途之化合物，其中該化合物以1-50mg、1-40mg、1-30mg、1-20mg、1-15mg、3-15mg、3-12mg、4-12mg、4-10mg、4.5-10mg；4.0mg、4.5mg、5mg、5.5mg、6mg、6.5mg、7mg、7.5mg、8mg、8.5mg、9mg、9.5mg或10mg；較佳係4.5mg、5mg、6mg、7.5mg、8mg、9mg、或10mg；

更佳係4.5-7.5mg/天之總劑量給藥。

【請求項52】根據任一前述請求項所述用途之化合物，其中該化合物藉由注射給藥。

【請求項53】根據請求項52所述用途之化合物，其中該注射係1小時注射、1.5小時注射、2小時注射或3小時注射，較佳係1.5小時注射。

【請求項54】根據請求項1至53中任一項所述用途之化合物，其中1.5mg普立肽以1.5小時注射給藥，每天1次，連續3天；或其中2mg普立肽以1.5小時注射給藥，每天1次，連續3天；或其中2.5mg普立肽以1.5小時注射給藥，每天1次，連續3天；或其中1mg普立肽以1.5小時注射給藥，每天一次，連續5天；或其中2mg普立肽以1.5小時注射給藥，每天一次，連續5天。

【請求項55】根據任一前述請求項所述用途之化合物，其中該化合物使用負荷劑量和維持劑量給藥。

【請求項56】根據請求項55所述用途之化合物，其中給藥方案係為：

第1天2.5mg之負荷劑量，隨後幾天2mg/天之維持劑量；

第1天2.5mg之負荷劑量，隨後幾天1.5mg/天之維持劑量；

第1天2.5mg之負荷劑量，隨後幾天1mg/天之維持劑量；

第1天2.5mg之負荷劑量，隨後幾天0.5mg/天之維持劑量；

第1天2mg之負荷劑量，隨後幾天1.5mg/天之維持劑量；

第1天2mg之負荷劑量，隨後幾天1mg/天之維持劑量；

第1天2mg之負荷劑量，隨後幾天0.5mg/天之維持劑量；

第1天1.5mg之負荷劑量，隨後幾天1mg/天之維持劑量；

第1天1.5mg之負荷劑量，隨後幾天0.5mg/天之維持劑量；或

第1天1mg之負荷劑量，隨後幾天0.5mg/天之維持劑量。

【請求項57】根據任一前述請求項所述用途之化合物，其中該化合物與皮質

類固醇組合給藥，並且其中該皮質類固醇於與給藥根據請求項1至25中任一項所述之化合物相同之天數給藥。

【請求項58】根據請求項57所述用途之化合物，其中亦可以於隨後一天或更多天給藥該皮質類固醇；較佳地，於第1-3天與化合物一起給藥該皮質類固醇，於第4-10天中之一天或更多天進一步給藥該皮質類固醇。

【請求項59】根據請求項58所述用途之化合物，其中該皮質類固醇於給藥該化合物之天數藉由靜脈注射給藥，但係於隨後天數藉由口服或IV給藥。

【請求項60】根據請求項57至59中任一項所述用途之化合物，其中該皮質類固醇係地塞米松；較佳地，其中於給藥根據本發明之化合物時以6.6mg/天之劑量IV給藥地塞米松。

【請求項61】根據請求項60所述用途之化合物，其中地塞米松於隨後天數，較佳係第4、5、6、7、8、9和10天中之一天或更多天，以6mg/天之劑量口服給藥或IV給藥。

【請求項62】根據任一前述請求項所述用途之化合物，其中於第1至3天靜脈注射（IV）給藥PLD 1.5mg/天，並與靜脈注射地塞米松6.6mg/天組合，隨後從第4天直至第10天口服（PO）/IV地塞米松6mg/天（取決於醫生根據患者臨床狀況和進展之判斷）；或

其中於第1天至第3天靜脈注射（IV）給藥PLD 2.0mg/天，並與靜脈注射地塞米松6.6mg/天組合，隨後從第4天直至第10天口服（PO）/IV地塞米松6mg/天（取決於醫生根據患者臨床狀況和進展之判斷）；或

其中於第1天至第3天靜脈注射（IV）給藥PLD 2.5mg/天，並與靜脈注射地塞米松6.6mg/天組合，隨後從第4天直至第10天口服（PO）/IV地塞米松6mg/天（取決於醫生根據患者臨床狀況和進展之判斷）。

【請求項63】根據請求項57至62中任一項所述用途之化合物，其中於開始用

根據請求項1至25中任一項所述之化合物治療之前20至30分鐘給藥該皮質類固醇。

【請求項64】根據任一前述請求項所述用途之化合物，其中於開始使用根據請求項1至25中任一項所述之化合物進行治療之前，較佳係20至30分鐘，患者額外接受下列藥物：

昂丹司瓊8mg IV（或等同藥物）；

鹽酸苯海拉明25mg IV（或等同藥物）；以及

雷尼替丁50mg IV（或等同藥物）。

【請求項65】根據任一前述請求項所述用途之化合物，其中於第4天和第5天，患者PO接受4mg之昂丹司瓊（或等同藥物），每天兩次。

【請求項66】根據請求項1至53中任一項所述用途之化合物，其中該化合物以單劑量給藥(第1天)。

【請求項67】根據請求項66所述用途之化合物，其中單劑量係為1-10mg、4-10mg、4.5-10mg、4mg、4.5mg、5mg、5.5mg、6mg、6.5mg、7mg、7.5mg、8mg、8.5mg、9mg、9.5mg、或10mg，較佳係4.5mg、5mg、6mg、7.5mg、8mg、9mg或10mg，更佳係5-9mg、6.5-8.5mg、7-8mg或最佳係7.5mg。

【請求項68】根據請求項66至67中任一項所述用途之化合物，其中該化合物以1.5小時注射給藥。

【請求項69】根據請求項66至68中任一項所述用途之化合物，其中根據請求項57至63中任一項所述之方案給藥皮質類固醇。

【請求項70】根據請求項66至69中任一項所述用途之化合物，其中於用本發明化合物給藥之前20-30分鐘給藥以下預防性藥物：

靜脈注射昂丹司瓊8mg（或等同藥物），特別係以15分鐘緩慢注射；

靜脈注射鹽酸苯海拉明25mg（或等同藥物）；

靜脈注射雷尼替丁50mg（或等同藥物）。

【請求項71】根據請求項66至70中任一項所述用途之化合物，其中於給藥本發明化合物後每12小時口服給藥昂丹司瓊4mg，持續3天。

【請求項72】根據任一前述請求項所述用途之化合物，其中地塞米松係磷酸地塞米松，如果於給藥本發明化合物之天數給藥，則以8mg之劑量給藥（相當於6.6mg鹼之劑量），如果於給藥本發明化合物之天數後給藥，則以7.2mg之劑量給藥（相當於6mg鹼之劑量）。

【請求項73】一種用於治療炎症之藥物組合物，該藥物組合物包含任一前述請求項所定義之化合物或其藥學上可接受之鹽或立體異構體，以及藥學上可接受之載體。

【請求項74】一種用於治療與Toll樣受體激活相關之炎症之藥物組合物，該藥物組合物包含根據請求項1至72中任一項所述之化合物或其藥學上可接受之鹽或立體異構體，以及藥學上可接受之載體。

【請求項75】一種用於治療選自肺炎、急性呼吸窘迫(ARDS)、以及免疫病理學，特別係高細胞因子血症(細胞因子風暴綜合征)、敗血症和移植物抗宿主病之疾病之藥物組合物，該藥物組合物包含根據請求項1至72中任一項所述之化合物或其藥學上可接受之鹽或立體異構體，以及藥學上可接受之載體。

【請求項76】一種用於治療病原體誘導之炎症之藥物組合物，該藥物組合物包含根據請求項1至72中任一項所述之化合物或其藥學上可接受之鹽或立體異構體、以及藥學上可接受之載體。

【請求項77】一種用於聯合治療與Toll樣受體激活相關之炎症或病原體誘導之炎症或治療病毒感染之藥物組合物，該藥物組合物包含根據請求項1至72中任一項所述之化合物或其藥學上可接受之鹽或立體異構體、以及藥學上可接受之載體。

【請求項78】一種用作抗炎藥和抗病毒藥之藥物組合物，該藥物組合物包含根據請求項1至72中任一項所述之化合物或其藥學上可接受之鹽或立體異構體、以及藥學上可接受之載體。

【請求項79】一種根據請求項1至72中任一項所定義之化合物或其藥學上可接受之鹽或立體異構體於製備用於治療炎症之藥物中之用途。

【請求項80】一種根據請求項1至72中任一項所定義之化合物或其藥學上可接受之鹽或立體異構體於製備用於治療與Toll樣受體激活相關之炎症之藥物中之用途。

【請求項81】一種根據請求項1至72中任一項所定義之化合物或其藥學上可接受之鹽或立體異構體於製備用於治療選自肺炎、急性呼吸窘迫(ARDS)、和免疫病理，特別係高細胞因子血症(細胞因子風暴綜合征)、敗血症和移植物抗宿主病之疾病之藥物中之用途。

【請求項82】一種根據請求項1至72中任一項所定義之化合物或其藥學上可接受之鹽或立體異構體於製備用於治療病原體誘導之炎症之藥物中之用途。

【請求項83】一種根據請求項1至72中任一項所述之化合物或其藥學上可接受之鹽或立體異構體於製備用於聯合治療與Toll樣受體激活相關之炎症或病原體誘導之炎症和治療病毒感染之藥物中之用途。

【請求項84】一種根據請求項1至72中任一項所述之化合物或藥學上可接受之鹽或其立體異構體於製備用作抗炎藥和抗病毒藥之藥物中之用途。

【請求項85】一種治療炎症之方法，其中該方法包括向有需要之個體給藥治療有效量之根據請求項1至72中任一項所述之化合物或其藥學上可接受之鹽或立體異構體。

【請求項86】一種治療與Toll樣受體激活相關之炎症之方法，其中該方法包括向有需要之個體給藥治療有效量之根據請求項1至72中任一項所述之化合物

或其藥學上可接受之鹽或立體異構體。

【請求項87】一種治療選自肺炎、急性呼吸窘迫(ARDS)、以及免疫病理，特別係高細胞因子血症(細胞因子風暴綜合征)、敗血症和移植物抗宿主病之疾病之方法，其中該方法包括向有需要之個體給藥治療有效量之根據請求項1至72中任一項所述之化合物或其藥學上可接受之鹽或立體異構體。

【請求項88】一種治療病原體誘導之炎症之方法，其中該方法包括向有需要之個體給藥治療有效量之根據請求項1至72中任一項所述之化合物或其藥學上可接受之鹽或立體異構體。

【請求項89】一種聯合治療與Toll樣受體激活相關之炎症或病原體誘導之炎症和治療病毒感染之方法，其中該方法包括向有需要之個體給藥治療有效量之根據請求項1至72中任一項所述之化合物或其藥學上可接受之鹽或立體異構體。

【請求項90】一種抗炎和抗病毒治療之方法，其中該方法包括向有需要之個體給藥治療有效量之根據請求項1至72中任一項所述之化合物或其藥學上可接受之鹽或立體異構體。

【請求項91】一種用於治療與Toll樣受體激活相關之炎症；用於治療選自肺炎、急性呼吸窘迫(ARDS)和免疫病理，特別係高細胞因子血症(細胞因子風暴綜合征)、敗血症和移植物抗宿主病之疾病；用於治療病原體誘導之炎症；用於聯合治療與Toll樣受體激活相關之炎症或病原體誘導之炎症和治療病毒感染；或用作抗炎藥和抗病毒藥之試劑盒，該試劑盒包含根據請求項1至72中任一項所定義之化合物以及用於治療炎症之說明書。

【請求項92】一種降低受試者或得自受試者之樣品或細胞培養物中之一種或多種促炎細胞因子之表達和/或分泌之方法，該方法包括給藥請求項1至72中任一項所述之化合物。

【請求項93】一種增加受試者或得自受試者之樣品或細胞培養物中之巨噬

細胞激活和/或募集之方法，該方法包括給藥根據請求項1至72中任一項所述之化合物。

【請求項94】一種預防、減少或治療持續性CoV、長CoV或後CoV綜合征之炎症方面之方法，其中該方法包括向有需要之個體給藥治療有效量之根據請求項1至72中任一項所述之化合物或其藥學上可接受之鹽或立體異構體；較佳地，其中CoV係SARS-CoV-2；可選地，其中該治療使患者遭受持續性COVID、長COVID或後COVID綜合征症狀之可能性最小化；和/或降低此類症狀之嚴重程度。

【請求項95】一種減少CoV患者之傳染性和炎症之方法，其中該方法包括向有需要之個體給藥治療有效量之根據請求項1至72中任一項所述之化合物或其藥學上可接受之鹽或立體異構體；較佳地，其中該CoV係SARS-CoV-2；可選地，其中該患者無症狀或症狀不明顯但具有高病毒載量。

【請求項96】一種最小化CoV感染之炎症症狀之方法，其中該方法包括向有需要之個體給藥治療有效量之根據請求項1至72中任一項所述之化合物或其藥學上可接受之鹽或立體異構體；較佳地，其中該CoV係SARS-CoV-2。

【請求項97】一種用於治療炎症之皮質類固醇，其中該皮質類固醇與根據請求項1至72中任一項所述之化合物組合給藥。

【請求項98】一種用於治療炎症之根據請求項1至25中任一項所述之化合物和皮質類固醇，其中該用途根據請求項1至72中任一項所述。

【請求項99】一種治療炎症之方法，該方法包括將根據請求項1至25中任一項所述之化合物或其藥學上可接受之鹽和皮質類固醇之組合療法施用於有需要之患者，從而治療炎症；其中該方法根據請求項1至72中任一項所述。

【請求項100】一種根據請求項1至72中任一項所定義之化合物或其藥學上可接受之鹽或立體異構體於製備用於治療炎症之藥物中之用途，其中該治療包

括給藥皮質類固醇。

【請求項101】一種皮質類固醇於製備用於治療炎症之藥物中之用途，其中該治療包括給藥根據請求項1至72中任一項所述之化合物或其藥學上可接受之鹽或立體異構體。

【請求項102】一種根據請求項1至72中任一項所定義之化合物或其藥學上可接受之鹽或立體異構體和皮質類固醇於製備用於治療炎症之藥物中之用途。

【請求項103】一種包含根據請求項1至25中任一項所定義之化合物和皮質類固醇之藥物包裝，可選地，該藥物包裝進一步包含根據請求項1至72中任一項之說明書。

【發明圖式】

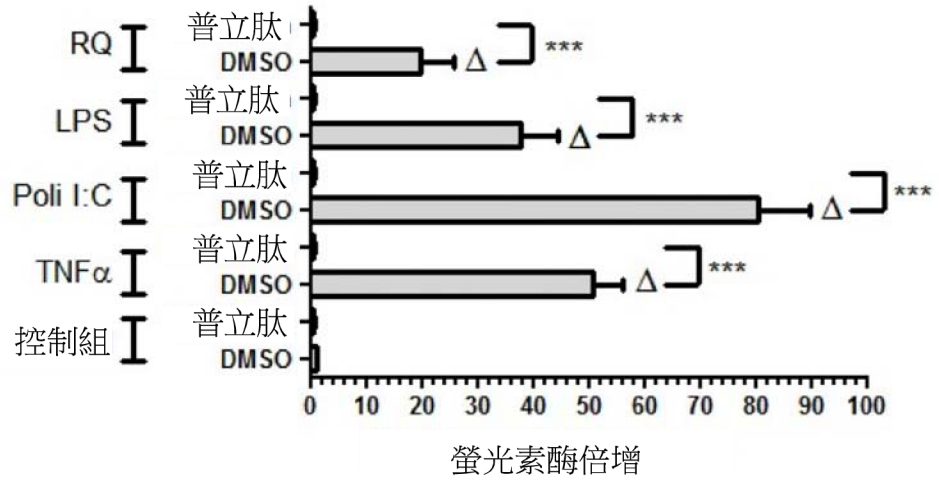

RQ
LPS
Poli I:C
TNFα
控制組
普立肽
DMSO
Δ
***
0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100
螢光素酶倍增

圖 1a

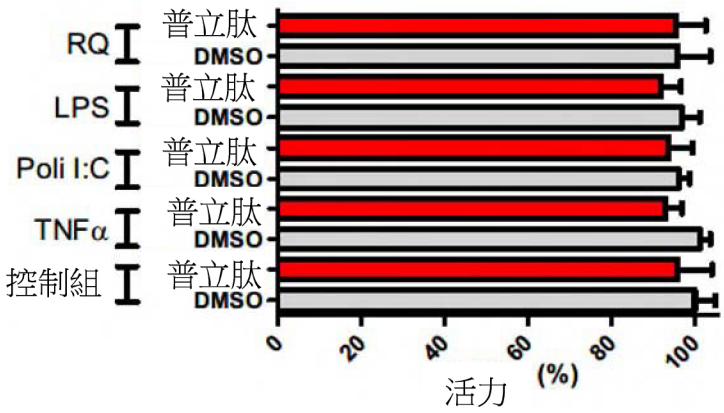

RQ
LPS
Poli I:C
TNFα
控制組
普立肽
DMSO
0 20 40 60 80 100
(%)
活力

圖 1b

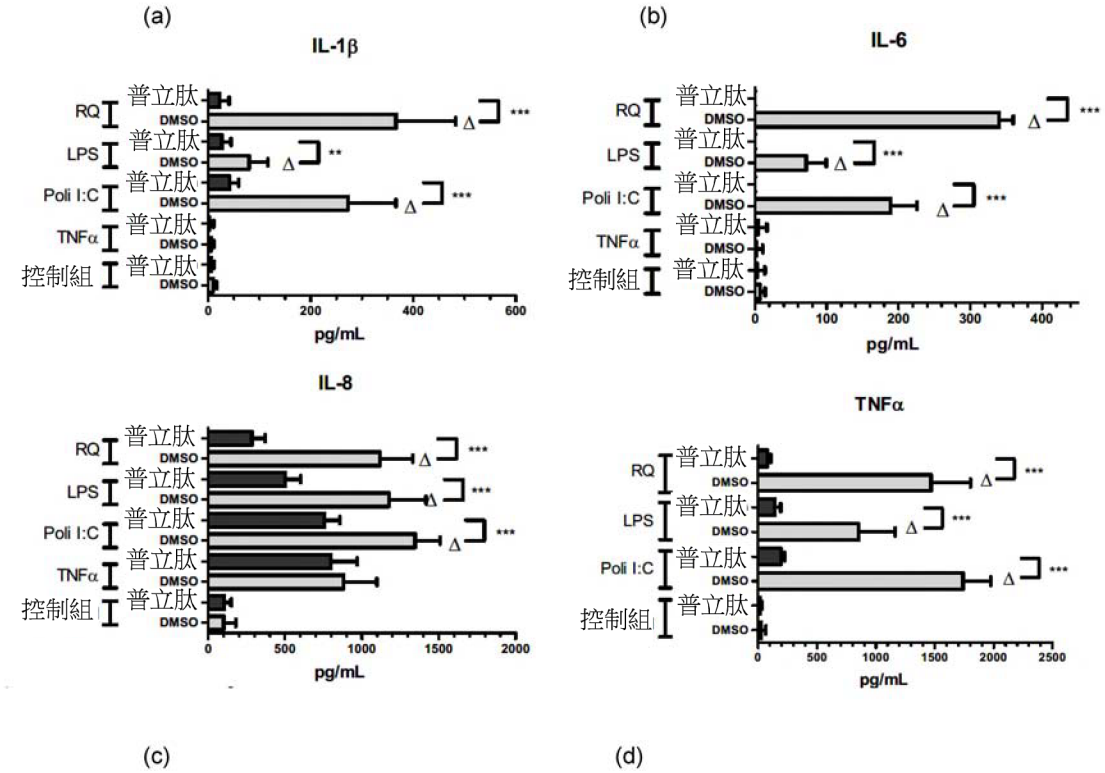
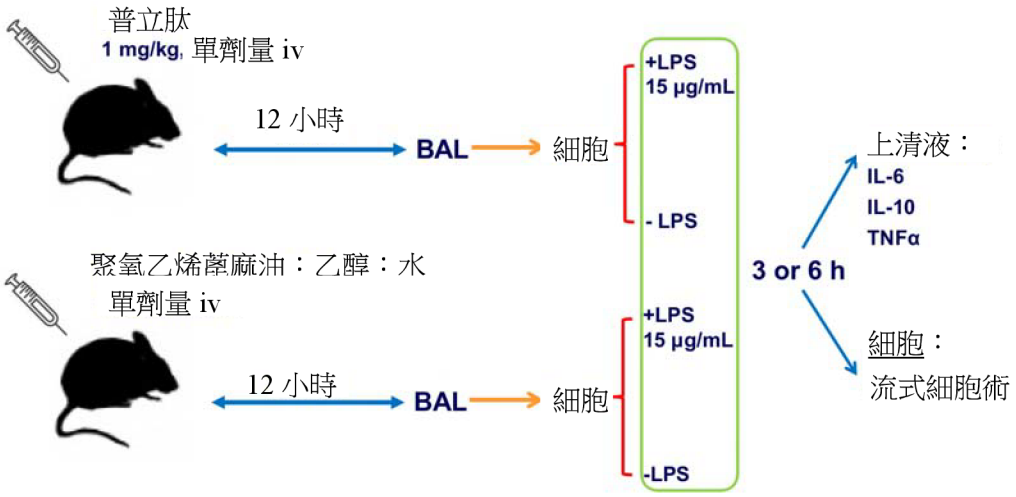


圖 2

(a)


普立肽
1 mg/kg, 單劑量 iv
12 小時
BAL
細胞
+LPS
15 μg/mL
- LPS
聚氧乙烯蓖麻油：乙醇：水
單劑量 iv
12 小時
BAL
細胞
+LPS
15 μg/mL
-LPS
3 or 6 h
上清液：
IL-6
IL-10
TNFα
細胞：
流式細胞術

(b)

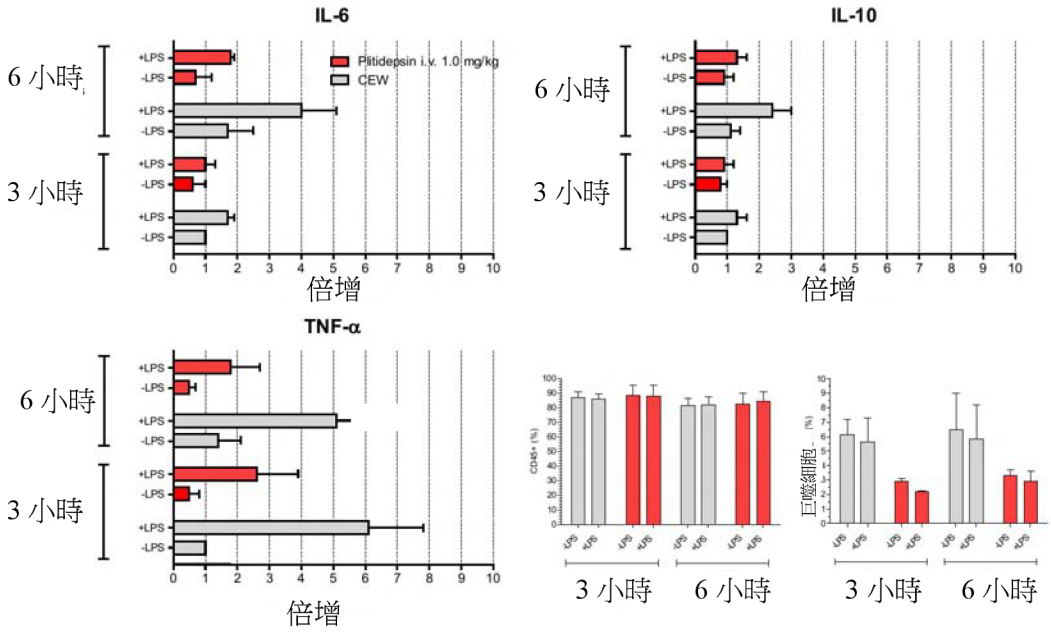

IL-6
IL-10
TNF-α
6 小時
3 小時
+LPS
-LPS
Plitidepsin i.v. 1.0 mg/kg
CEW
倍增
巨噬細胞
3 小時
6 小時

圖 3

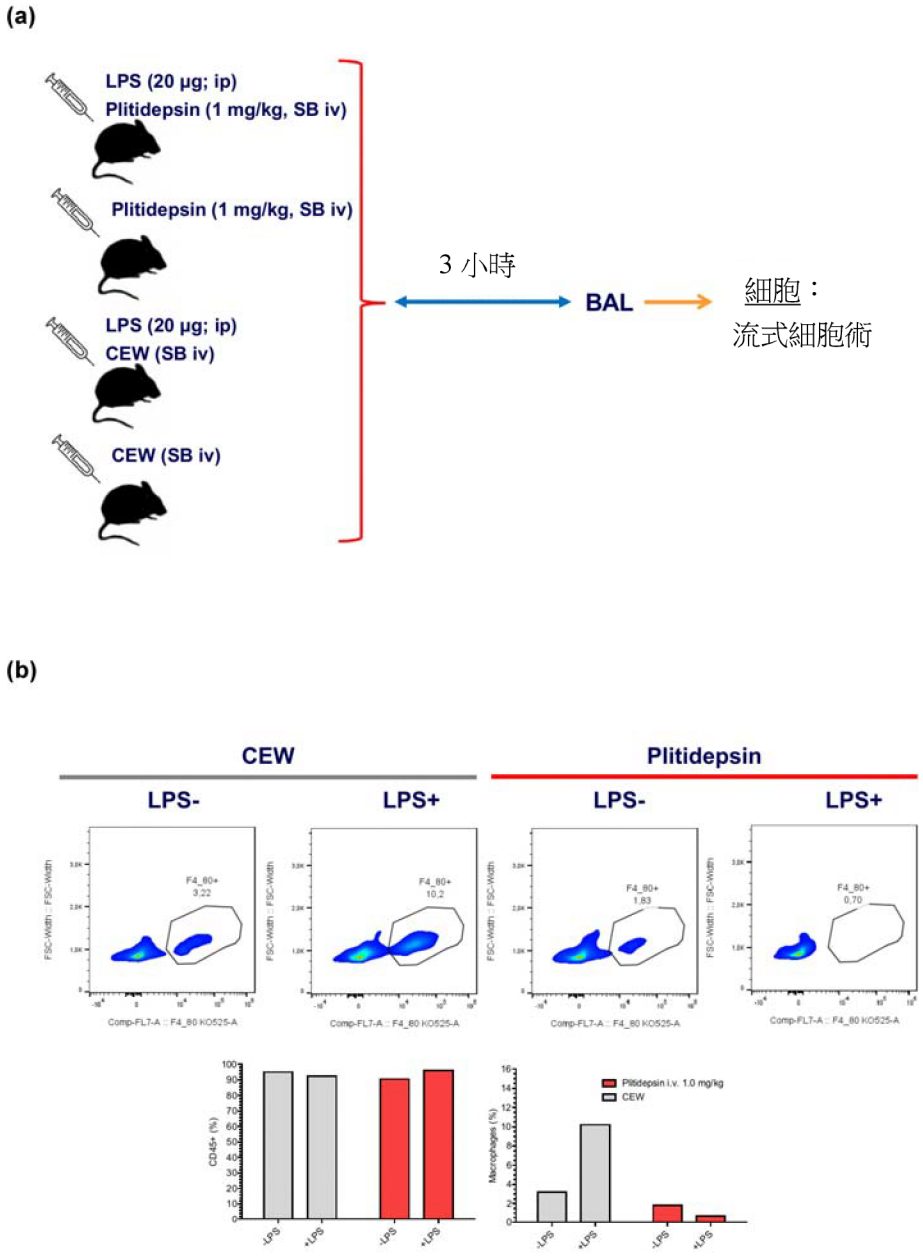

(a)
LPS (20 μg; ip)
Plitidepsin (1 mg/kg, SB iv)
Plitidepsin (1 mg/kg, SB iv)
LPS (20 μg; ip)
CEW (SB iv)
CEW (SB iv)
3 小時
BAL
細胞：
流式細胞術
(b)
CEW
Plitidepsin
LPS-
LPS+
LPS-
LPS+
F4_80+
3,22
F4_80+
10,2
F4_80+
1,83
F4_80+
0,70
CD45+ (%)
Plitidepsin i.v. 1.0 mg/kg
CEW
Macrophages (%)
-LPS
+LPS

圖 4

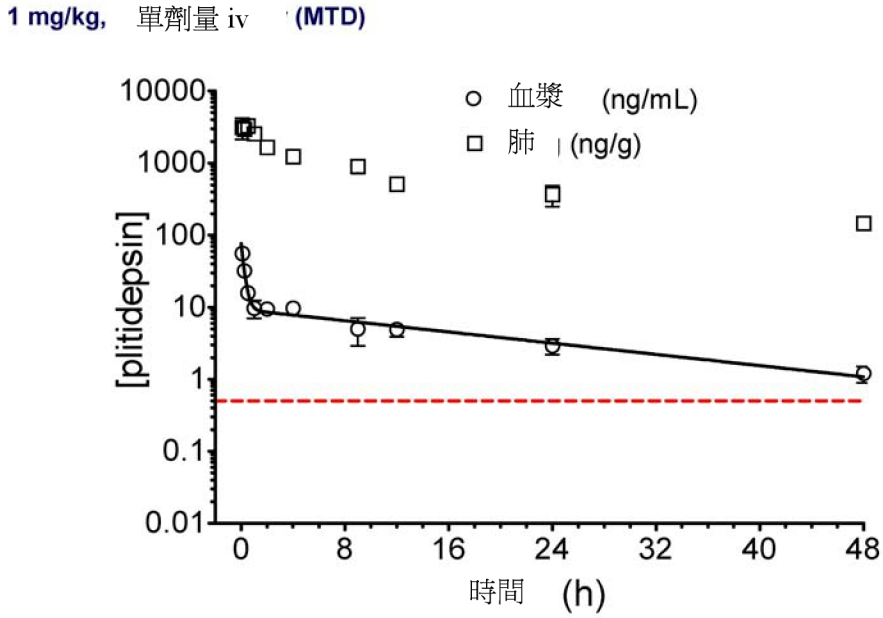

1 mg/kg, 單劑量 iv (MTD)
血漿 (ng/mL)
肺 (ng/g)
[plitidepsin]
10000
1000
100
10
1
0.1
0.01
0
8
16
24
32
40
48
時間 (h)

圖 5a

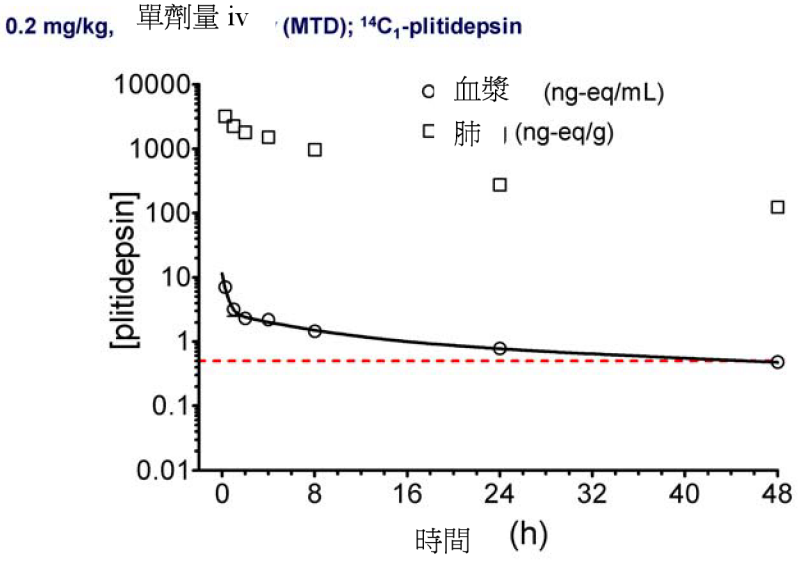

0.2 mg/kg, 單劑量 iv (MTD); $^{14}C_1$-plitidepsin
血漿 (ng-eq/mL)
肺 (ng-eq/g)
[plitidepsin]
10000
1000
100
10
1
0.1
0.01
0
8
16
24
32
40
48
時間 (h)

圖 5b

0.2 mg/kg, 單劑量 iv

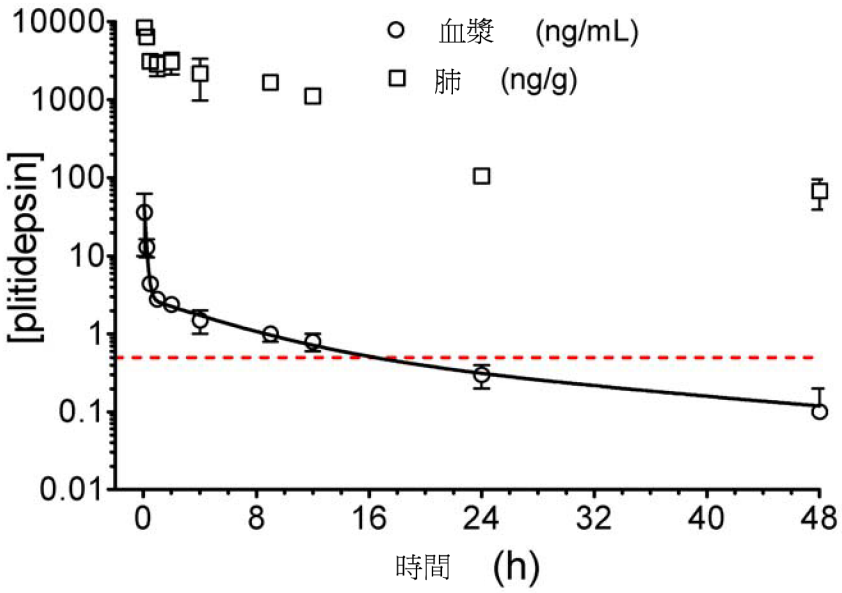


圖 5c

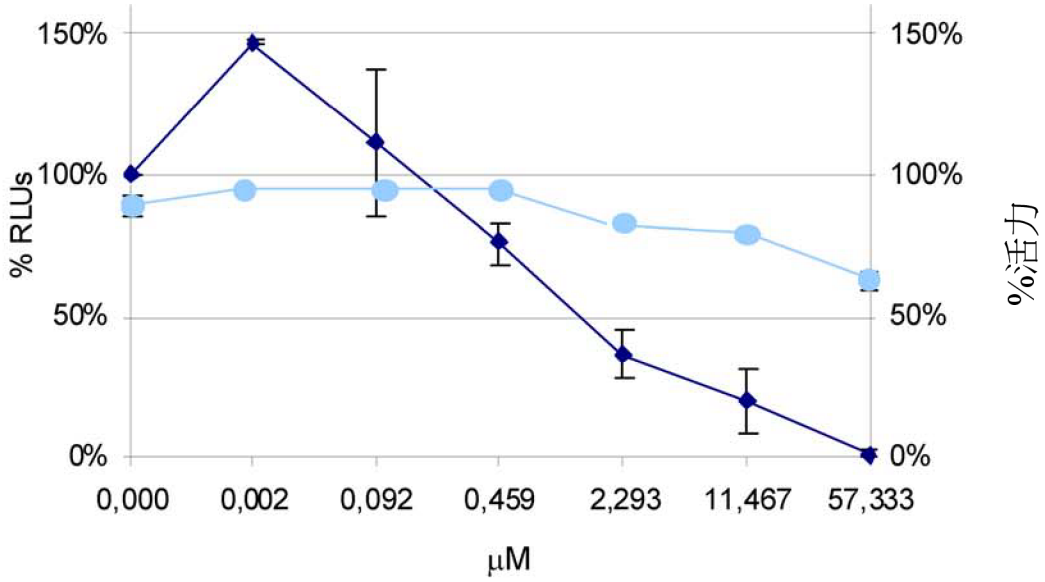

150%
100%
50%
0%
% RLUs
%活力
0,000
0,002
0,092
0,459
2,293
11,467
57,333
μM

圖 6A

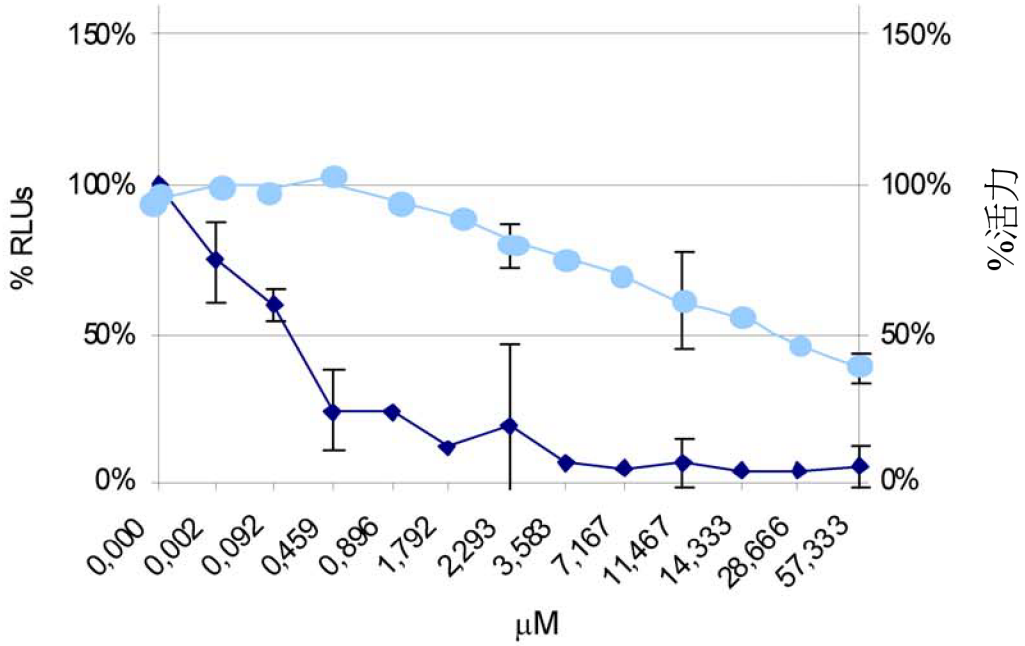

150%
100%
50%
0%
% RLUs
%活力
0,000
0,002
0,092
0,459
0,896
1,792
2,293
3,583
7,167
11,467
14,333
28,666
57,333
μM

圖 6B

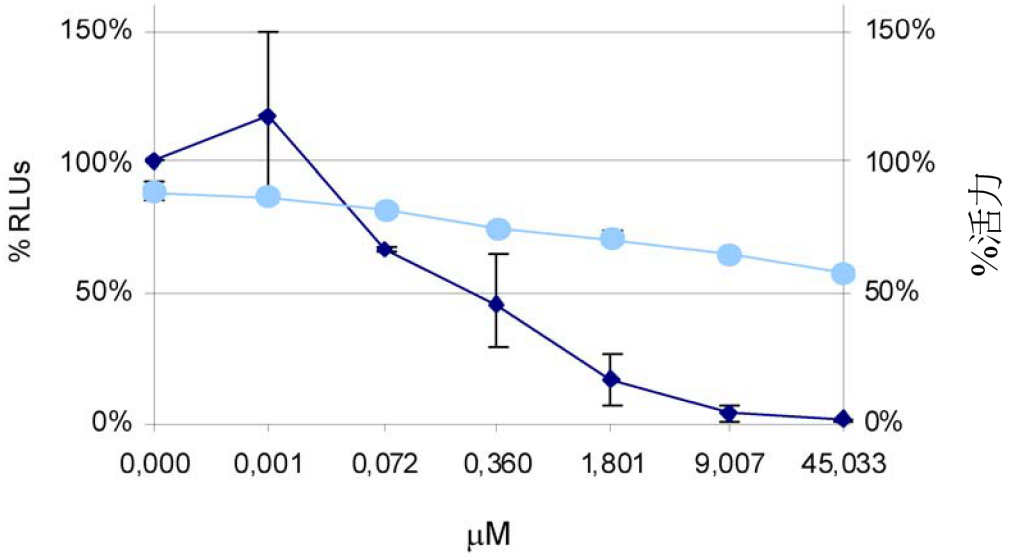

150%
100%
50%
0%
% RLUs
%活力
0,000
0,001
0,072
0,360
1,801
9,007
45,033
μM

圖 7A

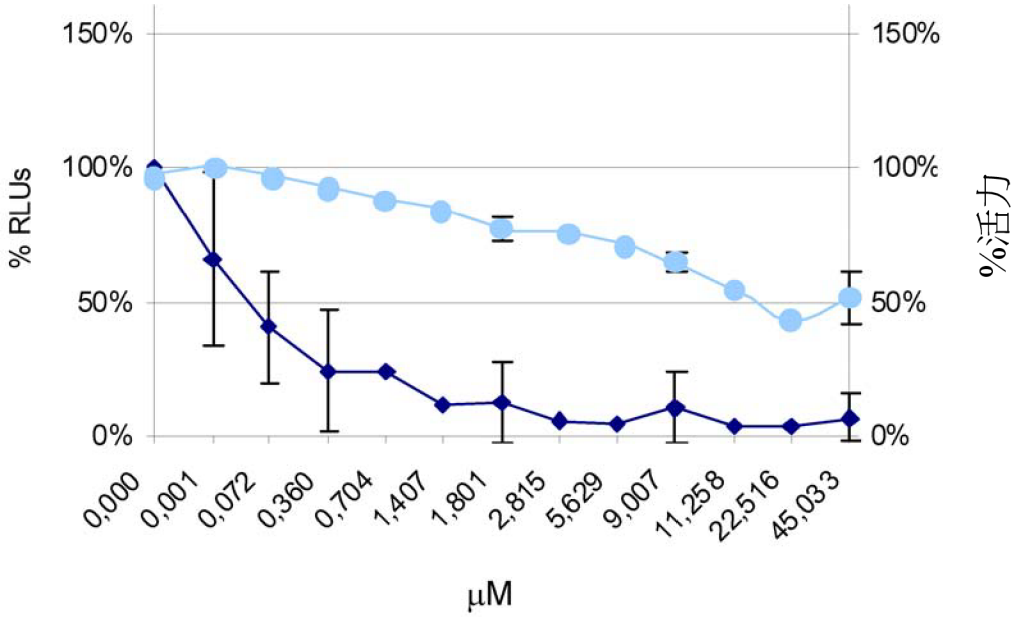

150%
100%
50%
0%
% RLUs
%活力
0,000
0,001
0,072
0,360
0,704
1,407
1,801
2,815
5,629
9,007
11,258
22,516
45,033
μM

圖 7B

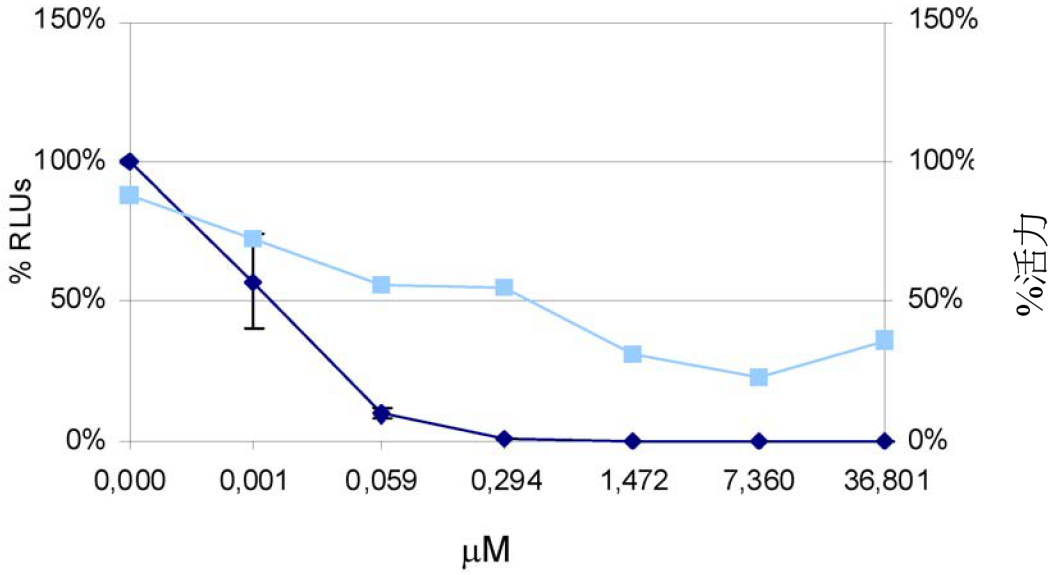

150%
100%
50%
0%
% RLUs
%活力
0,000
0,001
0,059
0,294
1,472
7,360
36,801
μM

圖 8A

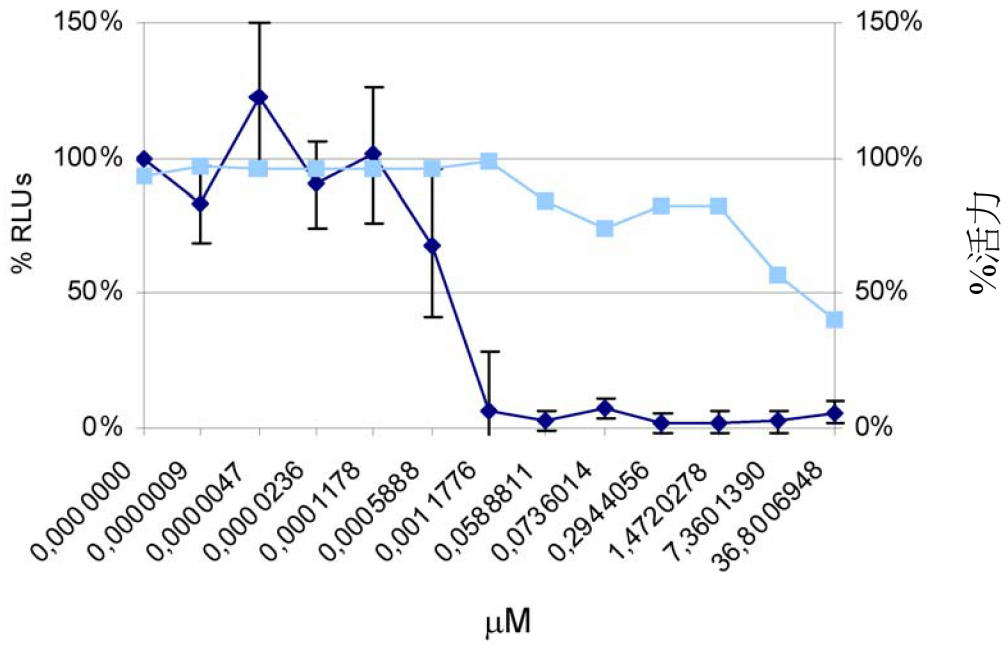

150%
100%
50%
0%
% RLUs
%活力
0,000 0000
0,0000009
0,0000047
0,000 0236
0,0001178
0,0005888
0,001 1776
0,0588811
0,0736014
0,2944056
1,4720278
7,3601390
36,8006948
μM

圖 8B

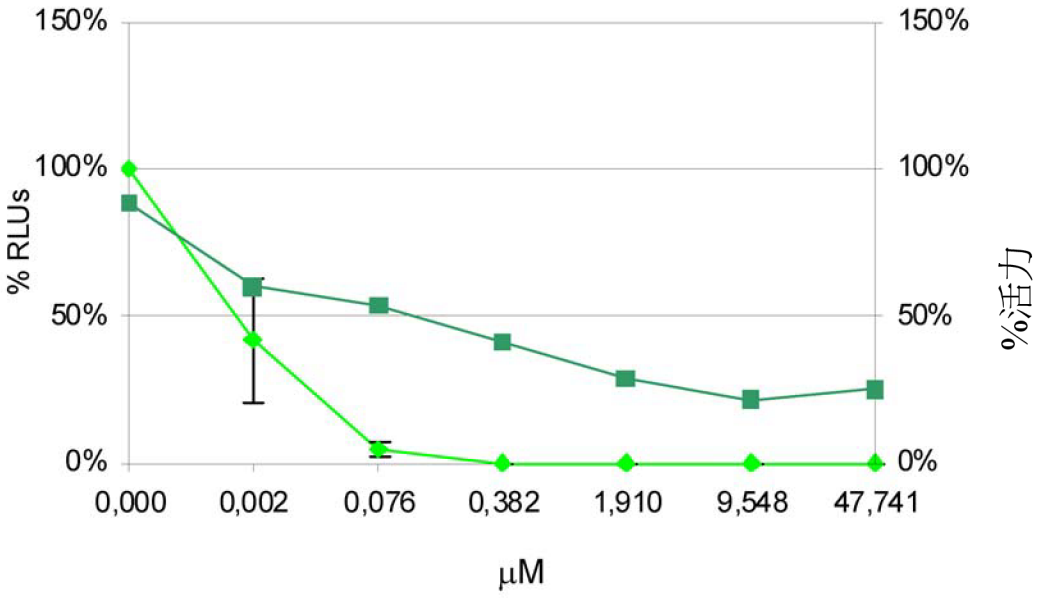

150%
100%
50%
0%
% RLUs
%活力
0,000
0,002
0,076
0,382
1,910
9,548
47,741
μM

圖 9A

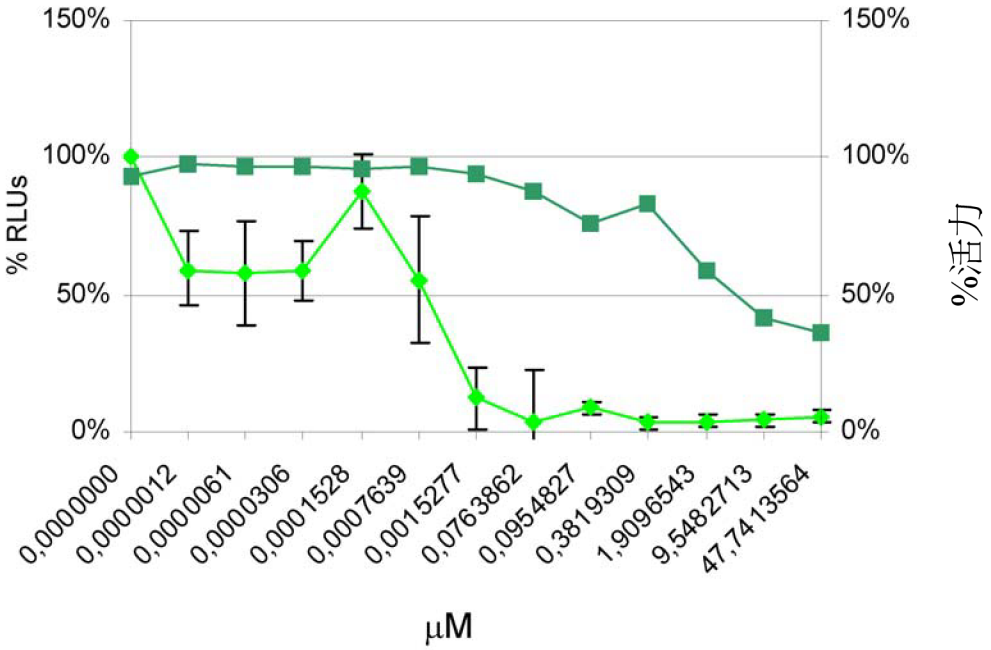

150%
100%
50%
0%
% RLUs
%活力
0,0000000
0,0000012
0,0000061
0,0000306
0,0001528
0,0007639
0,0015277
0,0763862
0,0954827
0,3819309
1,9096543
9,5482713
47,7413564
μM

圖 9B

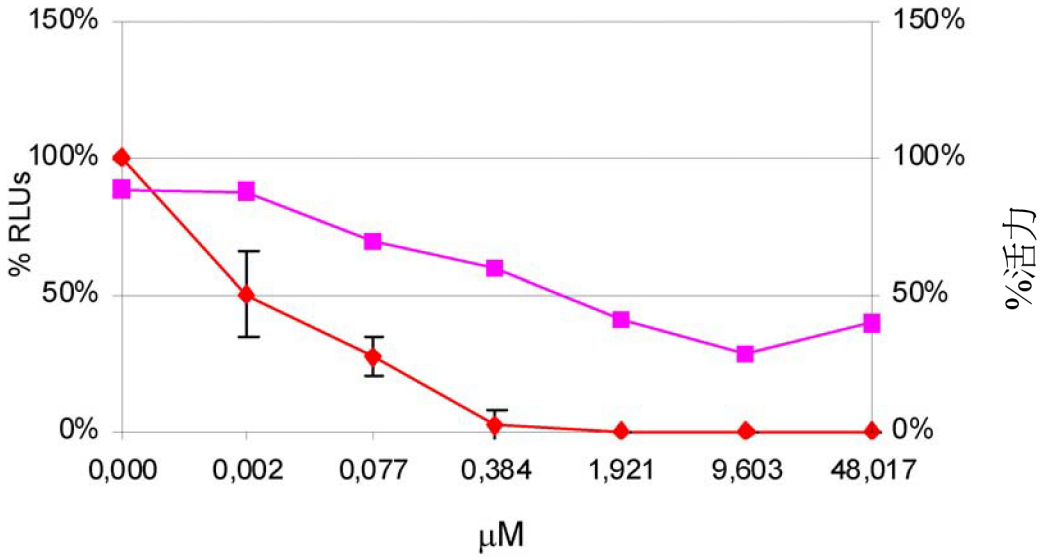

150%
100%
50%
0%
% RLUs
%活力
0,000
0,002
0,077
0,384
1,921
9,603
48,017
μM

圖 10A

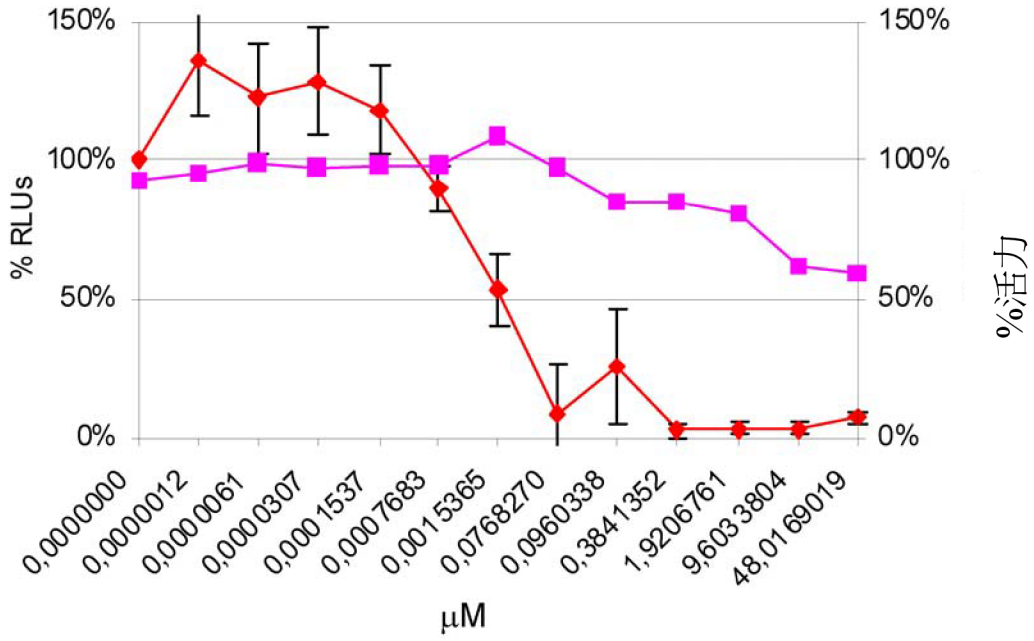

150%
100%
50%
0%
% RLUs
%活力
0,0000000
0,0000012
0,0000061
0,0000307
0,0001537
0,0007683
0,0015365
0,0768270
0,0960338
0,3841352
1,9206761
9,6033804
48,0169019
μM

圖 10B

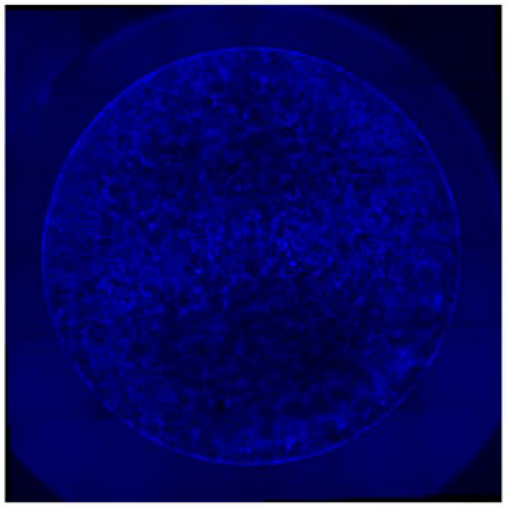


圖 11a

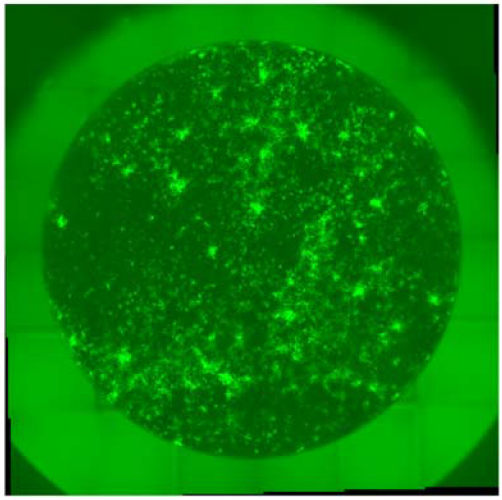


圖 11b

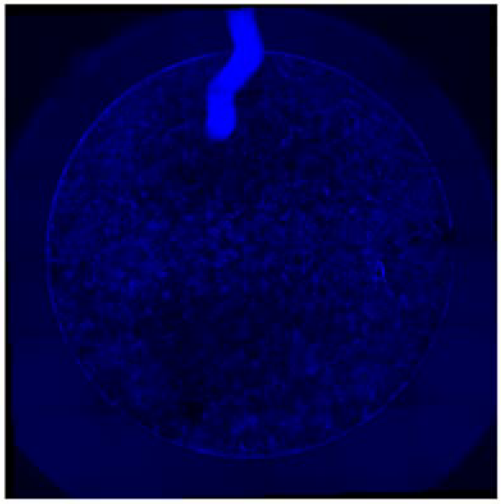


圖 12a

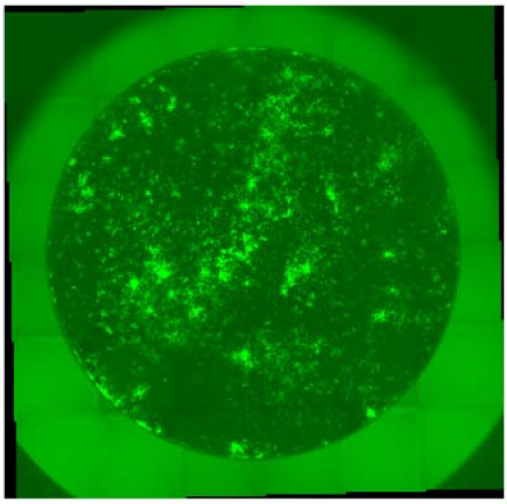


圖 12b

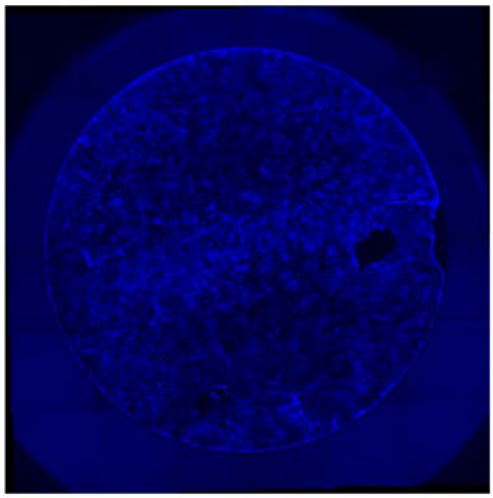


圖 13a

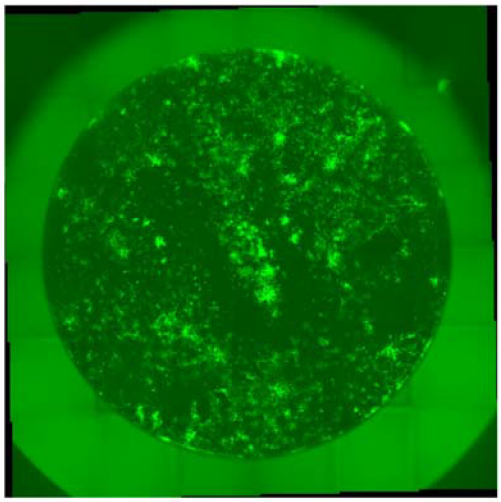


圖 13b

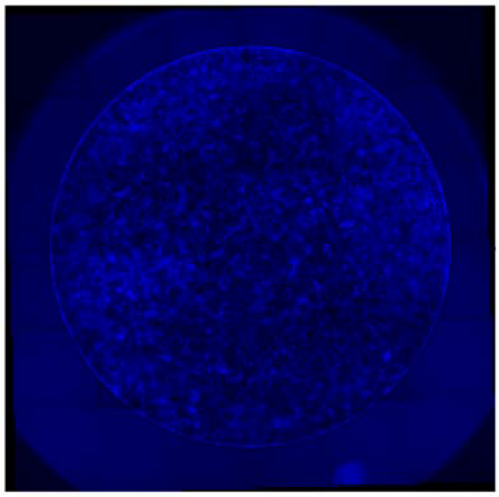


圖 14a

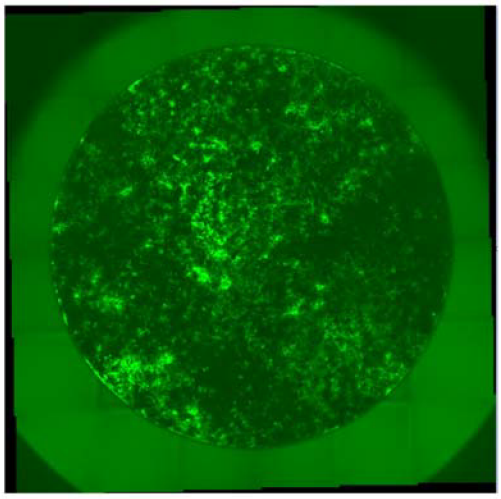


圖 14b

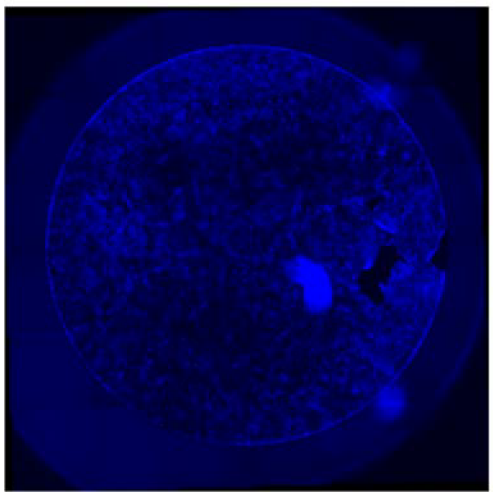


圖 15a

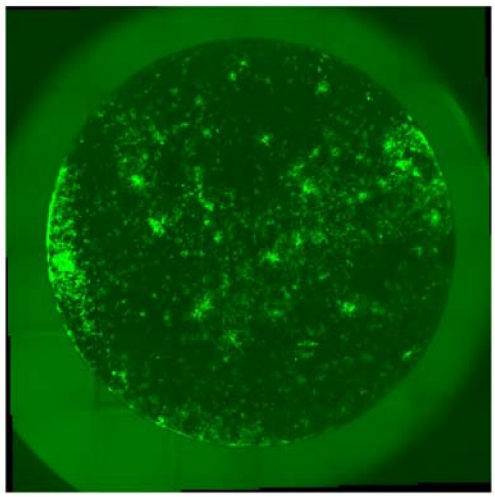


圖 15b

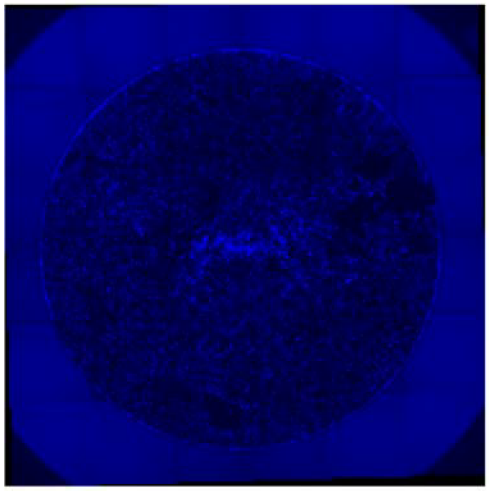


圖 16a

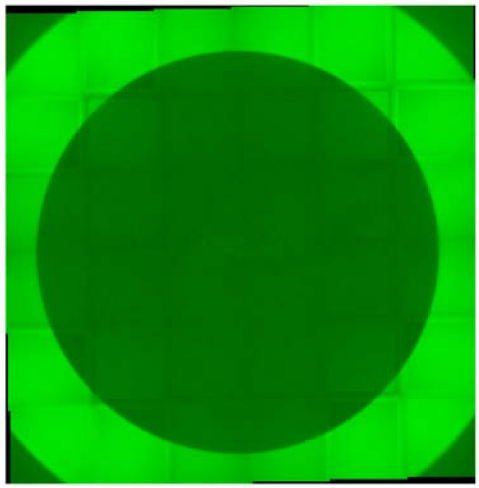


圖 16b

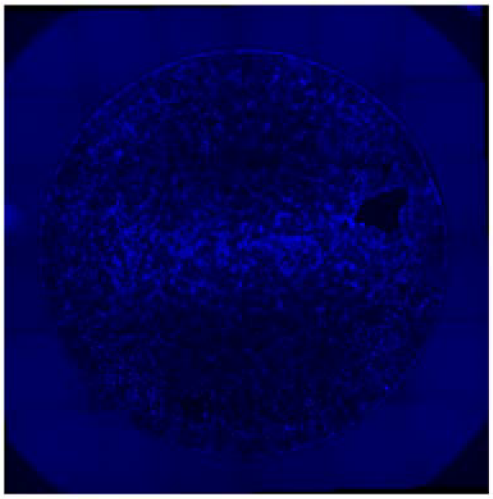


圖 17a

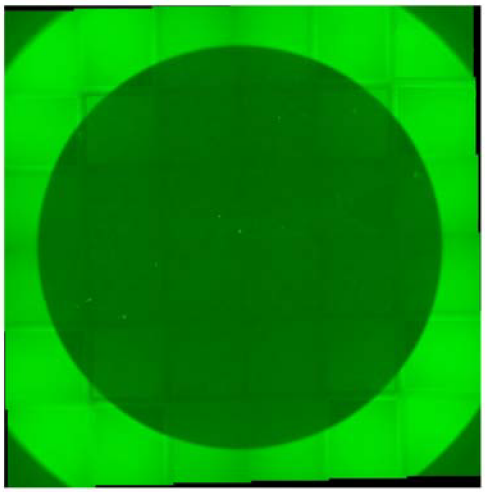


圖 17b

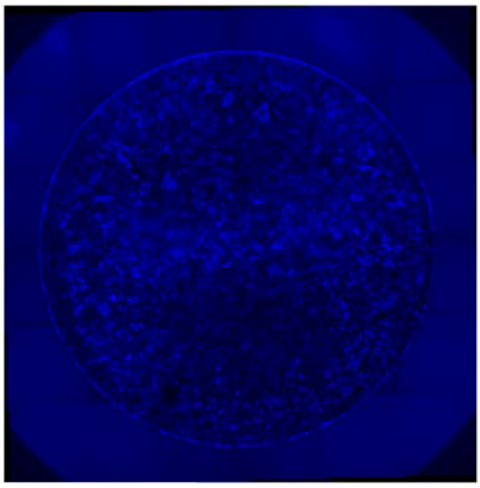


圖 18a

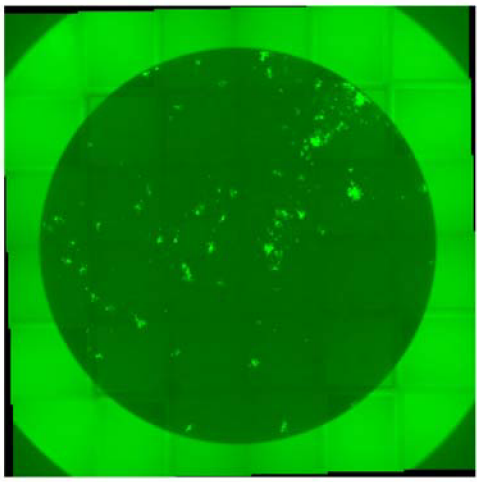


圖 18b

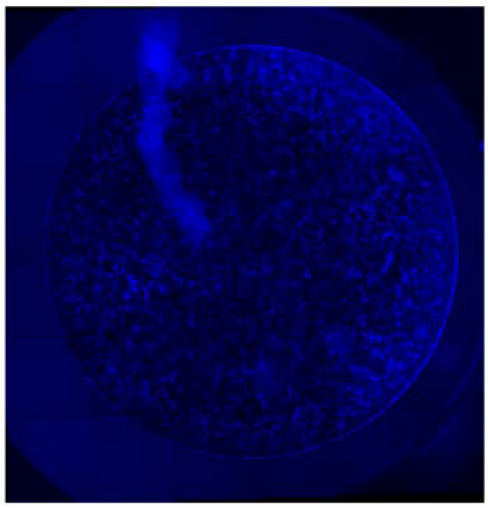


圖 19a

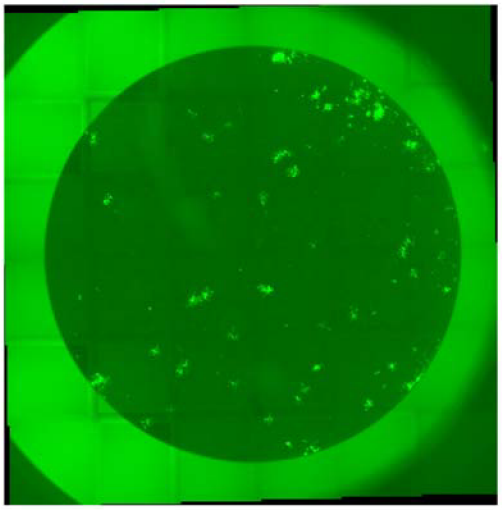


圖 19b

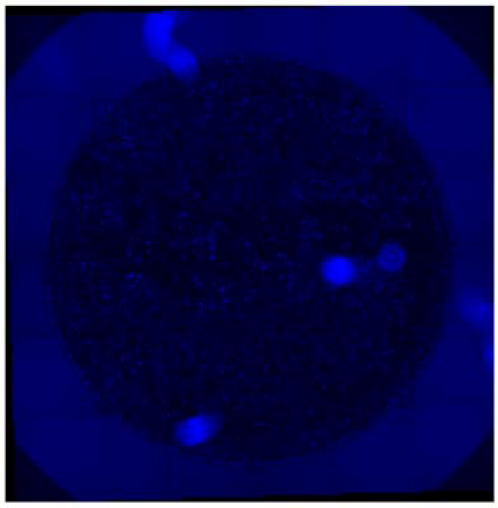


圖 20a

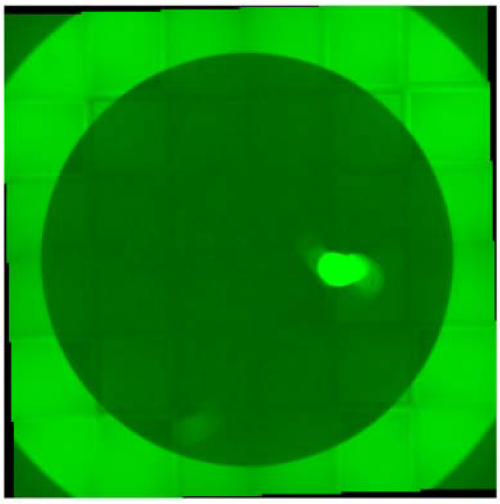


圖 20b

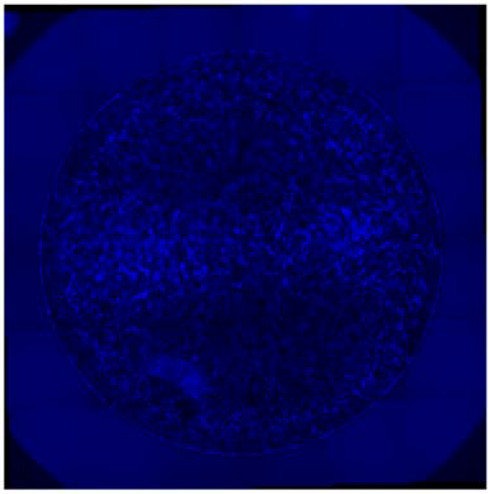


圖 21a

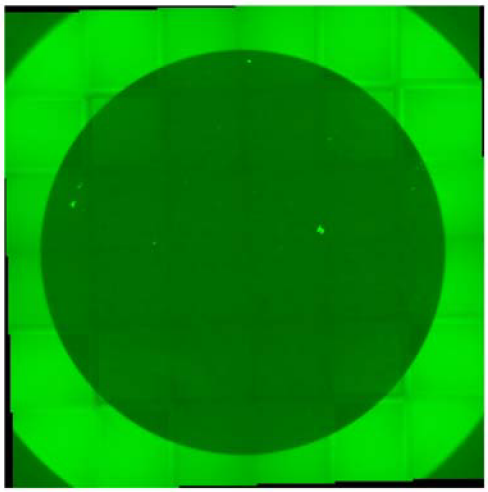


圖 21b

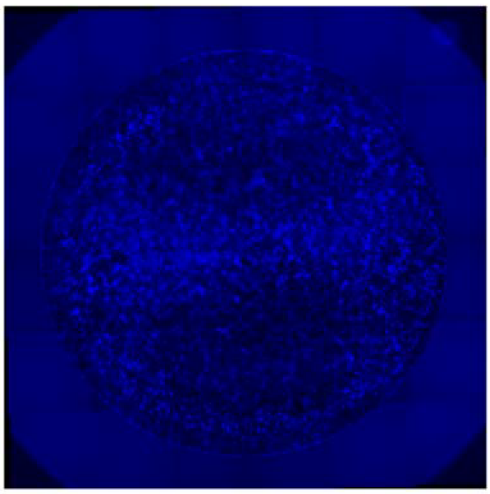


圖 22a

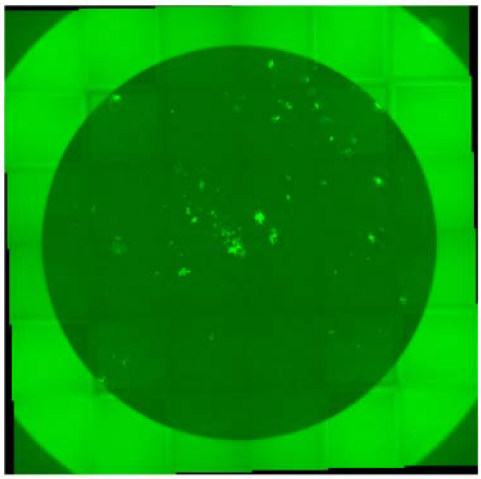


圖 22b

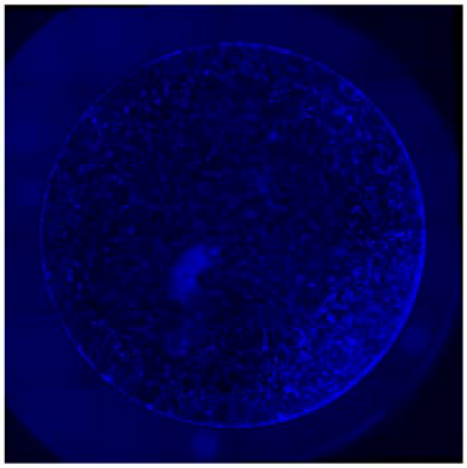


圖 23a

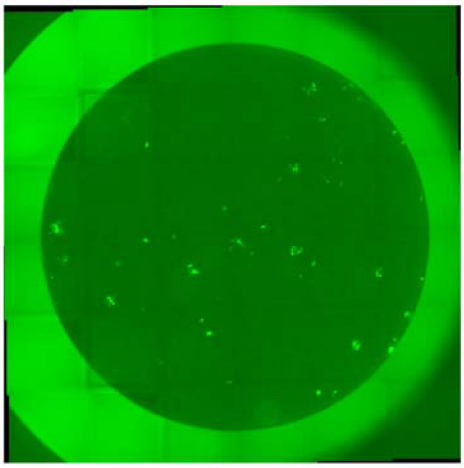


圖 23b

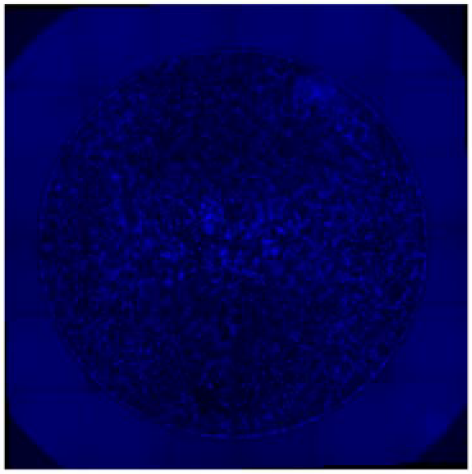


圖 24a

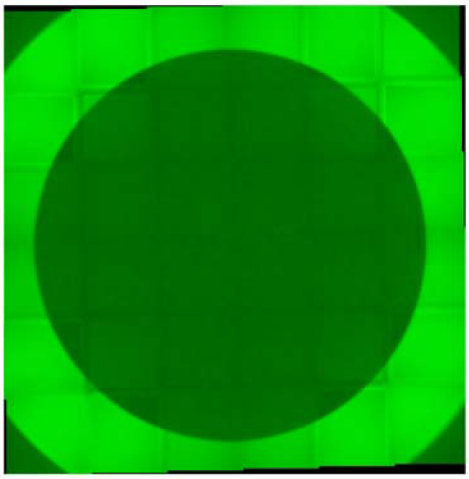


圖 24b

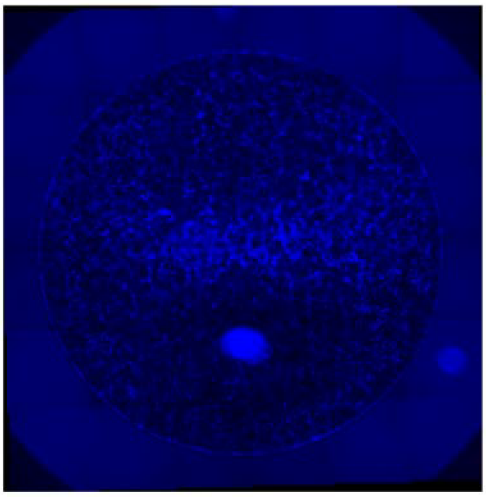


圖 25a

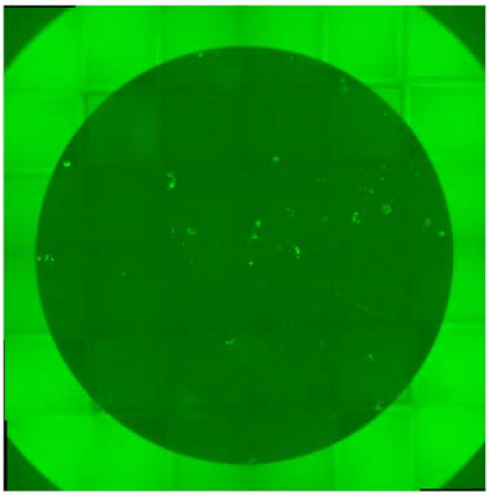


圖 25b

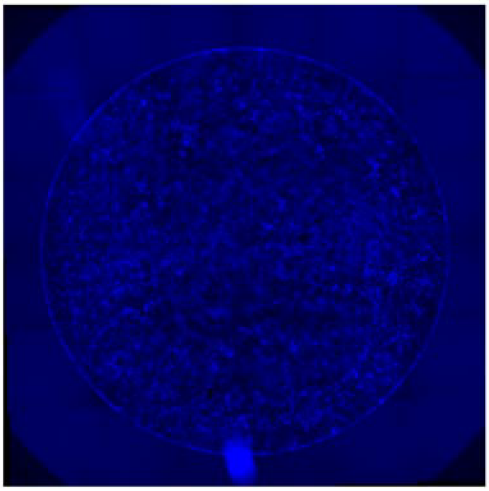


圖 26a

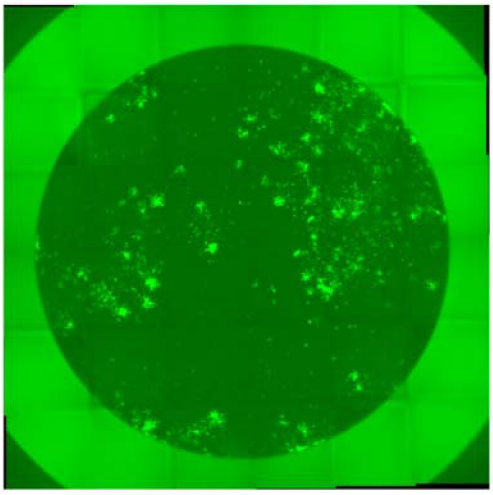


圖 26b

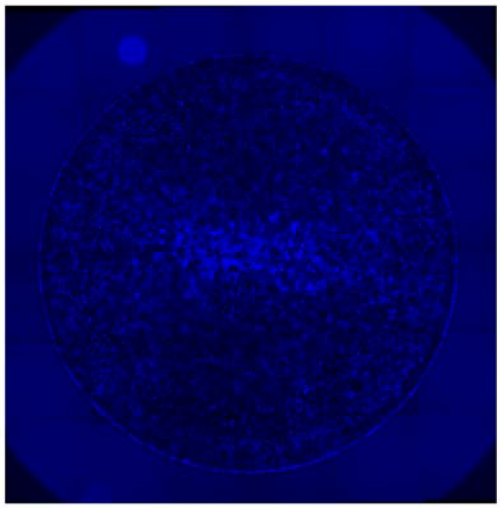


圖 27a

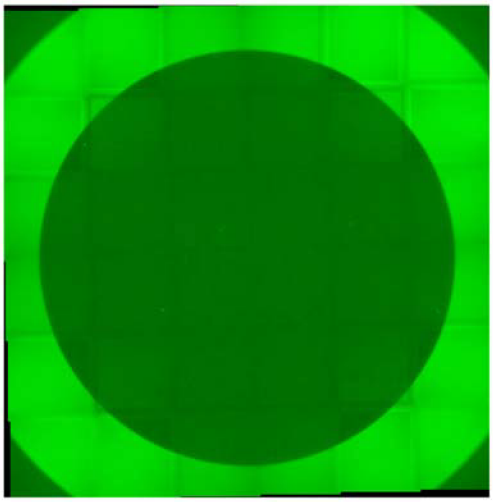


圖 27b

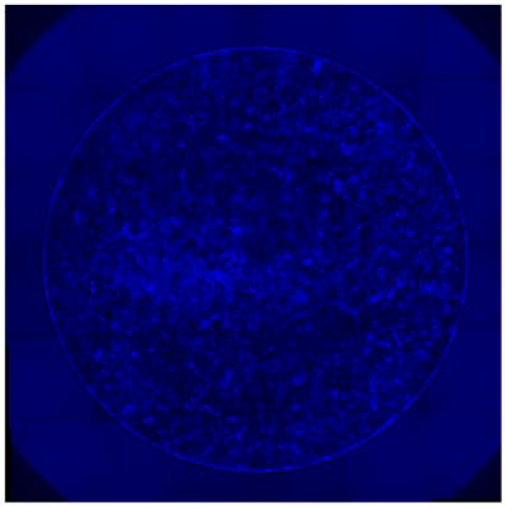


圖 28a

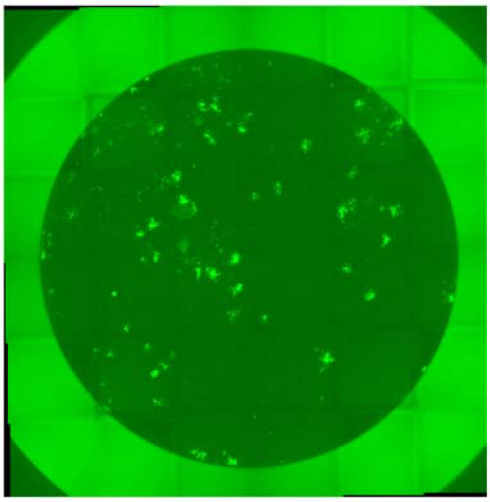


圖 28b

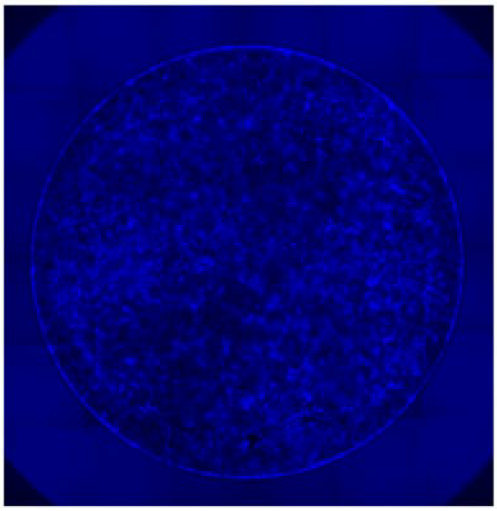


圖 29a

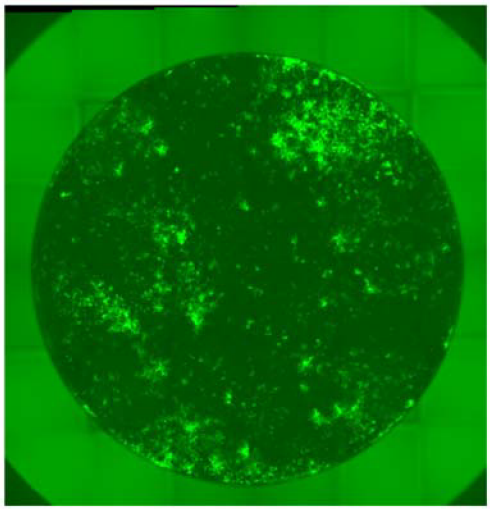


圖 29b

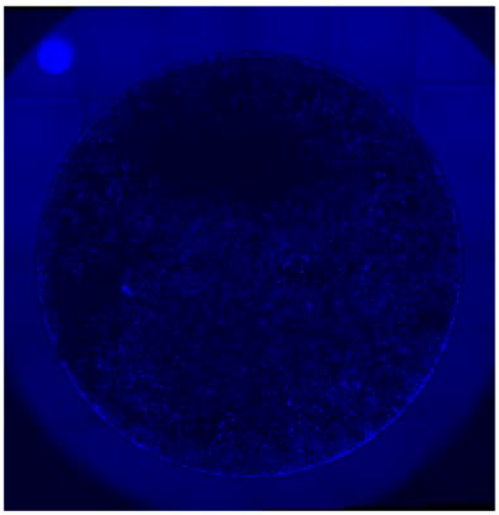


圖 30a

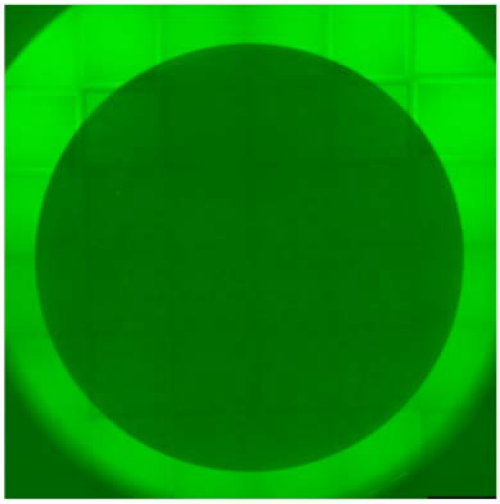


圖 30b

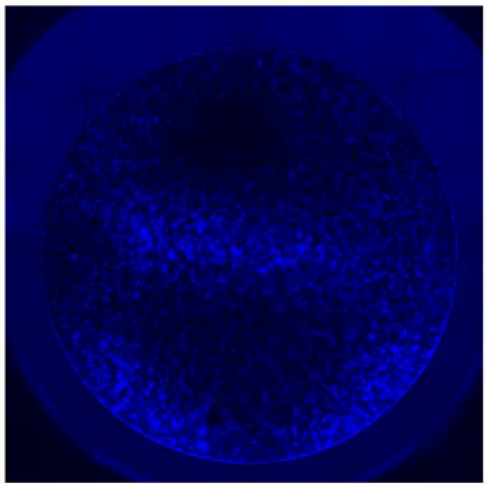


圖 31a

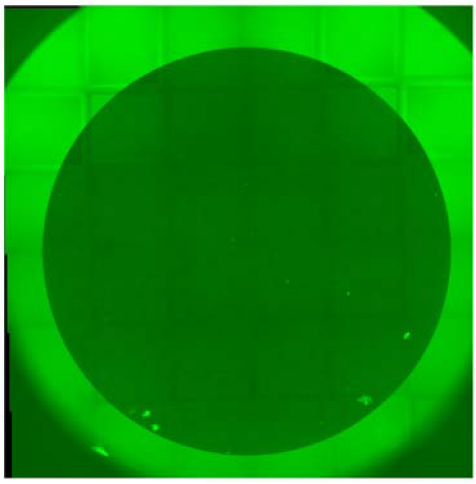


圖 31b

未示出

圖 32a

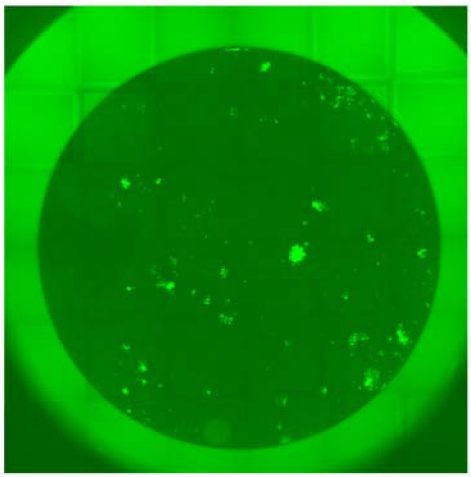


圖 32b

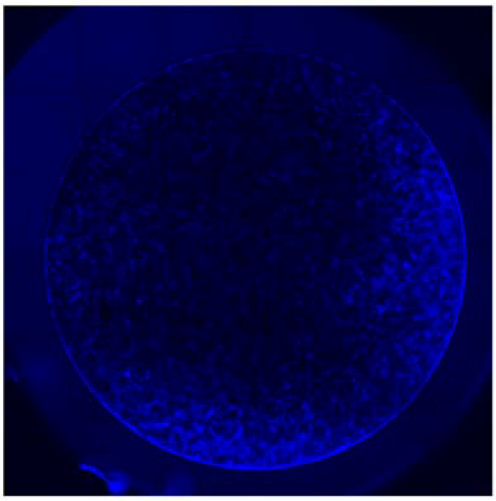


圖 33a

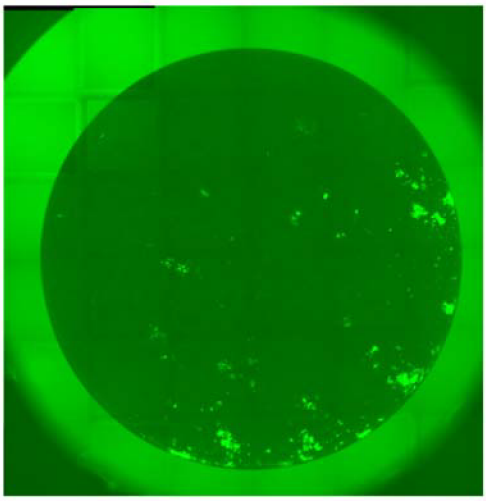


圖 33b

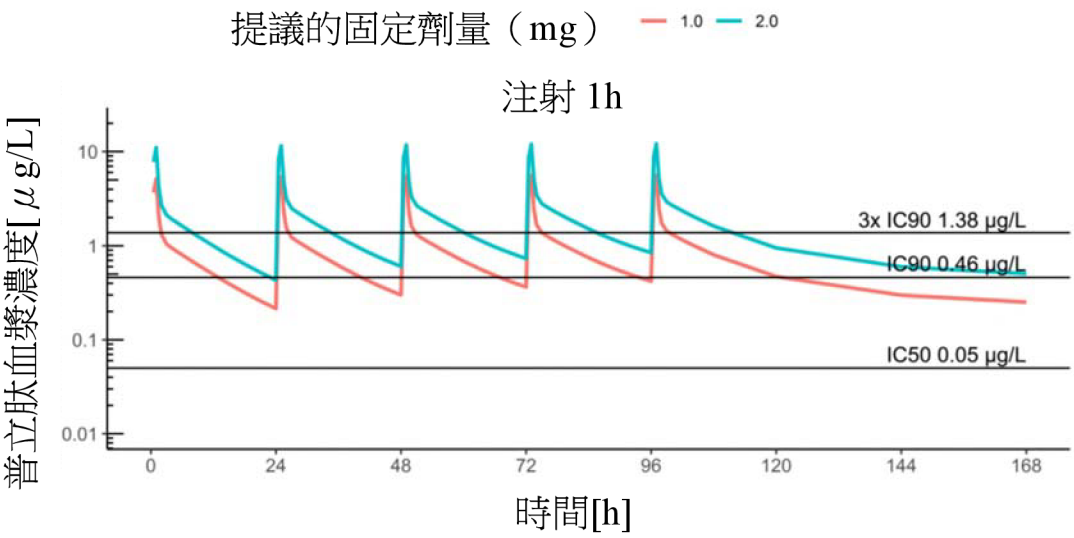

提議的固定劑量（mg）
1.0
2.0
注射 1h
普立肽血漿濃度[μg/L]
10
1
0.1
0.01
3x IC90 1.38 μg/L
IC90 0.46 μg/L
IC50 0.05 μg/L
0
24
48
72
96
120
144
168
時間[h]

圖 34

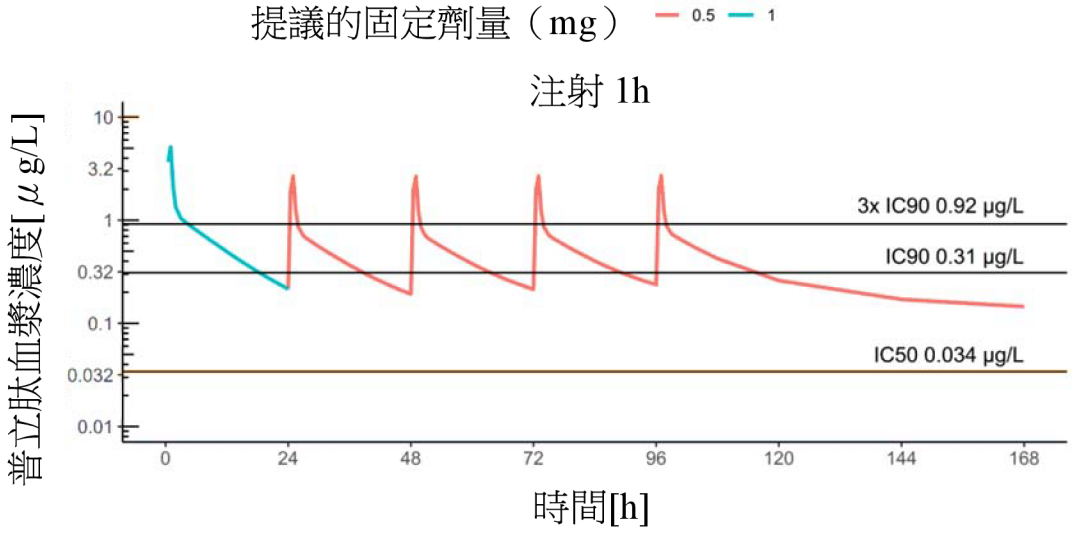

提議的固定劑量（mg）
0.5
1
注射 1h
普立肽血漿濃度[μg/L]
10
3.2
1
0.32
0.1
0.032
0.01
3x IC90 0.92 μg/L
IC90 0.31 μg/L
IC50 0.034 μg/L
0
24
48
72
96
120
144
168
時間[h]

圖 35

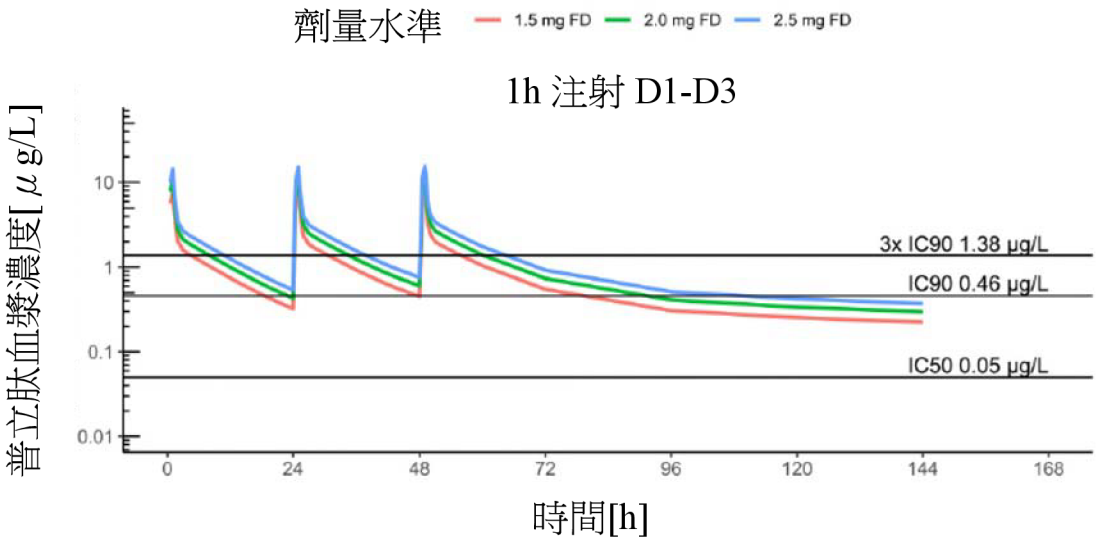

劑量水準
1.5 mg FD
2.0 mg FD
2.5 mg FD
1h 注射 D1-D3
普立肽血漿濃度[μg/L]
10
1
0.1
0.01
3x IC90 1.38 μg/L
IC90 0.46 μg/L
IC50 0.05 μg/L
0
24
48
72
96
120
144
168
時間[h]

圖 36

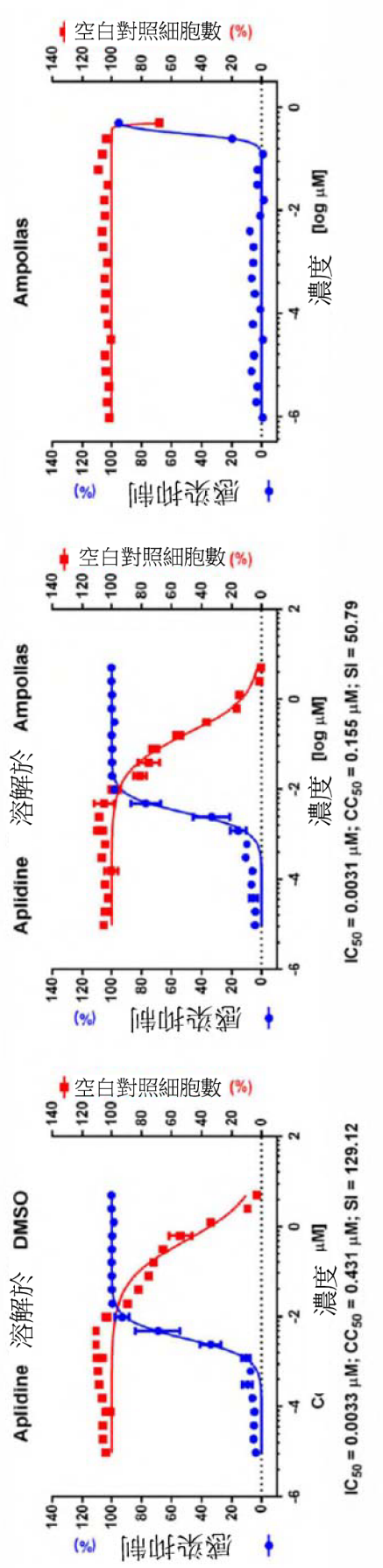

空白對照細胞數 (%)
感染抑制 (%)
濃度 [log μM]
Ampollas
Aplidine 溶解於 Ampollas
IC50 = 0.0031 μM; CC50 = 0.155 μM; SI = 50.79
Aplidine 溶解於 DMSO
IC50 = 0.0033 μM; CC50 = 0.431 μM; SI = 129.12

圖 37A

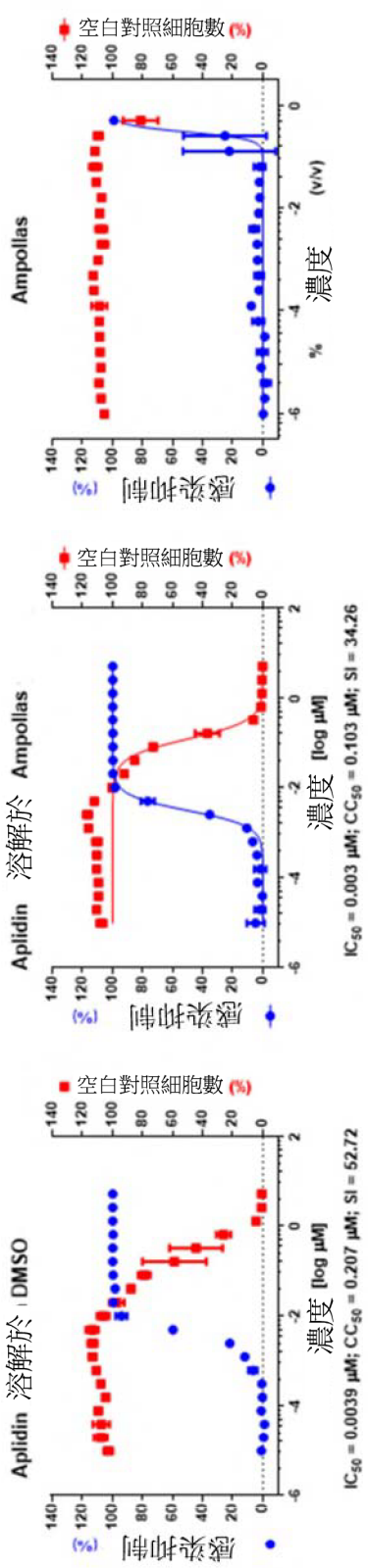

空白對照細胞數 (%)
感染抑制 (%)
Ampollas
濃度 % (v/v)
Aplidin 溶解於 Ampollas
濃度 [log μM]
IC50 = 0.003 μM; CC50 = 0.103 μM; SI = 34.26
Aplidin 溶解於 DMSO
IC50 = 0.0039 μM; CC50 = 0.207 μM; SI = 52.72

圖 37B

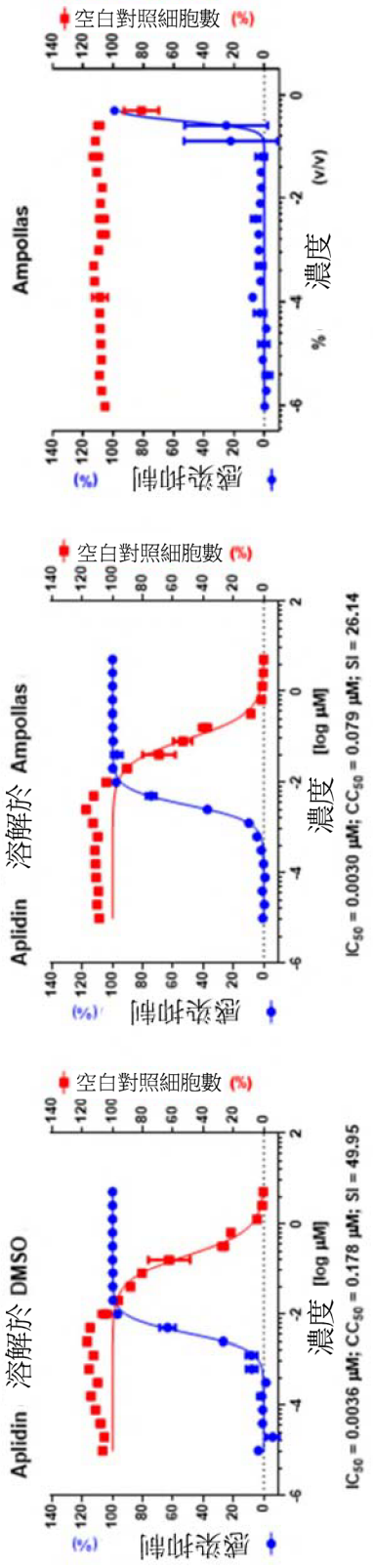

空白對照細胞數 (%)
感染抑制 (%)
濃度 (v/v)
Ampollas
空白對照細胞數 (%)
感染抑制 (%)
濃度 [log μM]
Aplidin 溶解於 Ampollas
IC50 = 0.0030 μM; CC50 = 0.079 μM; SI = 26.14
空白對照細胞數 (%)
感染抑制 (%)
濃度 [log μM]
Aplidin 溶解於 DMSO
IC50 = 0.0036 μM; CC50 = 0.178 μM; SI = 49.95

圖 37C

普立肽

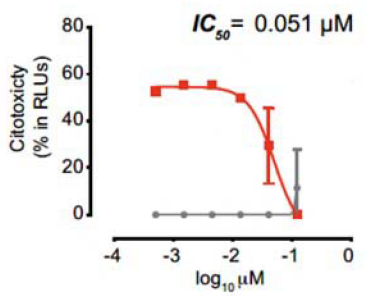

IC_{50}= 0.051 μM
Citotoxicty (% in RLUs)
80
60
40
20
0
-4
-3
-2
-1
0
log_{10} μM

圖 38

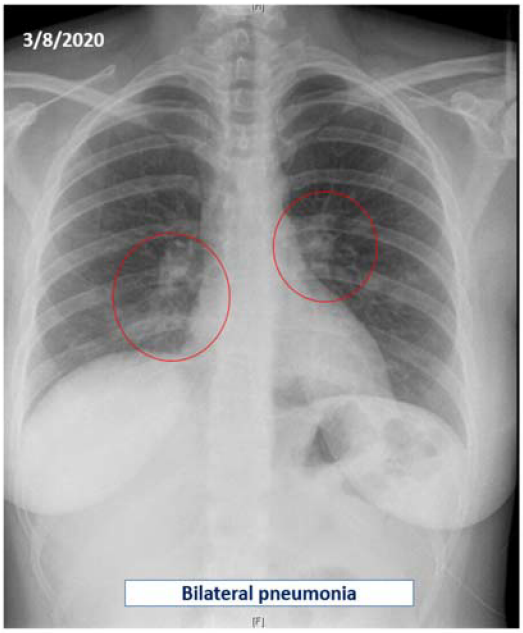

3/8/2020
Bilateral pneumonia

圖 39a



圖 39b

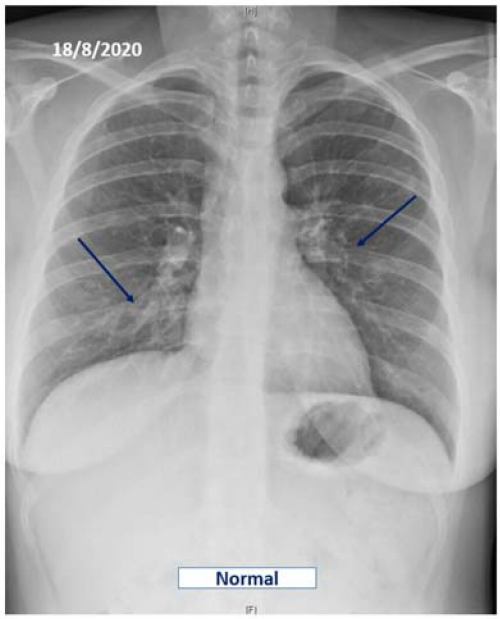


圖 39c

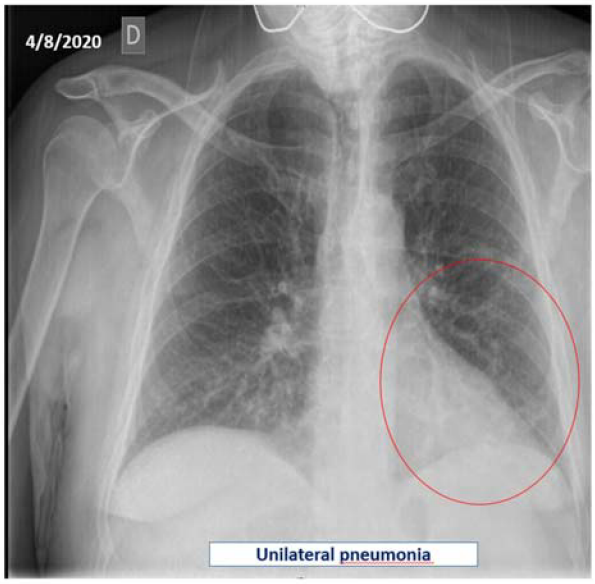

4/8/2020
D
Unilateral pneumonia

圖 40a

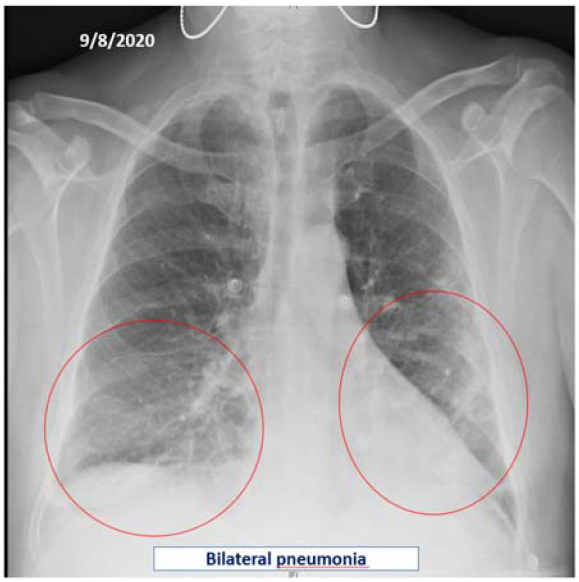

9/8/2020
Bilateral pneumonia

圖 40b

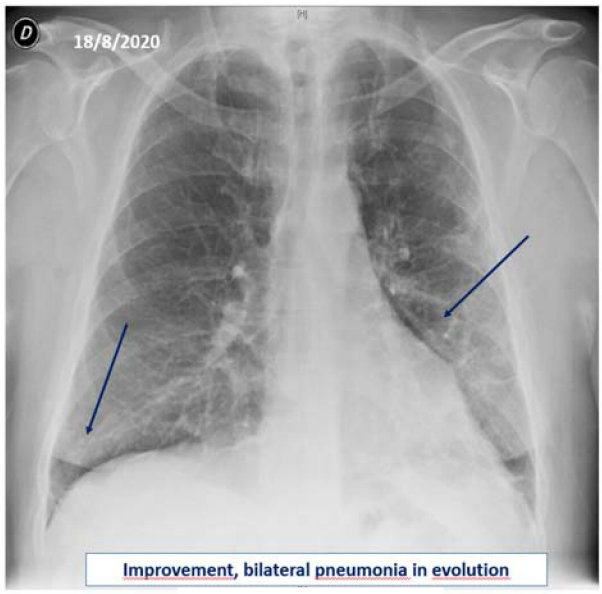

18/8/2020
Improvement, bilateral pneumonia in evolution

圖 40c

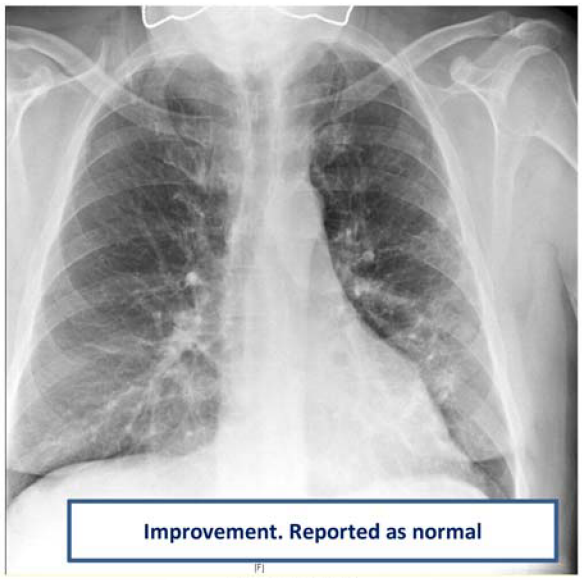

Improvement. Reported as normal

圖 40d

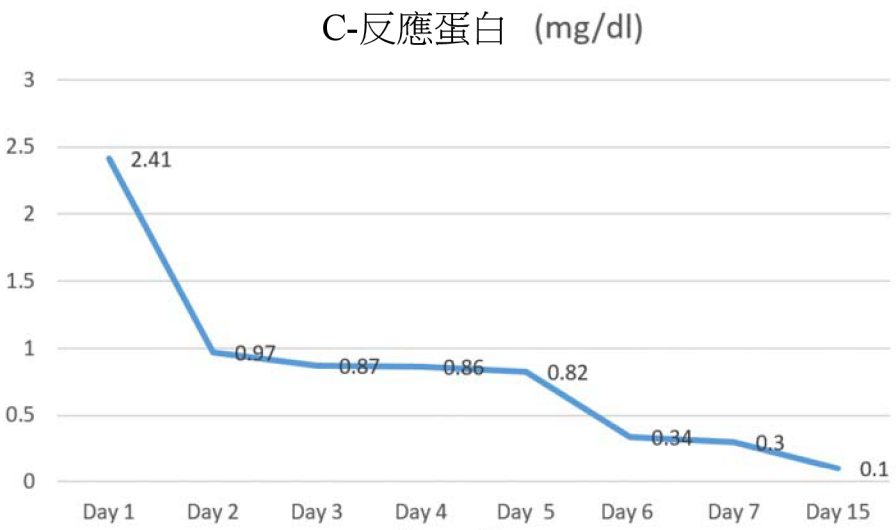

C-反應蛋白 (mg/dl)
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
2.41
0.97
0.87
0.86
0.82
0.34
0.3
0.1
Day 1
Day 2
Day 3
Day 4
Day 5
Day 6
Day 7
Day 15

圖 41a

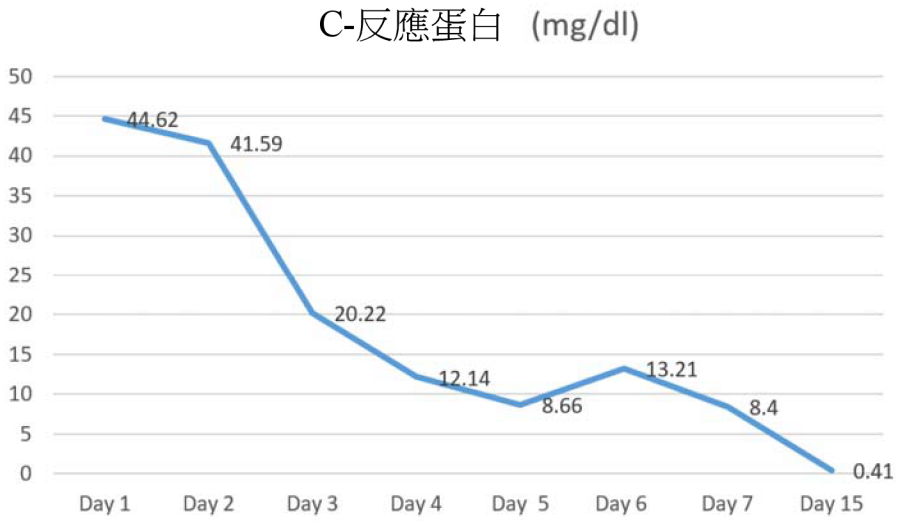

C-反應蛋白 (mg/dl)
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
44.62
41.59
20.22
12.14
8.66
13.21
8.4
0.41
Day 1
Day 2
Day 3
Day 4
Day 5
Day 6
Day 7
Day 15

圖 41b

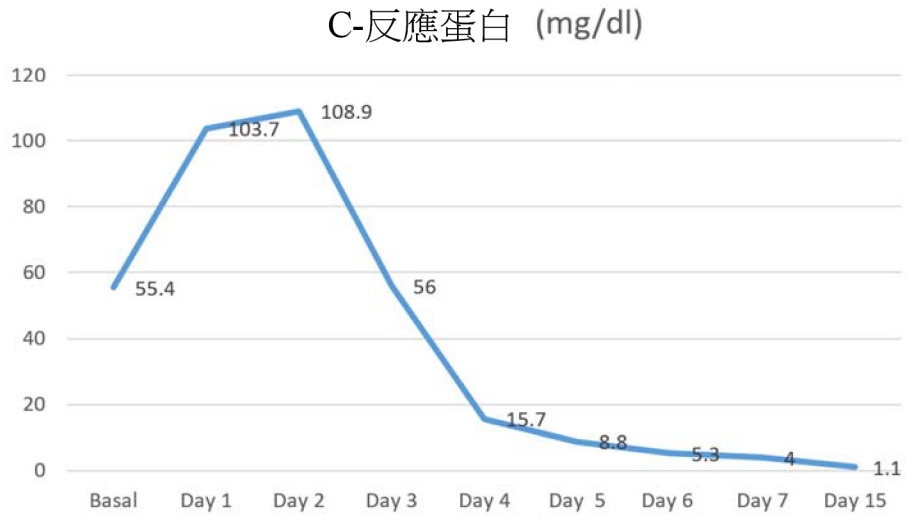

C-反應蛋白 (mg/dl)
120
100
80
60
40
20
0
55.4
103.7
108.9
56
15.7
8.8
5.3
4
1.1
Basal
Day 1
Day 2
Day 3
Day 4
Day 5
Day 6
Day 7
Day 15

圖 41c

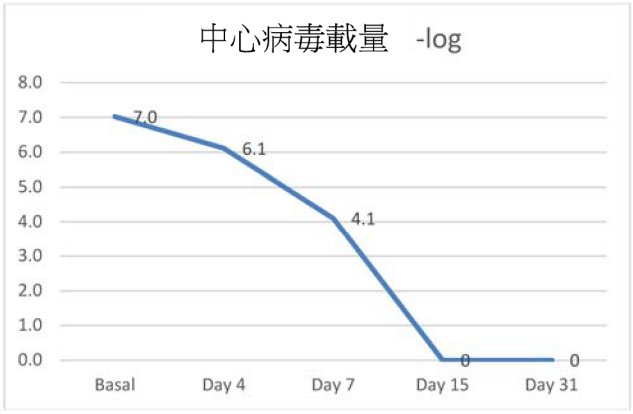

中心病毒載量 -log
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
7.0
6.1
4.1
0
0
Basal
Day 4
Day 7
Day 15
Day 31

圖 42a

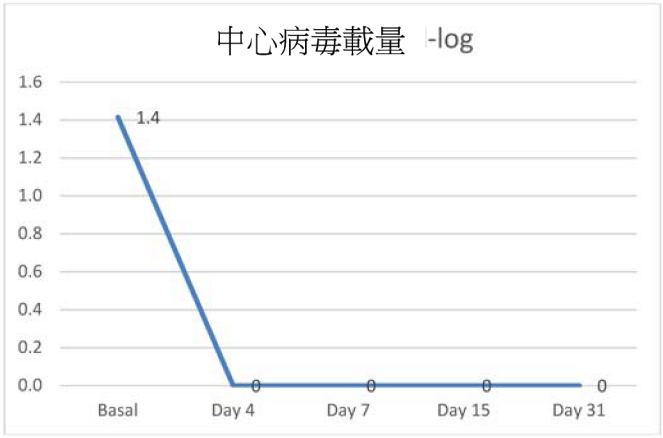

中心病毒載量 -log
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
1.4
0
0
0
0
Basal
Day 4
Day 7
Day 15
Day 31

圖 42b

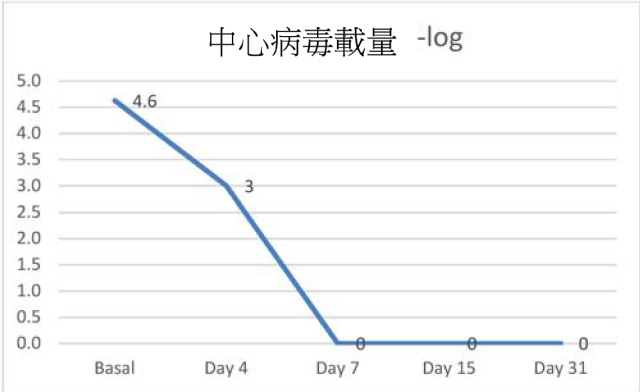

中心病毒載量 -log
5.0
4.5
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
4.6
3
0
0
0
Basal
Day 4
Day 7
Day 15
Day 31

圖 42c

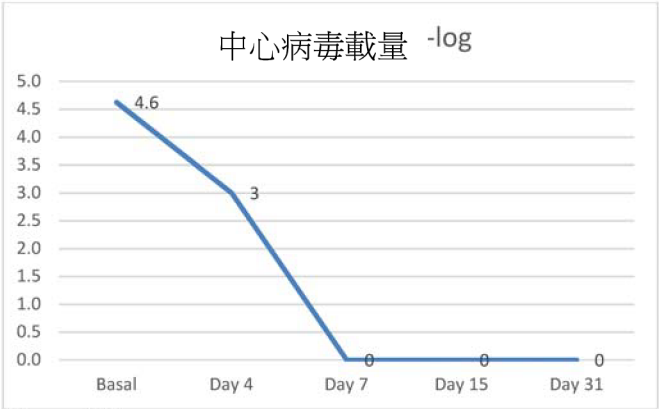

中心病毒載量 -log
5.0
4.5
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
4.6
3
0
0
0
Basal
Day 4
Day 7
Day 15
Day 31

圖 42d

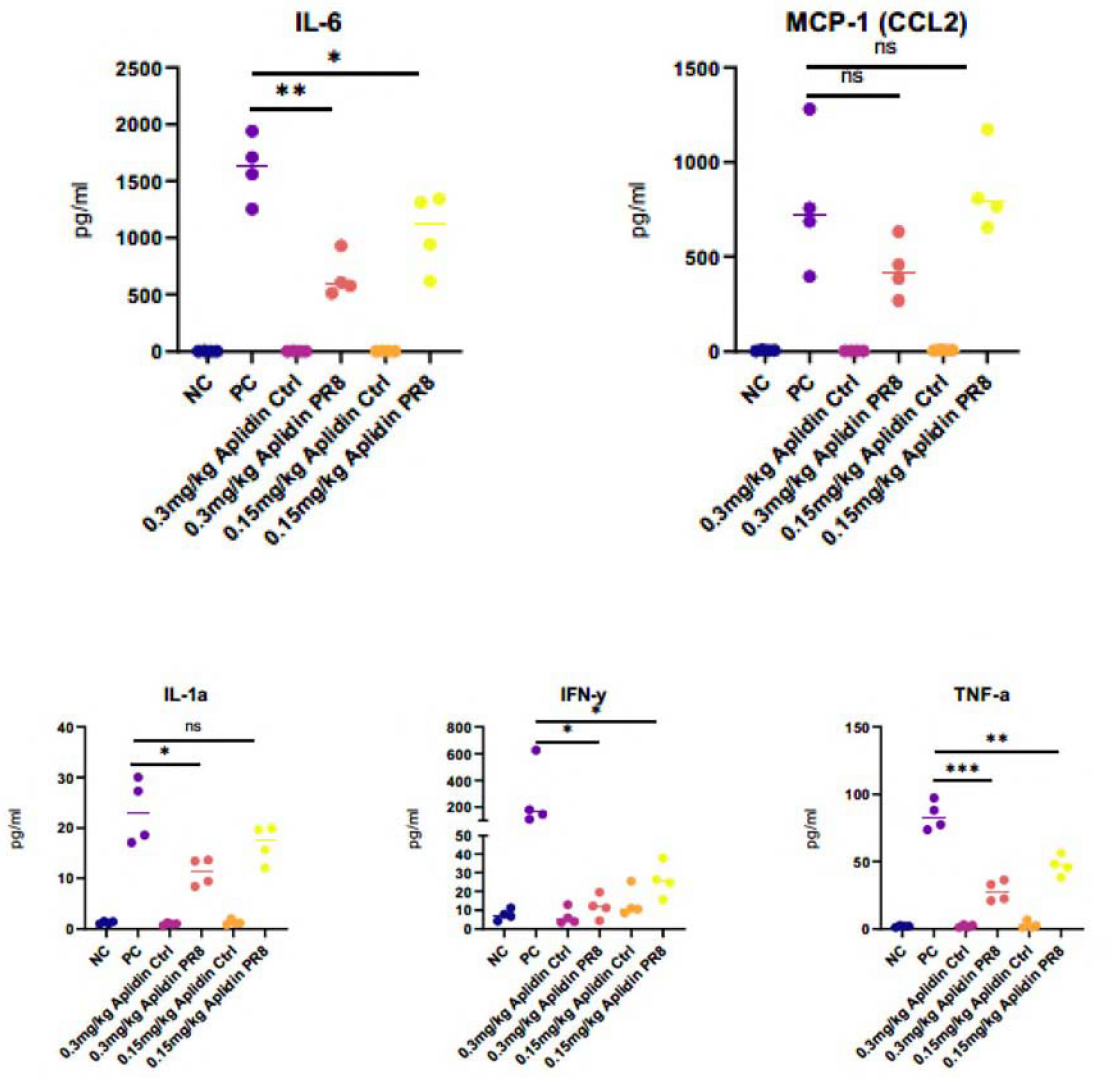

IL-6
pg/ml
2500
2000
1500
1000
500
0
*
**
NC
PC
0.3mg/kg Aplidin Ctrl
0.3mg/kg Aplidin PR8
0.15mg/kg Aplidin Ctrl
0.15mg/kg Aplidin PR8
MCP-1 (CCL2)
pg/ml
1500
1000
500
0
ns
ns
NC
PC
0.3mg/kg Aplidin Ctrl
0.3mg/kg Aplidin PR8
0.15mg/kg Aplidin Ctrl
0.15mg/kg Aplidin PR8
IL-1a
pg/ml
40
30
20
10
0
ns
*
NC
PC
0.3mg/kg Aplidin Ctrl
0.3mg/kg Aplidin PR8
0.15mg/kg Aplidin Ctrl
0.15mg/kg Aplidin PR8
IFN-γ
pg/ml
800
600
400
200
50
40
30
20
10
0
*
*
NC
PC
0.3mg/kg Aplidin Ctrl
0.3mg/kg Aplidin PR8
0.15mg/kg Aplidin Ctrl
0.15mg/kg Aplidin PR8
TNF-a
pg/ml
150
100
50
0
**
***
NC
PC
0.3mg/kg Aplidin Ctrl
0.3mg/kg Aplidin PR8
0.15mg/kg Aplidin Ctrl
0.15mg/kg Aplidin PR8

圖 43

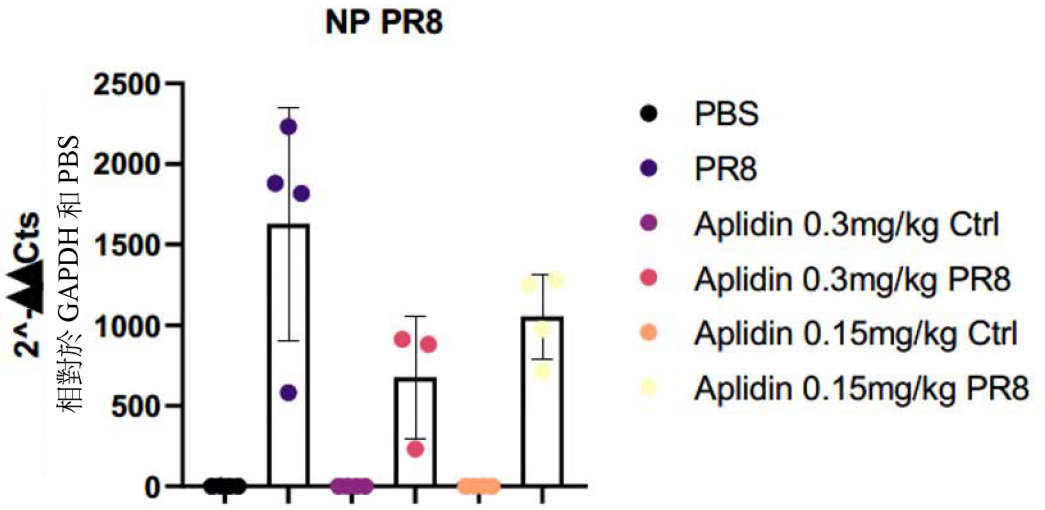

NP PR8
2^-ΔΔCts
相對於 GAPDH 和 PBS
2500
2000
1500
1000
500
0
PBS
PR8
Aplidin 0.3mg/kg Ctrl
Aplidin 0.3mg/kg PR8
Aplidin 0.15mg/kg Ctrl
Aplidin 0.15mg/kg PR8

圖 44

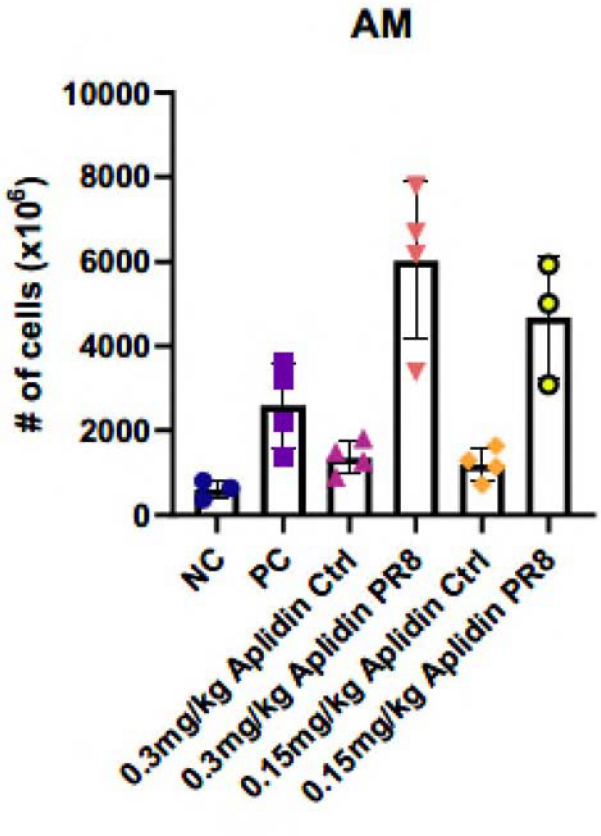

AM
# of cells (x10^6)
10000
8000
6000
4000
2000
0
NC
PC
0.3mg/kg Aplidin Ctrl
0.3mg/kg Aplidin PR8
0.15mg/kg Aplidin Ctrl
0.15mg/kg Aplidin PR8

圖 45

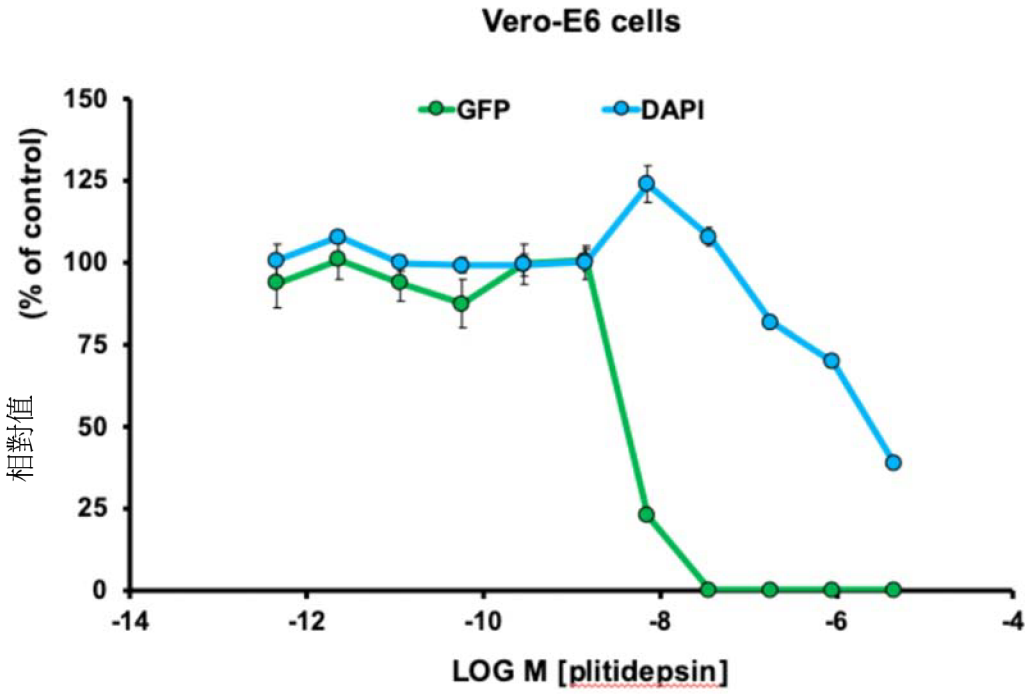

Vero-E6 cells
GFP
DAPI
(% of control)
相對值
150
125
100
75
50
25
0
-14
-12
-10
-8
-6
-4
LOG M [plitidepsin]

圖 46

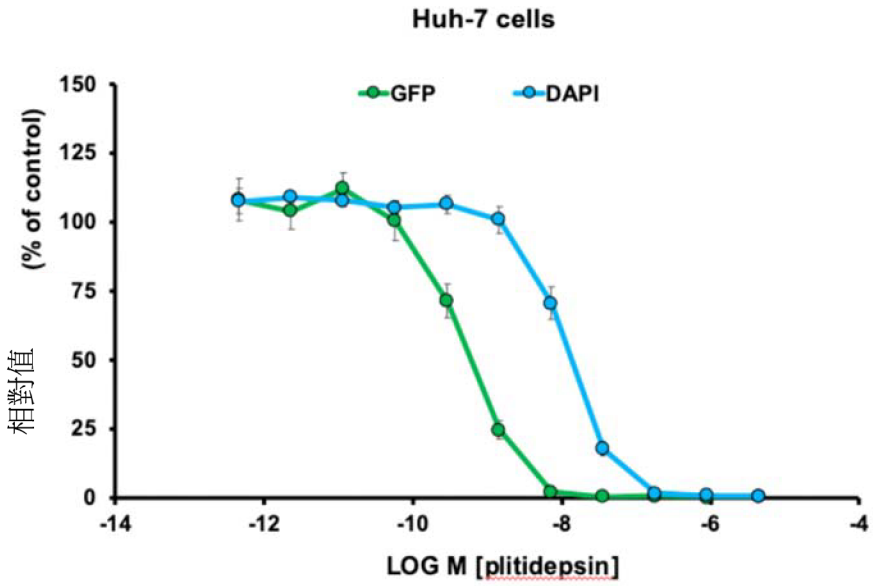

Huh-7 cells
GFP
DAPI
(% of control)
相對值
150
125
100
75
50
25
0
-14
-12
-10
-8
-6
-4
LOG M [plitidepsin]

圖 47

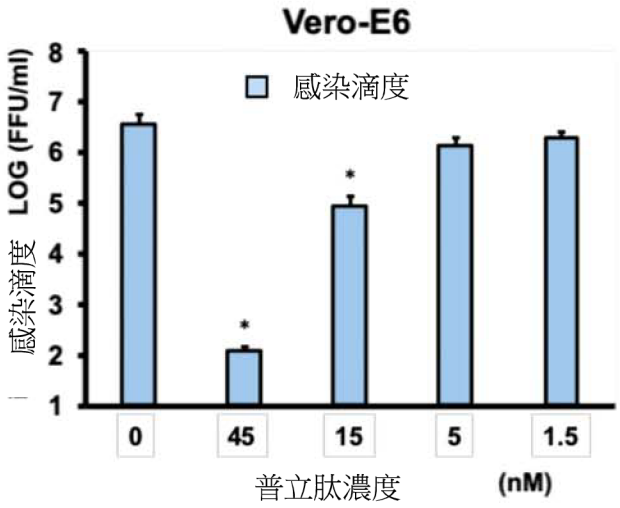


圖 48（a）

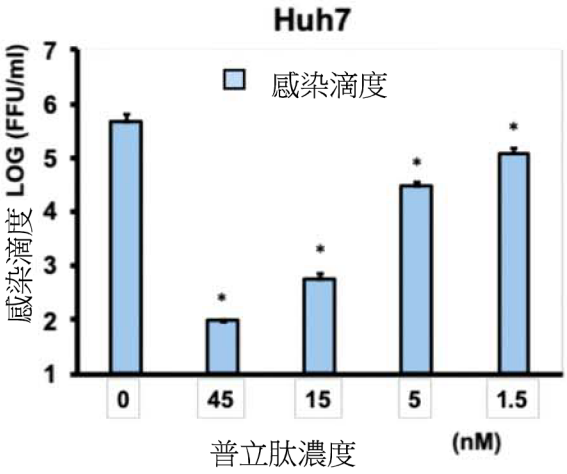


圖 48（b）

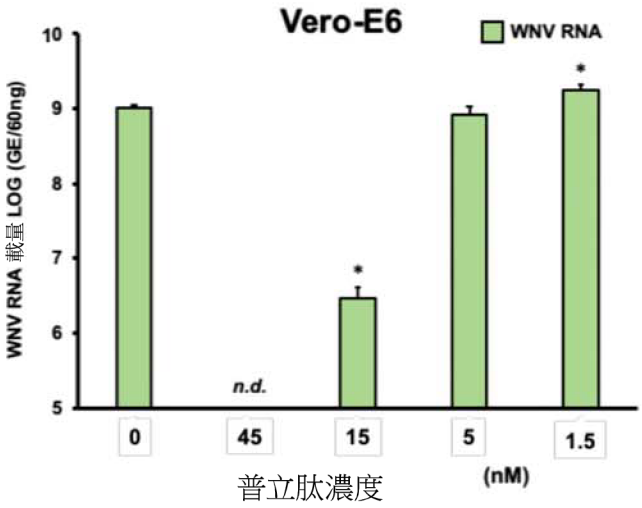


圖 49（a）

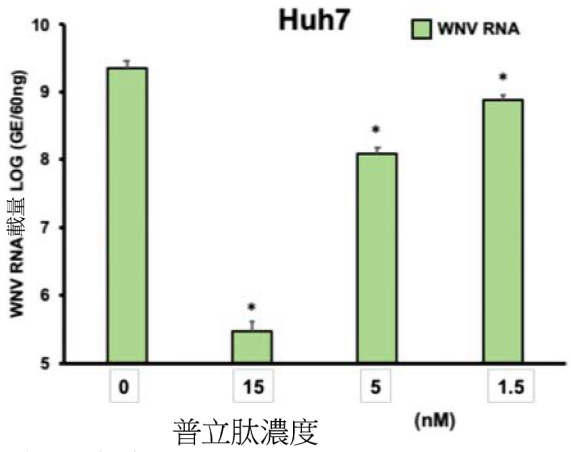


圖 49（b）

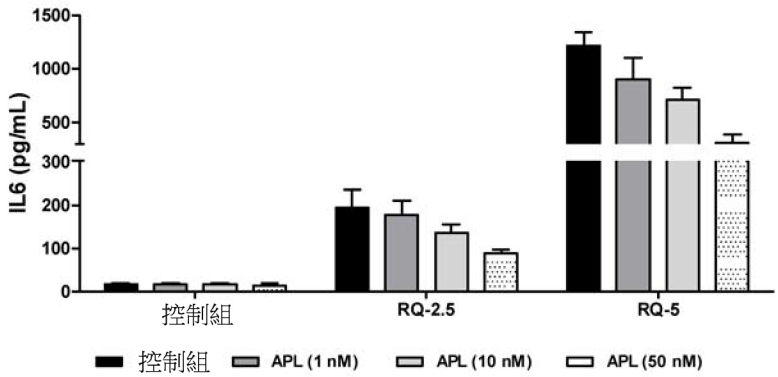


圖 50（a）

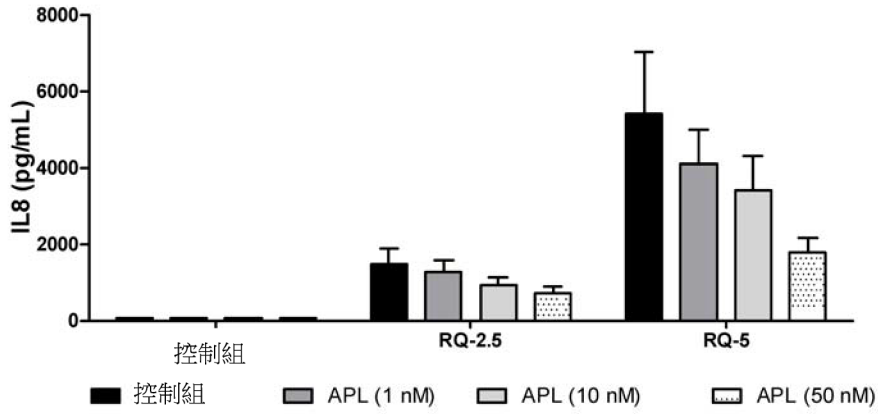


圖 50（b）

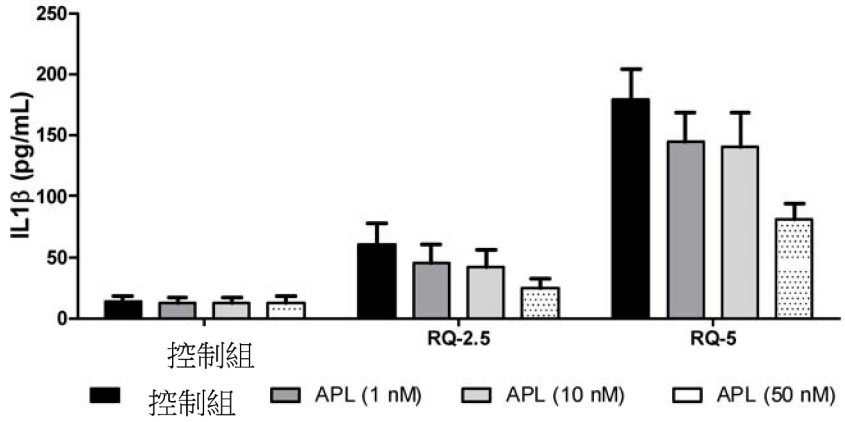


圖 50（c）

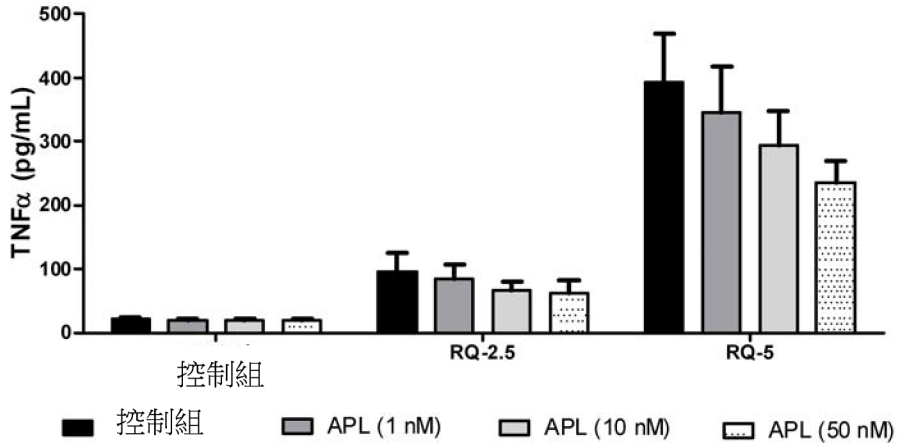


圖 50（d）

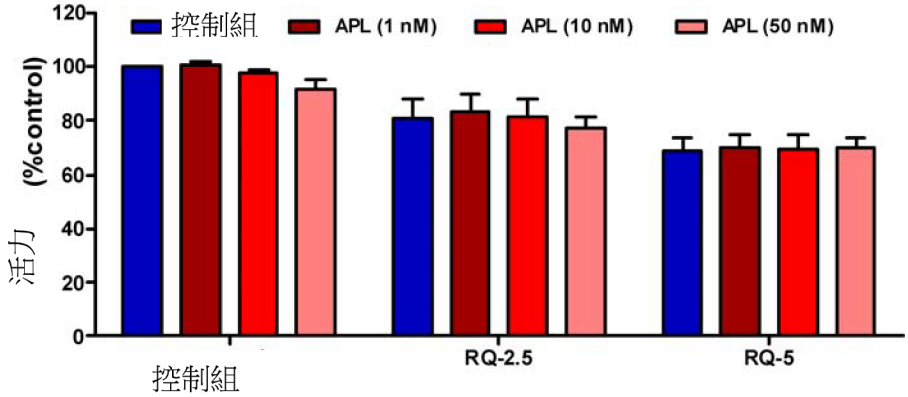


圖 50（e）

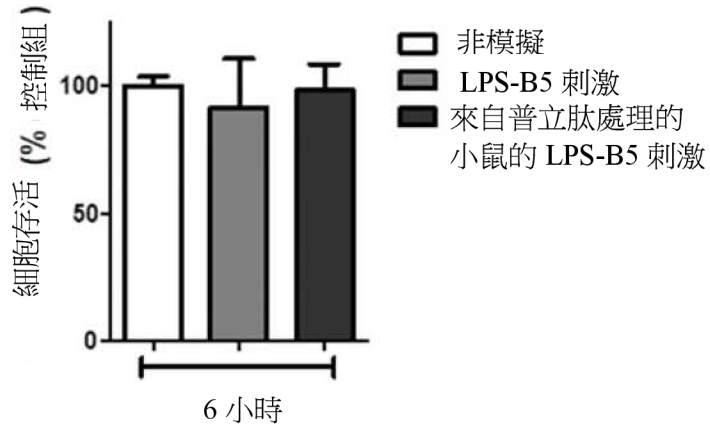


圖 51（a）

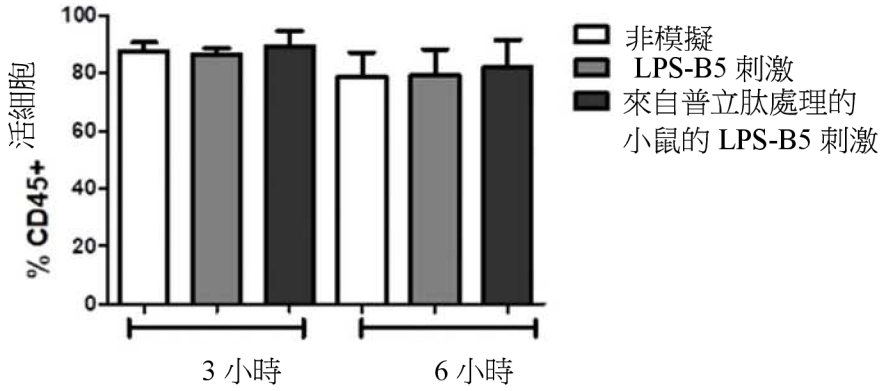


圖 51（b）

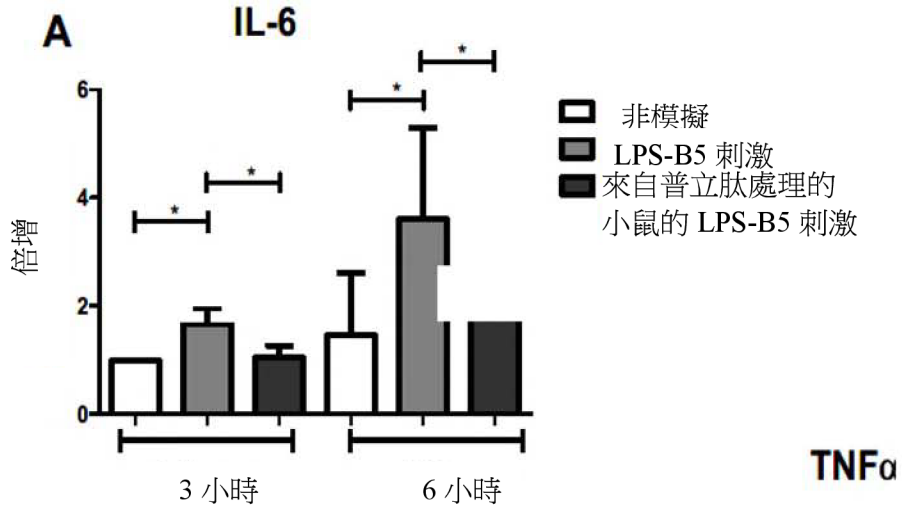


圖 51（c）

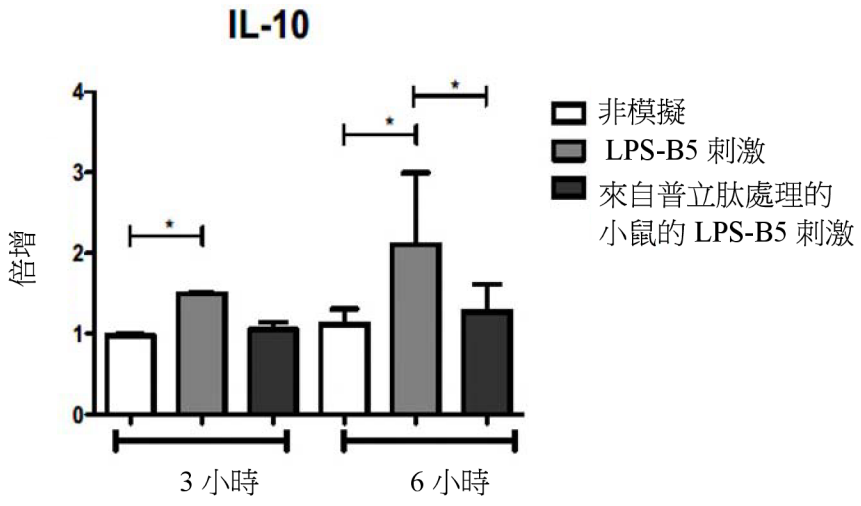

IL-10
倍增
4
3
2
1
0
*
*
*
3 小時
6 小時
非模擬
LPS-B5 刺激
來自普立肽處理的
小鼠的 LPS-B5 刺激

圖 51（d）

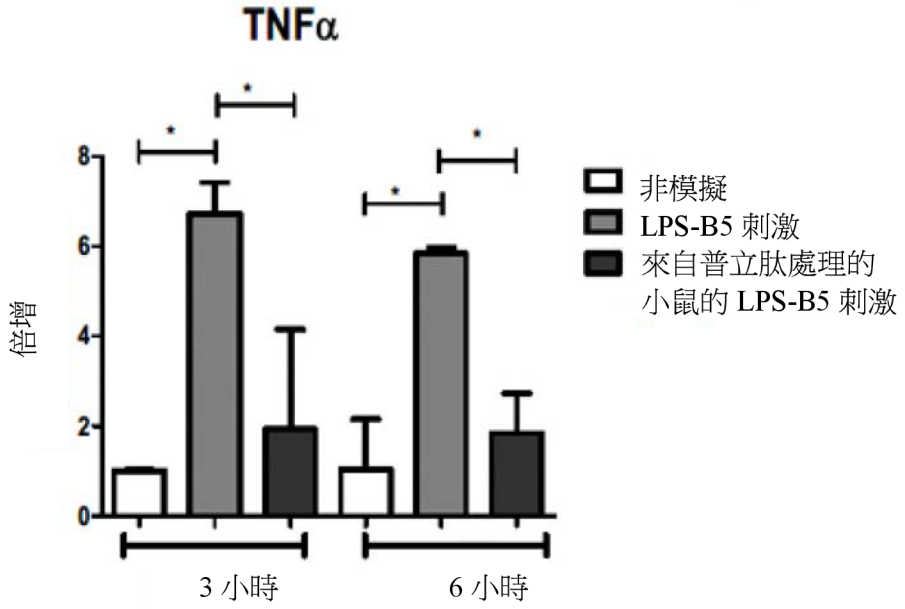

TNFα
倍增
8
6
4
2
0
*
*
*
*
3 小時
6 小時
非模擬
LPS-B5 刺激
來自普立肽處理的
小鼠的 LPS-B5 刺激

圖 51（e）

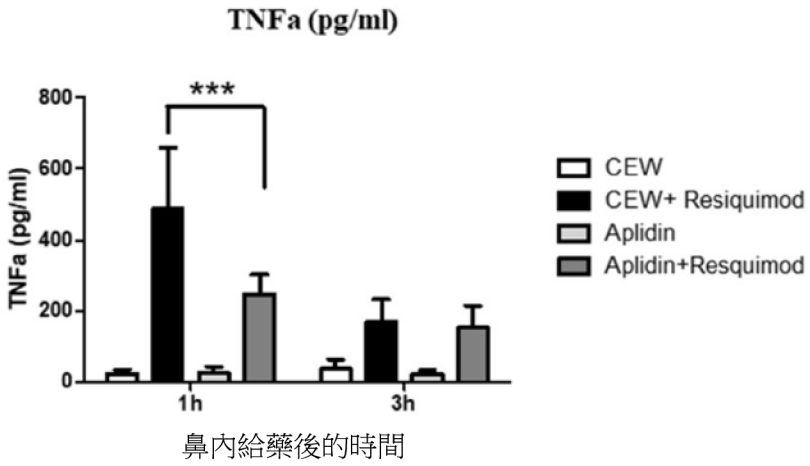

TNFa (pg/ml)
***
800
600
400
200
0
TNFa (pg/ml)
1h
3h
CEW
CEW+ Resiquimod
Aplidin
Aplidin+Resquimod
鼻內給藥後的時間

圖 52

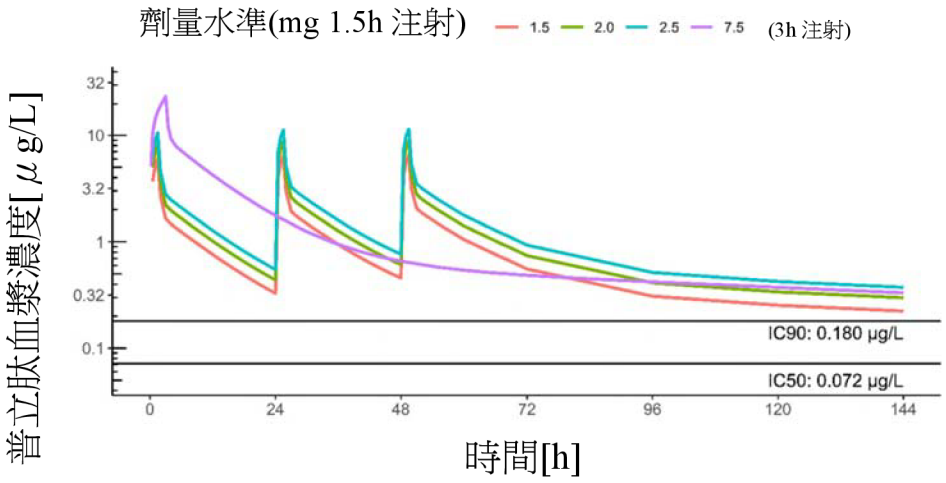

劑量水準(mg 1.5h 注射)
1.5
2.0
2.5
7.5
(3h 注射)
普立肽血漿濃度[μg/L]
32
10
3.2
1
0.32
0.1
IC90: 0.180 μg/L
IC50: 0.072 μg/L
0
24
48
72
96
120
144
時間[h]

圖 53