



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 31/403 (2021.08); A61K 45/06 (2021.08); A61P 31/06 (2021.08); C07D 477/00 (2021.08)

(21)(22) Заявка: 2019139864, 04.05.2018

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
04.05.2018Дата регистрации:
12.10.2021

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
08.05.2017 EP 17382255.2

(43) Дата публикации заявки: 09.06.2021 Бюл. № 16

(45) Опубликовано: 12.10.2021 Бюл. № 29

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 09.12.2019(86) Заявка РСТ:
EP 2018/061615 (04.05.2018)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2018/206466 (15.11.2018)Адрес для переписки:
129090, Москва, ул. Б. Спасская, 25, стр. 3, ООО
"Юридическая фирма Городисский и
Партнеры"

(72) Автор(ы):

БАРРОС АГИРРЕ, Давид (ES),
БЭЙТС, Роберт Х. (ES),
ГОНСАЛЕС ДЕЛЬ РИО, Рубен (ES),
МЕНДОСА ЛОСАНА, Альфонсо (ES),
РАМОН ГАРСИЯ, Сантьяго (ES)

(73) Патентообладатель(и):

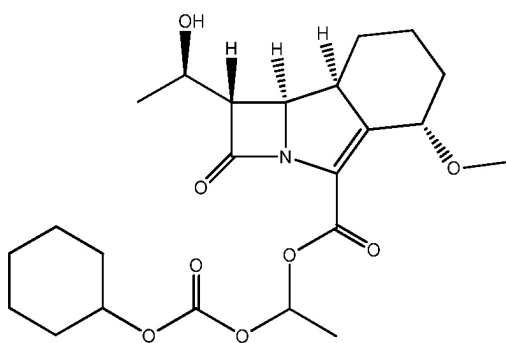
ГЛЭКСОСМИТКЛАЙН
ИНТЕЛЛЕКТУАЛ ПРОПЕРТИ
ДИВЕЛОПМЕНТ ЛИМИТЕД (GB)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: CARL N WIVAGG ET AL. The
journal of antibiotics, vol. 67, no. 9, 2014, pp. 645-
654. WO 1994021637 A1, 29.09.1994. RU 2043354
C1, 10.09.1995. WO 2016046845 A1, 31.03.2016.
EP 2135871 A1, 23.12.2009. EP 2085084 A1,
05.08.2009. RU 2011101493 A, 27.07.2012.(54) САНФЕТРИНЕМ ИЛИ ЕГО СОЛЬ ИЛИ СЛОЖНЫЙ ЭФИР ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ ПРИ
ЛЕЧЕНИИ МИКОБАКТЕРИАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ

(57) Реферат:

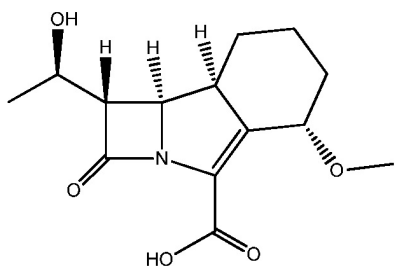
Изобретение относится к применению соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли или сложноэфирного пролекарства при изготовлении лекарственного средства для лечения туберкулеза, микобактериальной инфекции или заболевания, вызванного микобактериальной инфекцией, у пациента. Изобретение также относится к применению комбинации (а) соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли или сложноэфирного пролекарства и (b)

дополнительного противотуберкулезного средства при изготовлении лекарственного средства для введения при лечении туберкулеза, микобактериальной инфекции или заболевания, вызванного микобактериальной инфекцией. Технический результат – выявлена новая область применения соединения формулы (I), которое может найти применение в медицине для лечения туберкулеза. 4 н. и 22 з.п. ф-лы, 8 ил., 6 табл.

R U 2 7 5 7 2 7 2 C 2



(I)



R U 2 7 5 7 2 7 2 C 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A61K 31/403 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 31/06 (2006.01)
C07D 477/00 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC

A61K 31/403 (2021.08); A61K 45/06 (2021.08); A61P 31/06 (2021.08); C07D 477/00 (2021.08)(21)(22) Application: **2019139864, 04.05.2018**(24) Effective date for property rights:
04.05.2018Registration date:
12.10.2021

Priority:

(30) Convention priority:
08.05.2017 EP 17382255.2(43) Application published: **09.06.2021 Bull. № 16**(45) Date of publication: **12.10.2021 Bull. № 29**(85) Commencement of national phase: **09.12.2019**(86) PCT application:
EP 2018/061615 (04.05.2018)(87) PCT publication:
WO 2018/206466 (15.11.2018)Mail address:
**129090, Moskva, ul. B. Spasskaya, 25, str. 3, OOO
"Yuridicheskaya firma Gorodisskij i Partnery"**

(72) Inventor(s):

**BARROS AGUIRRE, David (ES),
BATES, Robert H. (ES),
GONZALEZ DEL RIO, Ruben (ES),
MENDOZA LOSANA, Alfonso (ES),
RAMON GARCIA, Santiago (ES)**

(73) Proprietor(s):

**GLAXOSMITHKLINE INTELLECTUAL
PROPERTY DEVELOPMENT LIMITED (GB)**

(54) SANFETRINEM OR ITS SALT OR COMPLEX ESTER FOR USE IN THE TREATMENT OF MYCOBACTERIAL INFECTION

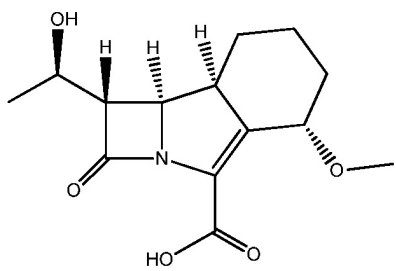
(57) Abstract:

FIELD: medicine.

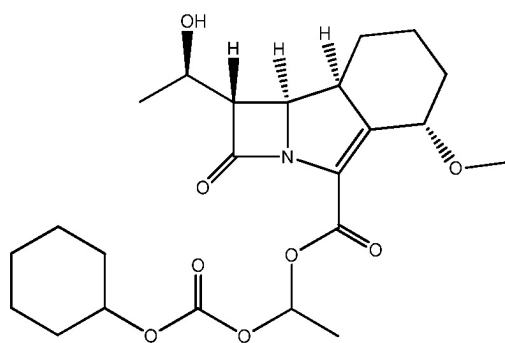
SUBSTANCE: invention relates to the use of a compound of the formula (I) or its pharmaceutically acceptable salt or a complex ester prodrug, when preparing a drug for the treatment of tuberculosis, a mycobacterial infection or a disease caused by a mycobacterial infection in a patient. The invention also relates to the use of a combination of (a) a compound of the formula (I) or its pharmaceutically acceptable salt or a complex ester prodrug, and (b) an additional anti-tuberculosis drug, when producing a drug for injection in the treatment of tuberculosis, a mycobacterial infection or a disease caused by a

mycobacterial infection.

EFFECT: new field of application of a compound of the formula (I) is discovered; the compound can be used in medicine for the treatment of tuberculosis.



(I)



26 cl, 8 dwg, 6 tbl

R U 2 7 5 7 2 7 2 C 2

R U 2 7 5 7 2 7 2 C 2

Работы, связанные с этим изобретением, финансировались по линии программы «Кадры» Седьмой рамочной программы Европейского Союза (FP7/2007–2013) («Акции Марии Кюри») в рамках грантового соглашения REA no. 291799.

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к санфетринему, или его фармацевтически приемлемой соли или сложноэфирному пролекарству, и его применению для лечения микобактериальной инфекции или заболевания, вызванного микобактериальной инфекцией. Более конкретно, настоящее изобретение относится к применению санфетринема, или его фармацевтически приемлемой соли или сложноэфирного пролекарства, при лечении туберкулеза. В частности, настоящее изобретение относится к пролекарству, санфетринем циклосетилу и его применению при лечении туберкулеза.

Предпосылки к созданию изобретения

Согласно отчету, опубликованному Всемирной организацией здравоохранения в 2014 году, почти десять миллионов человек заражаются туберкулезом (ТБ) каждый год, что приводит к 1,5 миллионам смертей в год. Несмотря на доступные методы лечения туберкулеза, глобальное бремя болезней остается серьезной проблемой из-за *Mycobacterium tuberculosis*, бактериального возбудителя туберкулеза, который становится устойчивым ко многим видам лечения.

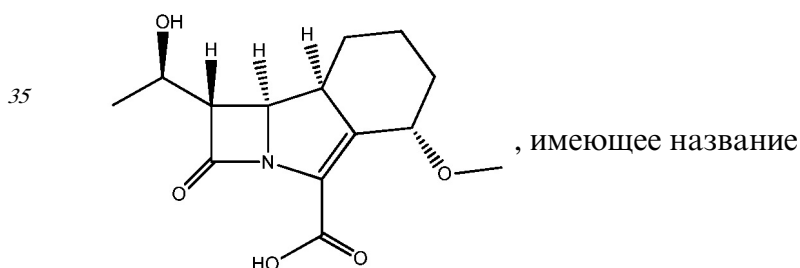
Хотя туберкулез вызван бактериальной инфекцией, использование самого известного класса антибиотиков, β -лактамов, в значительной степени игнорируется. Несмотря на то, что десятки утвержденных препаратов β -лактама составляют приблизительно две трети мирового рынка антибиотиков, их оценка против ТБ была ограничена ранними неудачами в клинических испытаниях и предположениями о том, что липофильная клеточная стенка микобактерии была непроницаема для таких высокополярных молекул.

Санфетринем циклосетил представляет собой экспериментальный антибиотик 1990-х годов, связанный с инфекциями, вызванными различными видами бактерий, но не включающими микобактерии.

В связи с постоянно растущим появлением мультирезистентных штаммов *Mycobacterium tuberculosis* и сохраняющейся высокой заболеваемостью ТБ существует острая необходимость в разработке новых лекарственных соединений для лечения ТБ.

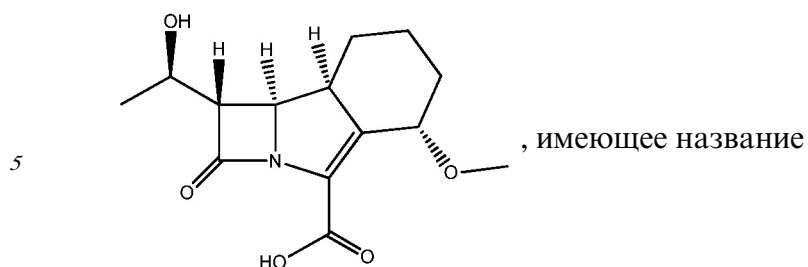
Сущность изобретения

В первом аспекте настоящего изобретения предложено



40 (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-гидроксиэтил)-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоновая кислота, или его фармацевтически приемлемая соль или сложноэфирное пролекарство для применения при лечении заболевания, вызванного микобактериальной инфекцией.

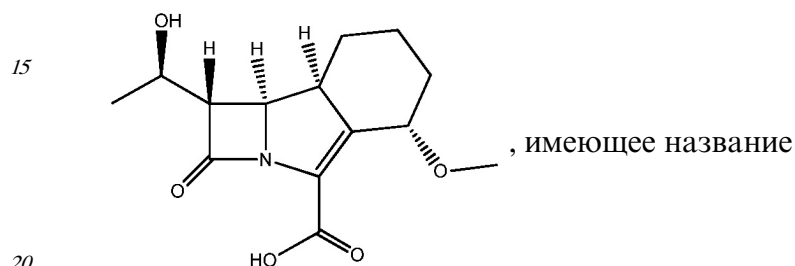
45 Во втором аспекте настоящего изобретения предложено



(1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-гидроксиэтил)

10 -5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоновая кислота, или его фармацевтически приемлемая соль или сложноэфирное пролекарство, для применения при лечении микобактериальной инфекции.

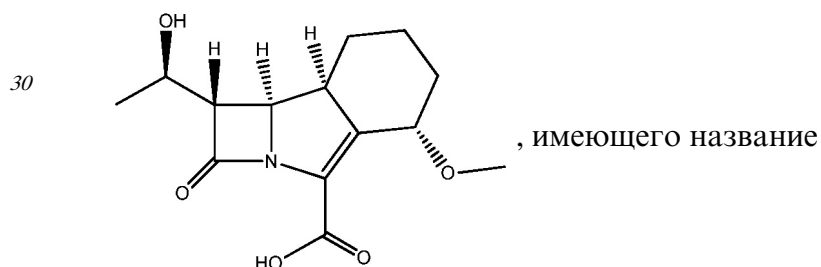
В третьем аспекте настоящего изобретения предложено



(1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-гидроксиэтил)

-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоновая кислота, или его фармацевтически приемлемая соль или сложноэфирное пролекарство, для применения при лечении туберкулеза.

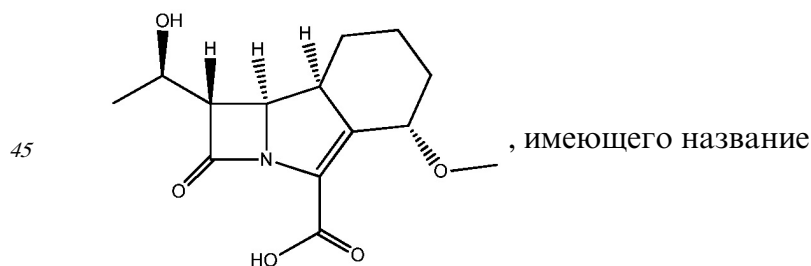
25 В четвертом аспекте настоящего изобретения предложен способ лечения заболевания, вызванного микобактериальной инфекцией, у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества



(1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-гидроксиэтил)

-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоновая кислота, или его фармацевтически приемлемой соли или сложноэфирного пролекарства.

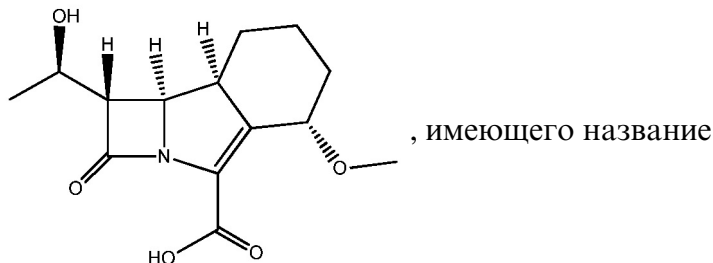
40 В пятом аспекте настоящего изобретения предложен способ лечения микобактериальной инфекции у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества



(1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-гидроксиэтил)

-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоновая кислота, или его фармацевтически приемлемой соли или сложноэфирного пролекарства.

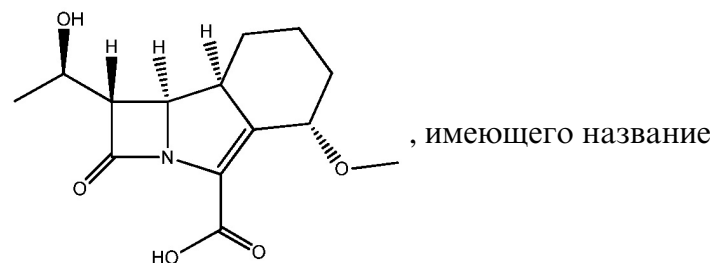
В шестом аспекте настоящего изобретения предложен способ лечения туберкулеза у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение терапевтически эффективного количества



(1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-гидроксиэтил)

-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоновая кислота, или его фармацевтически приемлемой соли или сложноэфирного пролекарства.

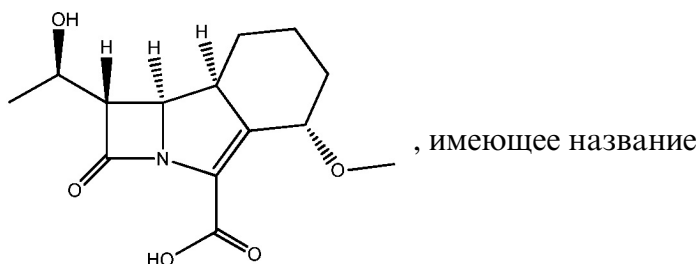
В седьмом аспекте настоящего изобретения предложено применение



(1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-гидроксиэтил)

-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоновая кислота, или его фармацевтически приемлемой соли или сложноэфирного пролекарства, при изготовлении лекарственного средства для применения при лечении туберкулеза, микобактериальной инфекции или заболевания, вызванного микобактериальной инфекцией.

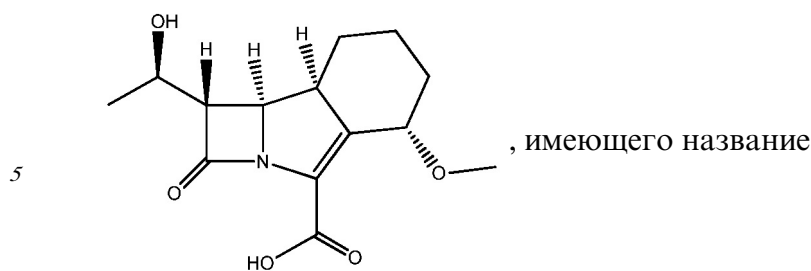
В восьмом аспекте настоящего изобретения предложена фармацевтическая композиция, включающая (а)



(1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-гидроксиэтил)

-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоновая кислота, или его фармацевтически приемлемую соль или сложноэфирное пролекарство; и (б) фармацевтически приемлемый эксципиент, для применения при лечении туберкулеза, микобактериальной инфекции или заболевания, вызванного микобактериальной инфекцией.

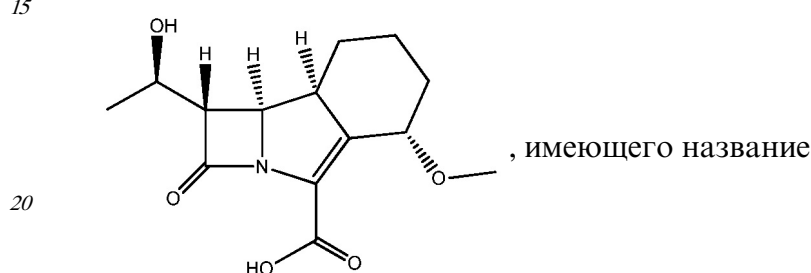
В девятом аспекте настоящего изобретения предложена комбинация (а)



(1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-гидроксиэтил)

10 –5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоновая кислота, или его фармацевтически приемлемой соли или сложноэфирного пролекарства; и (b) дополнительного другого противотуберкулезного средства, для применения при лечении микобактериальной инфекции, заболевания, вызванного микобактериальной инфекцией, или туберкулеза.

15 В десятом аспекте настоящего изобретения предложена комбинация (a)



(1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-гидроксиэтил)

25 –5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоновая кислота, или его фармацевтически приемлемой соли или сложноэфирного пролекарства; и (b) ингибитора β-лактамазы.

Описание фигур

На фиг. 1 показаны результаты на мышинной модели, используемые для оценки *in vivo* противотуберкулезной активности санфетринема и санфетринем цилексетила.

30 Фиг.2 представляет собой график распределения МПС санфетринема (натриевой соли) на панели лабораторных штаммов и клинических изолятов.

На фиг. 3 показаны кривые зависимости доза-эффект санфетринема, % роста от концентрации, отдельно и в комбинации с амоксициллином и амоксициллином плюс клавуланат (значения концентрации амоксициллина указаны в мкг/мл).

35 На фиг. 4 показаны кривые зависимости доза-эффект амоксициллина, % роста от концентрации, отдельно и в комбинации с клавуланатом.

На фиг. 5 показаны кривые зависимости доза-эффект для санфетринема в отдельности и в комбинации с деламанидом.

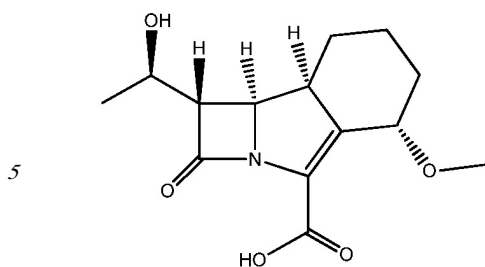
40 На фиг. 6 показаны кривые зависимости доза-эффект для санфетринема в отдельности и в комбинации с рифампицином.

На фиг. 7 показаны кривые зависимости доза-эффект для санфетринема в отдельности и в комбинации с этамбутолом.

На фиг. 8 показаны кривые зависимости доза-эффект для санфетринема в отдельности и в комбинации с амоксициллином.

45 Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение относится к соединению, имеющему следующую структуру (далее также называемое соединение А):



или его фармацевтически приемлемой соли или сложноэфирному пролекарству для применения при лечении заболевания, вызванного микобактериальной инфекцией.

Микобактериальная инфекция представляет собой инфекцию, вызванную микобактерией.

Название соединения А представляет собой (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-гидроксиэтил)-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоновая кислота.

Микобактерия может быть членом одной из следующих групп микобактерий: *Mycobacterium tuberculosis complex (MTC)*, *Mycobacterium avium complex (MAC)*, *Mycobacterium gordonae clade*, *Mycobacterium kansasii clade*, *Mycobacterium chelonae clade*, *Mycobacterium fortuitum clade*, *Mycobacterium parafortuitum clade* или *Mycobacterium vaccae clade*. Микобактерия также может быть *Mycobacterium ulcerans* или *Mycobacterium leprae*.

Члены *Mycobacterium tuberculosis complex (MTC)* включают *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium bovis BCG*, *Mycobacterium canetti*, *Mycobacterium caprae*, *Mycobacterium microti* и *Mycobacterium pinnipedii*. Эти микобактерии являются возбудителями туберкулеза человека и животных. *Mycobacterium tuberculosis* является основной причиной туберкулеза человека.

В одном варианте осуществления, инфекция представляет собой инфекцию, вызванную микобактерией, которая является членом *Mycobacterium tuberculosis complex (MTC)*.

В одном варианте осуществления инфекция представляет собой инфекцию *Mycobacterium tuberculosis*. Другими словами, микобактериальная инфекция вызвана инфекцией *Mycobacterium tuberculosis*.

Члены *Mycobacterium avium complex (MAC)* включают *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium avium paratuberculosis*, *Mycobacterium avium silaticum*, *Mycobacterium avium hominissuis*, *Mycobacterium colombiense* и *Mycobacterium indicus pranii*.

Члены *Mycobacterium gordonae clade* включают *Mycobacterium asiaticum* и *Mycobacterium gordonae*.

Члены *Mycobacterium kansasii clade* включают *Mycobacterium gastri* и *Mycobacterium kansasii*.

Члены *Mycobacterium chelonae clade* включают *Mycobacterium abscessus*, *Mycobacterium bolletii* и *Mycobacterium chelonae*.

Члены *Mycobacterium fortuitum clade* включают *Mycobacterium boenickei*, *Mycobacterium brisbanense*, *Mycobacterium cosmeticum*, *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium fortuitum subspecies acetamidolyticum*, *Mycobacterium houstonense*, *Mycobacterium mageritense*, *Mycobacterium neworleansense*, *Mycobacterium peregrinum*, *Mycobacterium porcinum*, *Mycobacterium senegalense* и *Mycobacterium septicum*.

Члены *Mycobacterium parafortuitum clade* включают *Mycobacterium austroafricanum*, *Mycobacterium diernhoferi*, *Mycobacterium frederiksbergense*, *Mycobacterium hodleri*, *Mycobacterium neoaurum* и *Mycobacterium parafortuitum*.

Таким образом, микобактериальная инфекция может быть вызвана инфекцией микобактерией, выбранной из следующих: *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium bovis BCG*, *Mycobacterium canetti*,

Mycobacterium caprae, *Mycobacterium microti*, *Mycobacterium pinnipedii*, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium avium paratuberculosis*, *Mycobacterium avium silaticum*, *Mycobacterium avium hominissuis*, *Mycobacterium colombiense*, *Mycobacterium indicus pranii*, *Mycobacterium asiaticum*, *Mycobacterium gordonae*, *Mycobacterium gastri*, *Mycobacterium kansasii*,
 5 *Mycobacterium abscessus*, *Mycobacterium bolletii*, *Mycobacterium chelonae*, включая *Mycobacterium boenickei*, *Mycobacterium brisbanense*, *Mycobacterium cosmeticum*, *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium fortuitum subspecies acetamidolyticum*, *Mycobacterium houstonense*, *Mycobacterium mageritense*, *Mycobacterium neworleansense*, *Mycobacterium peregrinum*, *Mycobacterium porcinum*, *Mycobacterium senegalense*, *Mycobacterium septicum*,
 10 *Mycobacterium austroafricanum*, *Mycobacterium diernhoferi*, *Mycobacterium frederiksbergense*, *Mycobacterium hodleri*, *Mycobacterium neoaurum*, *Mycobacterium parafortuitum*, *Mycobacterium ulcerans* и *Mycobacterium leprae*.

Заболевания, вызванные инфекцией микобактериями, включают, но не ограничиваются ими, туберкулез (например, от *Mycobacterium tuberculosis*), лепру
 15 (например, от *Mycobacterium leprae*), болезнь Джона (например, от *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis*), язва Бурули или Bairnsdale (например, от *Mycobacterium ulcerans*), болезнь Крона (например, от *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis*), кистозный фиброз (например, от нетуберкулезных микобактерий, таких как комплекс *Mycobacterium avium-intracellulare* и *Mycobacterium abscessus*) заболевание легких или
 20 инфекцию легких, пневмонию, бурсу, синовиальные влагалища сухожилий, локализованный абсцесс, лимфаденит, инфекции кожи и мягких тканей, синдром леди Уиндермир (например, от *Mycobacterium avium complex* (MAC)), заболевание легких, вызванное MAC, диссеминированная инфекция, вызванная *Mycobacterium avium complex* (DMAC), диссеминированная инфекция, вызванная *Mycobacterium avium intracellulare*
 25 *complex* (DMAIC), болезнь джакузи (например, от *Mycobacterium avium complex*), мастит, вызванный MAC, пиомиозит, вызванный MAC, или гранулематозная болезнь.

В одном варианте осуществления заболевание, возникающее в результате микобактериальной инфекции, представляет собой туберкулез, так что настоящее
 30 изобретение относится к соединению А или его фармацевтически приемлемой соли или сложноэфирному пролекарству для применения при лечении туберкулеза.

Изобретение также относится к соединению А, или его фармацевтически приемлемой соли или сложноэфирному пролекарству, для применения при лечении микобактериальной инфекции. В конкретном варианте осуществления микобактериальная инфекция представляет собой инфекцию *Mycobacterium tuberculosis*.

35 Более конкретно, изобретение относится к соединению А, или его фармацевтически приемлемой соли или сложноэфирному пролекарству, для применения при лечении туберкулеза. В одном варианте осуществления лечение туберкулеза может быть направлено на лечение туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью, с широкой лекарственной устойчивостью или лекарственно-чувствительного
 40 туберкулеза.

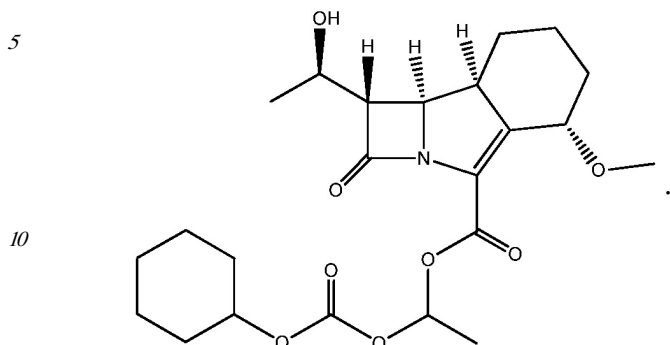
В одном варианте осуществления лечение туберкулеза направлено на туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью или с широкой лекарственной устойчивостью.

Кроме того, лечение может быть направлено на туберкулез легких и/или внелегочный
 45 туберкулез. Лечение также может быть направлено на лечение латентного ТБ.

Соединение А также известно как санфетринем или GV104326. Калиевая соль санфетринема была бы известна как санфетринем калия и так далее.

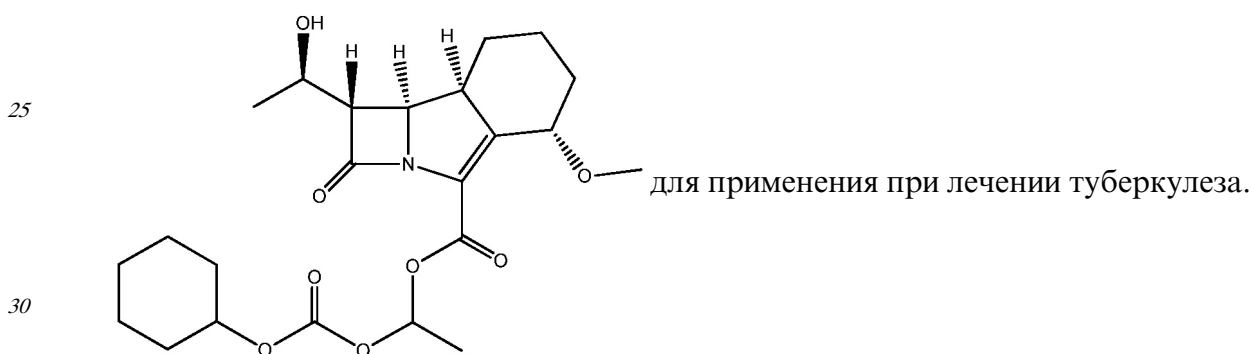
Более конкретно, изобретение относится к сложноэфирному пролекарству соединения

А для применения при лечении микобактериальной инфекции или заболевания, вызванного микобактериальной инфекцией, где пролекарство имеет следующую структуру

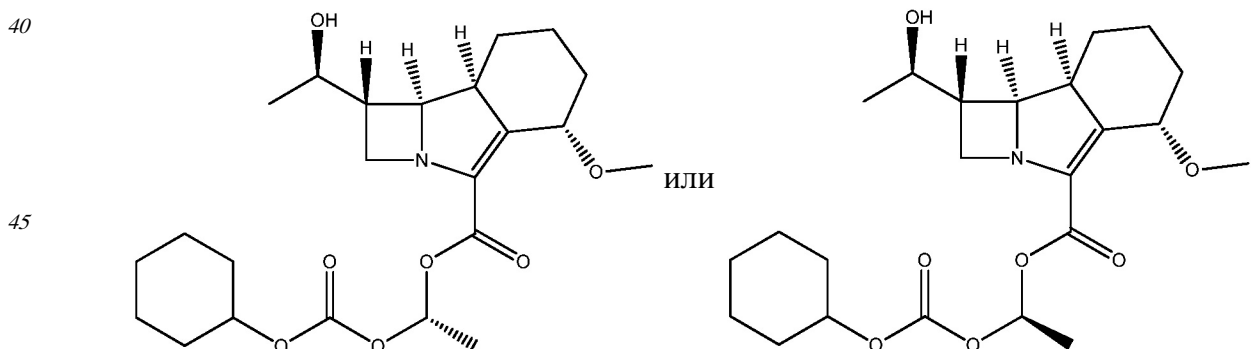


15 Это сложноэфирное пролекарство имеет название (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((циклогексилокси)карбонил)окси)этил 1-((*R*)-1-гидроксиэтил)-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоксилат. Это пролекарство также известно как санфетринем циклексетил или GV118819X.

Таким образом, изобретение также относится к (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-(((циклогексилокси)карбонил)окси)этил 1-((*R*)-1-гидроксиэтил)-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоксилату, т.е.



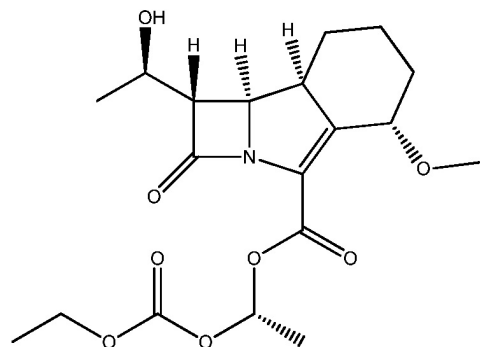
Следует отметить, что сложноэфирное пролекарство (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((циклогексилокси)карбонил)окси)этил 1-((*R*)-1-гидроксиэтил)-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоксилат (изображено выше) представляет собой смесь диастереоизомеров, также известных как эписмеры. Диастереоизомеры могут присутствовать в смеси в равных количествах (смесь 1:1) или в неравных количествах. Альтернативно, соединение может присутствовать в виде одного диастереоизомера. Каждый диастереоизомер изображен ниже.



Такие отдельные стереоизомеры могут быть получены разделением смеси диастереомеров.

Пролекарство, описанное выше, может быть предпочтительно использовано при лечении туберкулеза, потому что его можно вводить пациентам перорально.

Альтернативным пролекарством является (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-(*S*)-1-((этоксикарбонил)окси)этил 1-((*R*)-1-гидроксиэтил)-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето [2,1-*a*]изоиндол-4-карбоксилат, имеющий следующую структуру,

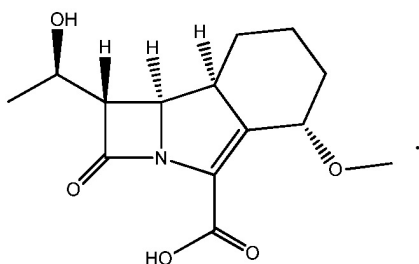


Это пролекарство может быть получено в соответствии со способами, описанными, например, в WO 94/21637 или аналогичными способами.

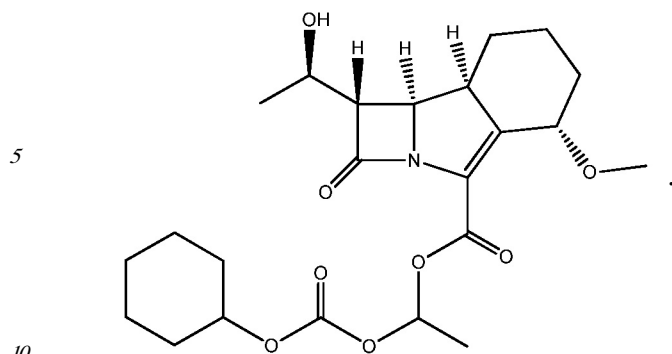
Все химические структуры были названы с использованием ChemBioDraw Ultra версия 12.0 (путем преобразования структуры в название).

Следует понимать, что ссылки в настоящем документе на соединение А или его соль включают соединение А в виде свободной кислоты или в виде его фармацевтически приемлемой соли. Таким образом, в одном варианте осуществления изобретение относится к соединению А. В другом варианте осуществления изобретение относится к фармацевтически приемлемой соли соединения А. В другом варианте осуществления изобретение относится к сложноэфирному пролекарству соединения А.

Термин «сложноэфирное пролекарство» относится к соединению А, где сложный эфир образовался из/с использованием группы свободной карбоновой кислоты, которая присутствует. Другими словами, «сложноэфирное пролекарство» означает, что сложный эфир образовался с использованием свободной кислоты, имеющейся в структуре ниже.



В качестве примера такого сложноэфирного пролекарства является соединение, имеющее следующую структуру



Термин «фармацевтически приемлемый» относится к тем соединениям (включая соли), веществам, композициям и лекарственным формам, которые в рамках здравого медицинского заключения пригодны для использования в контакте с тканями людей и животных без чрезмерной токсичности, раздражения или другой проблемы или осложнения, соизмеримыми с разумным соотношением польза/риск.

Фармацевтически приемлемые соли включают, среди прочего, соли, описанные в Berge, *J. Pharm. Sci.*, 1977, 66, 1–19, or those listed in P H Stahl and C G Wermuth, editors, *Handbook of Pharmaceutical Salts; Properties, Selection and Use, Second Edition* Stahl/Wermuth: Wiley– VCH/VHCA, 2011 (см. <http://www.wiley.com/WileyCDA/WileyTitle/productCd-3906390519.html>).

Подходящие фармацевтически приемлемые соли могут включать соли присоединения оснований.

Такие соли присоединения оснований могут быть образованы взаимодействием (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)–1–((*R*)–1–гидроксиэтил)

–5–метокси–2–оксо–1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*–октагидроазето[2,1–*a*]изоиндол–4–карбоновой кислоты с соответствующим основанием, необязательно в подходящем растворителе, таком как органический растворитель, с получением соли, которая может быть выделена различными способами, включая кристаллизацию и фильтрацию.

Типичные фармацевтически приемлемые соли присоединения основания включают, но не ограничиваются ими, алюминий, 2–амино–2–(гидроксиметил)–1,3–пропандиол (TRIS, трометамин), аргинин, бенетамин (N–бензилфенетиламин), бензатин (N, N'–дибензилэтилендиамин), бис–(2–гидроксиэтил)амин, висмут, кальций, хлорпрокаин, холин, клемизол (1–п–хлорбензил–2–пирролилдин–1'–илметилбензимидазол), циклогексиламин, дибензилэтилендиамин, диэтиламин, диэтилтриамин, диметиламин, диметилэтанолламин, дофамин, этаноламин, этилендиамин, L–гистидин, железо, изохинолин, лепидин, литий, лизин, магний, меглюмин (N–метилглюкамин), пиперазин, пиперидин, калий, прокаин, хинин, хинолин, натрий, стронций, трет–бутиламин и цинк.

Конкретными фармацевтически приемлемыми солями по настоящему изобретению являются натриевая соль и калиевая соль соединения А, так что соединение, которое

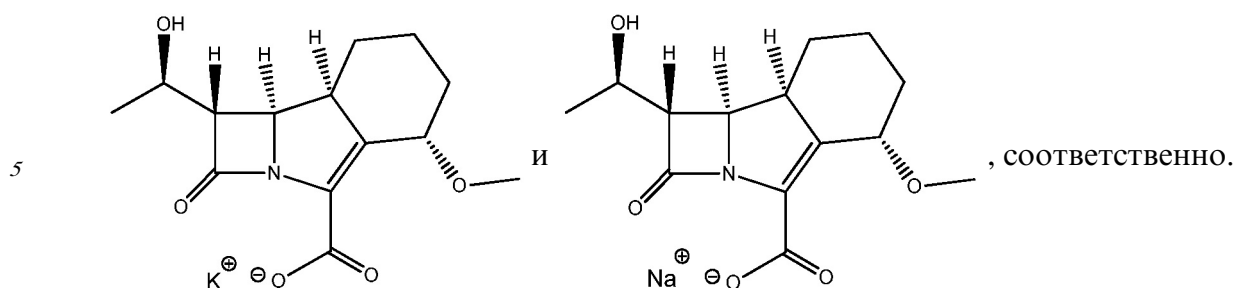
вводят пациенту для лечения, представляет собой калий

(1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)–1–((*R*)–1–гидроксиэтил)

–5–метокси–2–оксо–1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*–октагидроазето[2,1–*a*]изоиндол–4–карбоксилат или натрий (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)–1–((*R*)–1–гидроксиэтил)

–5–метокси–2–оксо–1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*–октагидроазето[2,1–*a*]изоиндол–4–карбоксилат,

изображенные следующим образом



В одном варианте осуществления фармацевтически приемлемая соль соединения А представляет собой натриевую соль.

Следует отметить, что соединение (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-гидроксиэтил)-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоновая кислота или его фармацевтически приемлемая соль или его пролекарство, (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-(((циклогексилокси)карбонил)окси)этил 1-((*R*)-1-гидроксиэтил)-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоксилат могут находиться в любой их подходящей сольватированной (например, гидратированной) и/или их полиморфной формах.

Соединение (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-гидроксиэтил)-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоновая кислота или его фармацевтически приемлемая соль, или его пролекарство, (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-(((циклогексилокси)карбонил)окси)этил 1-((*R*)-1-гидроксиэтил)-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоксилат могут быть получены в соответствии со способами, описанными в EP0416953 и WO 94/21637, или аналогичными способами.

В частности, (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-гидроксиэтил)-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоновая кислота или ее соль могут быть получены в соответствии со способами, описанными в примерах 4 и 5 WO 94/21637.

В частности, пролекарство, (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-(((циклогексилокси)карбонил)окси)этил 1-((*R*)-1-гидроксиэтил)-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоксилат может быть получено в соответствии со способом, описанным в примере 1 WO 92/03437. Другие сложноэфирные пролекарства могут быть получены в соответствии с аналогичными способами и способами, известными специалистам в данной области.

В дополнительном аспекте изобретения предложен способ лечения заболевания, вызванного микобактериальной инфекцией, у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-гидроксиэтил)-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоновой

кислоты или ее фармацевтически приемлемой соли или сложноэфирного пролекарства.

Микобактериальная инфекция может быть вызвана одной из микобактерий, выбранных из списка, описанного выше, такой как *Mycobacterium tuberculosis*.

В одном варианте осуществления, заболевание, подлежащее лечению, представляет собой туберкулез. Следовательно, в варианте осуществления изобретение также относится к способу лечения туберкулеза у пациента, нуждающегося в этом, включающему введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-гидроксиэтил)-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоновой

кислоты или ее фармацевтически приемлемой соли или сложноэфирного пролекарства.

В дополнительном аспекте предоставлен способ лечения микобактериальной инфекции у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-гидроксиэтил)-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоновой кислоты или ее фармацевтически приемлемой соли или сложноэфирного пролекарства.

Микобактериальная инфекция может быть вызвана одной из микобактерий, выбранных из списка, описанного выше. В одном варианте осуществления, микобактериальная инфекция представляет собой инфекцию *Mycobacterium tuberculosis*, так что изобретение относится к способу лечения инфекции *Mycobacterium tuberculosis*.

В дополнительном аспекте предложен способ лечения туберкулеза у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-гидроксиэтил)-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоновой кислоты или ее фармацевтически приемлемой соли или сложноэфирного пролекарства.

В одном варианте осуществления предложен способ лечения туберкулеза у пациента, нуждающегося в этом, который включает введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества сложноэфирного пролекарства соединения А. В частности, сложноэфирное пролекарство представляет собой (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-(((циклогексилокси)карбонил)окси)этил 1-((*R*)-1-гидроксиэтил)-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоксилат, имеющая структуру, изображенную выше.

В другом варианте осуществления предложен способ лечения туберкулеза у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества фармацевтически приемлемой соли соединения А. В частности, фармацевтически приемлемая соль представляет собой натриевую соль, так что средство, вводимое пациенту, представляет собой натрий (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-гидроксиэтил)-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоксилат.

В одном варианте осуществления пациент, нуждающийся в этом, является пациентом-человеком. Термин пациент предназначен для обозначения лица, страдающего или инфицированного микобактериальной инфекцией, заболеванием, вызванным микобактериальной инфекцией, или туберкулезом.

Кроме того, предложено применение соединения (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-гидроксиэтил)-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоновая кислота или его фармацевтически приемлемой соли или сложноэфирного пролекарства при производстве лекарственного средства для применения при лечении заболевания, вызванного микобактериальной инфекцией, или при лечении микобактериальной инфекции. В частности, изобретение относится к применению соединения (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-гидроксиэтил)-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоновая кислота или его фармацевтически приемлемой соли или сложноэфирного пролекарства, при изготовлении лекарственного средства для применения при лечении туберкулеза.

В частности, также предусмотрено применение натрий (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-гидроксиэтил)-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоксилата или (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-(((циклогексилокси)карбонил)окси)этил 1-((*R*)-1-гидроксиэтил)-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоксилата

при изготовлении лекарственного средства для применения при лечении туберкулеза.

Используемый в настоящем описании термин «терапевтически эффективное количество» означает любое количество, которое по сравнению с соответствующим субъектом, который не получил такое количество, приводит к улучшению лечения, 5 заживления, предотвращения или облегчения заболевания, расстройства или побочного эффекта, или снижению скорости развития заболевания или расстройства.

Подходящее «терапевтически эффективное количество» будет зависеть от ряда факторов, включая, например, возраст и массу тела субъекта, точное состояние, требующее лечения и его тяжесть, природу препарата и путь введения, и в конечном 10 счете будет зависеть от усмотрения лечащего врача.

Специалистам в данной области будет понятно, что ссылки в данном описании на лечение относятся к лечению установленных состояний, включая, например, микобактериальную инфекцию, заболевания, вызванные микобактериальной инфекцией, и/или туберкулез. Однако, (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-гидроксиэтил)

–5-метокси–2-оксо–1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоновая 15 кислота, а также ее фармацевтически приемлемые соли или сложноэфирные пролекарства могут, в зависимости от состояния, также быть полезными для профилактики микобактериальной инфекции, заболевания, вызванного микобактериальной инфекцией, и/или туберкулеза. Таким образом, в одном варианте осуществления предоставлено 20 лечение или профилактика заболевания. В другом варианте осуществления предоставлено лечение заболевания. В дополнительном варианте осуществления предоставлена профилактика заболевания.

Хотя возможно, что для применения при лечении микобактериальной инфекции, заболевания, вызванного микобактериальной инфекцией, или туберкулеза,

25 (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-гидроксиэтил)

–5-метокси–2-оксо–1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоновую кислоту, а также ее фармацевтически приемлемые соли или сложноэфирные пролекарства, можно вводить отдельно, обычным является представление активного 30 ингредиента в виде фармацевтической композиции, включающей один или несколько фармацевтически приемлемый эксципиент(ы).

Следовательно, в одном варианте осуществления также предоставлена фармацевтическая композиция, включающая (а) натрий (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-гидроксиэтил)

–5-метокси–2-оксо–1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоксилат 35 или пролекарство, (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-(((циклогексилокси)карбонил)окси)этил 1-((*R*)-1-гидроксиэтил)–5-метокси–2-оксо–1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*] изоиндол-4-карбоксилат, и (b) фармацевтически приемлемый эксципиент, для применения при лечении микобактериальной инфекции, заболевания, вызванного микобактериальной инфекцией, или туберкулеза.

40 Фармацевтические композиции могут вводиться любым подходящим путем, например, пероральным (включая трансбуккальный или сублингвальный), ингаляционным, интраназальным, местным (включая трансбуккальный, сублингвальный или трансдермальный) или парентеральным (включая подкожный, внутримышечный, внутривенный или внутрикожный) путем.

45 В одном варианте осуществления фармацевтическую композицию вводят пероральным путем введения. Когда фармацевтическая композиция предназначена для перорального применения, в частности, сложноэфирное пролекарство (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-(((циклогексилокси)карбонил)окси)этил 1-((*R*)-1-гидроксиэтил)

–5–метокси–2–оксо–1,2,5,6,7,8,8a,8b–октагидроазето[2,1–a]изоиндол–4–карбоксилат используют в качестве активного фармацевтического ингредиента.

В одном варианте осуществления фармацевтическую композицию вводят внутривенным путем введения. Когда фармацевтическая композиция предназначена для внутривенного введения, в частности, в качестве активного фармацевтического ингредиента используют натриевую или калиевую соль соединения А.

Подходящие фармацевтически приемлемые наполнители включают следующие типы эксципиентов: носители, разбавители, наполнители, связующие вещества, дезинтегранты, смазывающие вещества, скользящие вещества, гранулирующие средства, покрывающие средства, смачивающие средства, растворители, сорастворители, суспендирующие вещества, эмульгаторы, подсластители, ароматизаторы, ароматизирующие агенты, красители, антикомкователи, увлажнители, хелатирующие агенты, пластификаторы, повышающие вязкость агенты, антиоксиданты, консерванты, стабилизаторы, поверхностно–активные вещества и буферные агенты.

Подходящие способы получения (1*S*,5*S*,8a*S*,8b*R*)–1–((*R*)–1–гидроксиэтил)–5–метокси–2–оксо–1,2,5,6,7,8,8a,8b–октагидроазето[2,1–a]изоиндол–4–карбоновой кислоты или ее фармацевтически приемлемой соли или сложноэфирного пролекарства включают те, которые знакомы специалистам в данной области, которые описаны в Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition 2006.

Фармацевтические композиции могут быть представлены в стандартных лекарственных формах, включающих заранее определенное количество активного ингредиента на единичную дозу. Предпочтительными единичными дозированными композициями являются композиции, включающие суточную дозу или субдозу или их подходящую фракцию активного ингредиента. Поэтому такие единичные дозы можно вводить более одного раза в день. Предпочтительными композициями единичной дозы являются композиции, которые содержат суточную дозу или субдозу (для введения более одного раза в день), как указано выше, или соответствующую их часть активного ингредиента.

Для введения активного ингредиента, например, сложноэфирного пролекарства, (1*S*,5*S*,8a*S*,8b*R*)–1–(((циклогексилокси)карбонил)окси)этил 1–((*R*)–1–гидроксиэтил)–5–метокси–2–оксо–1,2,5,6,7,8,8a,8b–октагидроазето[2,1–a]изоиндол–4–карбоксилат), доза может составлять от 100 мг до 2000 мг или от 100 мг до 1000 мг. Например, доза может составлять от 250 мг до 500 мг. В частности, пероральная доза может составлять от 250 мг до 1000 мг, вводимых два раза в день, что обеспечивает общую суточную дозу от 500 мг до 2000 мг. Пероральную дозу можно вводить один раз в день. Общее количество вводимого активного ингредиента в сутки может составлять 500, 1000 или 2000 мг.

Для внутривенного введения, например, (1*S*,5*S*,8a*S*,8b*R*)–1–((*R*)–1–гидроксиэтил)–5–метокси–2–оксо–1,2,5,6,7,8,8a,8b–октагидроазето[2,1–a]изоиндол–4–карбоновой кислоты или ее фармацевтически приемлемой соли, доза может составлять до 1 г три раза в день, обеспечивая общую суточную дозу 3 г. Альтернативно, общая суточная доза может составлять 1,5 г или 2 г в день.

Соединение можно вводить в виде одной дозы в день или в виде нескольких (например, двух, трех, четырех, пяти или шести) субдоз в день, так что общая суточная доза является одинаковой. Эффективное количество его фармацевтически приемлемой соли или его сложноэфирного пролекарства может быть определено как пропорция эффективного количества соединения (1*S*,5*S*,8a*S*,8b*R*)–1–((*R*)–1–гидроксиэтил)–5–метокси–2–оксо–1,2,5,6,7,8,8a,8b–октагидроазето[2,1–a]изоиндол–4–карбоновая

кислота или его фармацевтически приемлемой соли как таковой.

Пример перорального состава таблетки, который может быть использован, описан в EP502465, который является следующим.

5		мг/таблетка
	Активный ингредиент, например, (1 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,8 <i>aS</i> ,8 <i>bR</i>)-1-(((циклогексилокси)карбонил)окси)этил 1-((<i>R</i>)-1-гидроксиэтил)-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8 <i>a</i> ,8 <i>b</i> -октагидроазето[2,1- <i>a</i>]изоиндол-4-кар- боксилат	320
	лактоза	150
	Этилцеллюлоза	20
10	Лаурилсульфат натрия	7
	Стеарат магния	3
	Ядро таблетки	500 мг

Активный ингредиент и лактоза могут быть смешаны вместе и затем гранулированы с использованием воды в качестве гранулирующей жидкости. Высушенные гранулы могут быть затем смешаны с этилцеллюлозой, лаурилсульфатом натрия и стеаратом магния и ядро таблетки сформировано с использованием соответствующего штампа. Затем таблетка может быть покрыта (например, энтеросолюбильным покрытием) с использованием обычных методик и покрытий.

Для использования в изобретении соединение (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-гидроксиэтил)-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоновая кислота или ее фармацевтически приемлемая соль или сложноэфирное пролекарство могут использоваться отдельно или в комбинации с дополнительными терапевтическими средствами. В частности, соединение (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-гидроксиэтил)-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоновая кислота или ее фармацевтически приемлемая соль или сложноэфирное пролекарство могут применяться в комбинации с дополнительными противотуберкулезными и/или противовирусными средствами, включая антиретровирусные средства.

Например, в настоящем описании также раскрыта комбинация (а) соединения А или его фармацевтически приемлемой соли или сложноэфирного пролекарства и (b) дополнительного противотуберкулезного средства.

Таким образом, настоящее изобретение также включает комбинацию (а) соединения А или его фармацевтически приемлемой соли или сложноэфирного пролекарства, и (b) дополнительного противотуберкулезного средства, для применения при лечении микобактериальной инфекции, заболевания, вызванного микобактериальной инфекцией, или туберкулеза. В одном варианте осуществления комбинация предназначена для применения при лечении туберкулеза.

В одном варианте осуществления, комбинация может включать два, три, четыре, пять, шесть или семь дополнительных противотуберкулезных средств. Например, при лечении туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью, обычно пациентам вводят комбинации из четырех или более средств. Например, при лечении лекарственно-чувствительного туберкулеза, часто пациентам вводят комбинации из трех или четырех средств.

Дополнительное противотуберкулезное средство может быть средством в разработке, одобренным или рекомендованным для лечения туберкулеза.

В одном варианте осуществления, противотуберкулезное средство может быть выбрано из изониазида, рифампина, пипразинамида, этамбутола, моксифлоксацина, рифапентина, клофазимина, этионамида, протионамида, изоксила, тиацетазона, рифабутина, диарилхинолина, такого как бедаквилин (ТМС207) или ТВАJ-587, нитроимидазо-оксазина РА-824 (претоманид), деламанида (ОРС-67683), оксазолидинона,

такого как линезолид, тедизолид, радезолид, сутезолид (PNU-100480), посизолид (AZD-5847) или TBI-223, аналога EMB SQ109, OPC-167832, GSK3036656A (также известный как GSK070), GSK2556286, GSK3211830, бензотиазинона, такого как BTZ043 или PBTZ169, азаиндола, такого как TBA-7371, динитробензамида или бета-лактама, такого как меропенем, фаропенем, эртапенем, тебипенем или комбинаций бета-лактама, таких как аугментин (AUGMENTIN) (амоксциллин-клавуланат).

В одном варианте осуществления, противотуберкулезное средство может представлять собой аугментин, т.е. амоксициллин-клавуланат. Таким образом, в настоящем описании также раскрыта комбинация соединения А или его фармацевтически приемлемой соли или сложноэфирного пролекарства и аугментина.

В другом варианте осуществления противотуберкулезное средство может быть выбрано из деламанида, рифампицина и этамбутола. Таким образом, в настоящем описании также раскрыта комбинация соединения А или его фармацевтически приемлемой соли или сложноэфирного пролекарства и, по меньшей мере, одного из деламанида, рифампицина и этамбутола.

Комбинация для применения согласно настоящему изобретению может дополнительно включать противовирусное средство, включая антиретровирусные средства.

Такие антиретровирусные средства могут быть выбраны из зидовудина, диданозина, ламивудина, залцитабина, абакавира, ставудина, адефовира, адефовир дипивоксила, фозивудина, тодоксила, эмтрицитабина, аловудина, амдоксовира, элвучитабина, невирапина, делавирдина, эфавиренца, ловирида, иммунокала, олтипразы, каправирина, лерсивирина, GSK2248761, TMC-278, TMC-125, этравирина, саквинавира, ритонавира, индинавира, нелфинавира, ампренавира, фосампренавира, бреканавира, дарунавира, атазанавира, типранавира, палинавира, лазинавира, энфувиртида, T-20, T-1249, PRO-542, PRO-140, TNX-355, BMS-806, BMS-663068 и BMS-626529, 5-Helix, ралтегравира, элвитегравира, GSK1349572, GSK1265744, викривирока (Sch-C), Sch-D, TAK779, маравиурока, TAK449, диданозина, тенофовира, лопинавира или дарунавира.

Комбинация может быть удобно представлена для использования в форме фармацевтической композиции или лекарственной формы. Таким образом, в настоящем документе также рассматривается фармацевтическая композиция, включающая (а) соединение А или его фармацевтически приемлемую соль или сложноэфирное пролекарство, как описано в настоящем документе, вместе с (b) дополнительным другим противотуберкулезным лекарственным средством и (c) необязательно противовирусным средством, включающим антиретровирусные средства, и (d) одно или несколько фармацевтически приемлемые эксципиентов.

Соединение (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-гидроксиэтил)-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоновая кислота или ее фармацевтически приемлемая соль или сложноэфирное пролекарство и дополнительное терапевтически активное средство(а) (такое как противотуберкулезное средство и противовирусные средства) могут вводиться вместе или раздельно, и при раздельном введении это может происходить отдельно или последовательно в любом порядке (одинаковыми или разными путями введения).

В одном варианте осуществления соединение А или его фармацевтически приемлемую соль или сложноэфирное пролекарство вводят совместно с другим противотуберкулезным средством. Под термином «совместное введение» подразумевается либо одновременное введение, либо любой способ раздельного введения соединения А или его фармацевтически приемлемой соли или сложноэфирного

пролекарства, а также дополнительного противотуберкулезного средства, которое, как известно, может быть полезно при лечении микобактериальной инфекции, заболевания, вызванного микобактериальной инфекцией, или туберкулеза, в частности, туберкулеза.

5 Количества (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-гидроксиэтил)-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоновой кислоты или ее фармацевтически приемлемой соли или сложноэфирного пролекарства и дополнительного терапевтически активного средства(в) и относительные сроки введения будут выбраны для достижения желаемого комбинированного

10 терапевтического эффекта.

 Соединение (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-гидроксиэтил)-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоновая кислота или его фармацевтически приемлемую соль или сложноэфирное пролекарство можно вводить в комбинации с ингибитором β-лактамазы.

15 Таким образом, изобретение также относится к комбинации сложноэфирного пролекарства санфетринема, (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-(((циклогексилокси)карбонил)окси)этил 1-((*R*)-1-гидроксиэтил)-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоксилата, и ингибитора β-лактамазы.

 Изобретение также относится к комбинации натриевой соли санфетринема, натрий

20 (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-гидроксиэтил)-5-метокси-2-оксо-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-октагидроазето[2,1-*a*]изоиндол-4-карбоксилат, и ингибитора β-лактамазы.

 В одном варианте осуществления, ингибитор β-лактамазы выбран из клавулановой кислоты или ее водорастворимой соли (такой как клавуланат калия), тазобактама,

25 авибактама и сульбактама.

 В одном варианте осуществления, ингибитор β-лактамазы представляет собой клавулановую кислоту или ее водорастворимую соль, такую как клавуланат калия.

 В одном варианте осуществления, ингибитор β-лактамазы может быть предоставлен в виде комбинации амоксициллина и клавуланата калия, известного как ко-амоксиклав

30 (также известный как, например, аугментин). Ко-амоксиклав может вводиться в виде таблеток 375 мг или 625 мг, где клавуланат калия присутствует в количестве, эквивалентном 125 мг клавулановой кислоты. Кроме того, ко-амоксиклав можно вводить в виде таблеток по 1000 мг, где клавуланат калия присутствует в количестве, эквивалентном 125 мг клавулановой кислоты. Альтернативно, ко-амоксиклав можно

35 вводить в виде общего количества в день 4000 мг амоксициллина, где клавуланат калия присутствует в количестве, эквивалентном 250 мг, то есть введение таблеток по 1000 мг, где клавуланат калия присутствует в количестве 62,5 мг, где две таблетки вводятся два раза в день.

 Далее изобретение будет описано со ссылкой на следующие примеры.

40 Примеры

 Натриевая соль санфетринема была протестирована в следующих анализах внеклеточной и внутриклеточной жизнеспособности. Некоторые другие β-лактамы лекарственные средства также были протестированы в том же анализе – меропенем, тебипенем, эртапенем и фаропенем.

45 Санфетринем получали в соответствии с одним из способов, описанных в EP0416953 и WO 94/21637 (см., например, примеры 4 и 5). В описанных ниже анализах использовали натриевую соль санфетринема.

 Фаропенем натрия приобретали у AOKChem – CN (Ref A6030).

Меропенем приобретали у Combi Blocks, USA (Ref ST–9229).

Тебипенем приобретали у Chemexpress (Shanghai Haoyuan) Co., Ltd. (Ref HY–A0076).

Эртапенем приобретали у Amatek (Ref DM–0004).

Клавуланат калия использовали в качестве источника клавулановой кислоты, обозначенный в приведенных ниже таблицах как “clav”.

Список сокращений

DMSO: Диметилсульфоксид

ADC: Альбумин/декстроза/каталаза

КОЕ: колониеобразующая единица

FBS: Фетальная бычья сыворотка

Mtb: *Mycobacterium tuberculosis*

RPMI: Roswell Park Memorial Institute

PBS: Фосфатно–солевой буферный раствор

ОПРЕДЕЛЕНИЕ MIC

Измерение минимальной ингибирующей концентрации (MIC) в отношении *M. tuberculosis* H37Rv для каждого тестируемого соединения проводили в 96–луночных полистирольных микротитрационных планшетах с плоским дном в конечном объеме 200 мкл.

Десять двукратных разведений лекарственного средства тестируемого соединения в чистом DMSO, начиная с 80 мкМ, проводили от 1 до 10 колонки. Моксифлоксацин (MX) использовали в качестве контрольного соединения с дозой–ответом с 2–кратными разведениями MX, начиная с 1 мкг/мл в колонке 11. В G–12 и H–12 рифампицин дозировали при 1 мкг/мл в качестве нерастущего контроля. От A12 до F12 DMSO распределяли в качестве контроля роста.

Также получали дополнительный планшет с той же схемой, но добавляя 4 мкг/мл клавуланата калия (Fluka Ref 33454) ко всем планшетах для проверки сдвига MIC в присутствии этого ингибитора β–лактамазы.

Инокулят стандартизировали до приблизительно 1×10^7 КОЕ/мл и разбавляли 1 на 200 в бульоне Миддлбрук 7H9, дополненном ADC (Difco). Этот инокулят (200 мкл и 10^4 КОЕ/лунка) добавляли ко всему планшету.

Все планшеты помещали в герметичную коробку для предотвращения высыхания периферийных лунок и инкубировали при 37°C без встряхивания в течение шести дней.

Раствор резазурина получали путем растворения одной таблетки резазурина (Resazurin Tablets for Milk Testing; Ref 330884Y' VWR International Ltd) в 30 мл стерильного PBS (фосфатно–солевой буферный раствор). Из этого раствора в каждую лунку добавляли 25 мкл.

Флуоресценцию измеряли (Spectramax M5 Molecular Devices, возбуждение 530 нм, эмиссия 590 нм, отсечка 570 нм) через 48 часов для определения значения MIC

Внеклеточные MIC значения для санфетринема, включая санфетринем цилексетил и другие типичные β–лактамы (меропенем, тебипенем, фаропенем и эртапенем) представлены в таблице 1 ниже. Как можно видеть, исходные данные указаны вместе со средним значением MIC. Разница в два раза MIC значения считается в пределах погрешности. Каждое указанное значение, разделенное запятой, представляет отдельное значение MIC.

Таблица 1

Соединение	MIC мкМ (с clav)	MIC мкМ (без clav)	MIC мкМ (сред- нее с clav)	MIC мкМ (сред- нее без clav)
------------	------------------	--------------------	-------------------------------	---------------------------------

санфетринем (натриевая соль)	1,25, 2,5, 5	2,5,5, 7,5	2,9	5
санфетринем циклексетил	5, 5, 10, 10, 5, 5, 20	10, 7,5, 10, 10, 7,5, 10, 10, 20	8,6	10,6
фаропенем	10, 5, 5, 5, 7,5, 20, 10	20, 10, 5, 5, 20, 30, 20	8,9	15,7
меропенем	2,5, 5, 15, 5	15, 40, 40	6,9	31,7
тебипенем	1,25	7,5	1,25	7,5
эртапенем	10, 20, 20	80, >80, >80	16,7	>80

АНАЛИЗ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ

Противотуберкулезную активность соединений против *Mycobacterium tuberculosis*, растущих внутри моноцитов ТНР–1 человека, определяли с использованием *M. tuberculosis* H37Rv, содержащего ген люциферазы светлячка.

Моноциты ТНР–1 поддерживали в суспензии со средой RPMI–1640, содержащей 10% FBS, 1 мМ пирувата, 2 мМ L–глутамина, и инкубировали при 37°C с 5% CO₂.

Моноциты выращивали до субконфлюенса (5×10^5 клеток/мл) и инфицировали в течение 4 ч в роллерном флаконе с клетками с множественностью заражения (MOI) 1 диспергированной бактериальной суспензией с асептическими стеклянными шариками в RPMI–0,05% Tween 80. Избыток бактерий удаляли путем пятикратной промывки в среде RPMI (1500 об/мин, 5 мин).

Зараженные клетки распределяли в 96–луночные белые планшеты (50000 клеток/луночка), содержащие 1:2 серийные разведения соединений. Процент DMSO должен быть ниже 0,5%.

Люминесценцию измеряли через 5 дней, используя набор Steady–Glo Promega в системе Victor 1420.

Результаты обрабатывали с использованием программного обеспечения Grafit.

Значения MIC₉₀ рассчитывали по кривым доза–эффект с помощью анализа методом нелинейной регрессии.

Внутриклеточные MIC₅₀ значения для санфетринема, включая санфетринем циклексетил, и другие типичные β–лактамы (меропенем, фаропенем, тебипенем и эртапенем) представлены в таблице 2 ниже. Внутриклеточные MIC₉₀ значения для тех же соединений представлены в таблице 3. Как можно видеть, исходные данные указаны вместе со средним значением MIC₅₀ и средним значением MIC₉₀. Разница в два раза MIC значения считается в пределах погрешности. Каждое указанное значение, разделенное запятой, представляет отдельное значение MIC.

Таблица 2

Соединение	MIC ₅₀ мкМ (с clav)	MIC ₅₀ мкМ (без clav)	MIC ₅₀ мкМ (среднее с clav)	MIC ₅₀ мкМ (среднее без clav)
санфетринем (натриевая соль)	0,7, 2,06, 2,15	1,32, 1,64, 2	1,64	1,65
санфетринем циклексетил	0,3, 0,9	0,49, 1,2	0,6	0,85
фаропенем	1,0, 1,2	2,2, 1,5	1,1	1,85
меропенем	2,03, 1,85	8,97, 4,6	1,94	6,78
тебипенем	–	–	0,49	4,51
эртапенем	–	–	3,84	29,56

Таблица 3

Соединение	MIC ₉₀ мкМ (с clav)	MIC ₉₀ мкМ (без clav)	MIC ₉₀ мкМ (среднее с clav)	MIC ₉₀ мкМ (среднее без clav)
санфетринем (натриевая соль)	6,13, 6,8, 8,82	2,13, 6,9, 7,69	7,25	5,57
санфетринем циклексетил	4,6, 5,3	3,4, 7	5	5,2
фаропенем	6,8, 4,7	14,7, 10,0	5,75	12,35

меропенем	5,39, 5,71	19,62, 14,41	5,55	17,01
тебипенем	–	–	3,61	46,48
эртапенем	–	–	21,02	>50

ЭКСПЕРИМЕНТ IN VIVO

Для оценки *in vivo* противотуберкулезной активности санфетринема, использовали схему эксперимента, ранее описанную в *Antimicrob Agents Chemother.* 2015 Aug;59(8): 4997–9. Однако для мышей, нокаутированных по DHP–1, использовали другой фоновый штамм: фоновый 129sv вместо фонового C57Bl/6, описанного в статье.

Вкратце, были приобретены особые не содержащие патогенов самки мышей 129sv DHP–1 КО в возрасте 8–10 недель, которым давали акклиматизироваться в течение одной недели. Мышей интратрахеально инфицировали приблизительно 10e5 КОЕ/мышь (*M. tuberculosis* H37Rv). Соединения санфетринем натриевая соль (SNF), санфетринем циклексетил (SNFc), меропенем (MRP), и клавуланат (CLV)) вводили два раза в день с 9 по 14 день после заражения. MRP и SFN вводили подкожно. SFNc и CLV вводили перорально. Легкие собирали на 9 или 15 день. Все доли легкого асептически удаляли, гомогенизировали и замораживали. Гомогенаты размораживали и высевали в 10% OADC–7H11 среду+0,4% активированного угля в течение 18 дней при 37°C.

Количество КОЕ в легких у необработанных мышей составляло 7,4 в день 9 и 9,0 logKOE в день 15. КОЕ легкого для мышей, получивших лечение подкожным (п/к) SFN, пероральным (п/о) SFNc и MRP–CLV, составляло 7,3, 7,6 и 7,3, соответственно (см. Фиг.1). На фиг. 1 каждая точка представляет данные от одной мыши. Среднее количество КОЕ в легких показано над точками для каждой группы.

В этом анализе SFN и SFNc были одинаково эффективны по сравнению с MRP–CLV, причем все три препарата предотвращали рост бактерий.

Несмотря на то, что окончательное поражающее воздействие не наблюдалось, этот эксперимент свидетельствует о том, что и санфетринем и санфетринем циклексетил оказывают эффект *in vivo*.

Все исследования на животных были рассмотрены с этической точки зрения и проведены в соответствии с Европейской директивой 2010/63/EU и Политикой GSK по уходу, благополучию и лечению животных.

Вывод

Как видно из таблиц 1–3, санфетринем обладает антимикобактериальной активностью, особенно против *Mycobacterium tuberculosis*, как во внутриклеточных, так и внеклеточных анализах. Санфетринем и санфетринем циклексетил также обладают *in vivo* противотуберкулезной активностью.

IN VITRO АКТИВНОСТЬ САНФЕТРИНЕМА В ОТНОШЕНИИ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ *M. TUBERCULOSIS*

Санфетринем (натриевая соль) тестировали на панели лабораторных штаммов и клинических изолятов, включая как лекарственно–чувствительные, так и лекарственно–устойчивые штаммы. В приведенной ниже таблице 4 приводится подробное описание моделей устойчивости используемых штаммов.

Таблица 4

Название	Фон	Профиль резистентности
H37Rv	H37Rv	DS
dH37Rv H526D	H37Rv	RIF
clinical strain S531L	Клинический	RIF
2A	Клинический	INH
21	Клинический	INH
70	Клинический	INH
223	Клинический	INH
250	Клинический	INH
276	Клинический	INH
280	Клинический	INH
291	Клинический	INH
389R	Клинический	INH
Beijing 1137	Клинический	DS
52 S (car1)	Клинический	DS
215 (car3)	Клинический	DS
275 (car5)	Клинический	DS
2020 S (car6)	Клинический	DS
2166S (car8)	Клинический	DS
Clinical Moxi R 488	Клинический	MOX
Clinical Strep R	Клинический	STR
Line R	H37Rv	LZD
CDC 1551	CDC 1551	DS
Erdman	Erdman	DS

DS, лекарственно-чувствительные; RIF, рифампицин; INH, изониазид; MOX, моксифлоксацин; STR, стрептомицин; LZD, линезолид.

Бактериальный штаммы, общие условия роста и анализ чувствительности MGIT

Штаммы репродуцировали при 37°C в бульоне Миддлбука 7H9 (Difco), дополненном 10% Миддлбука альбумин-декстроза-каталазы (ADC) (Difco), 0,2% глицерина и 0,05% (об./об.). Анализы на чувствительность осуществляли с использованием системы MGIT 960 от Becton Dickinson (BD) Medical Technology с использованием пробирок BD BL MGIT, дополненных BD BL MGIT OADC. Вкратце, в 7 мл пробирки MGIT добавляли 0,8 мл добавки OADC, 0,1 мл санфетринема исходного раствора санфетринема DMSO и 0,1 мл клеток (конечный объем пробирок MGIT составлял 8 мл) до конечной плотности клеток в общей сложности 10^5 клеток на пробирку. Этот стандартный инокулят дает время-позитивность (TTP) от 4 до 5 дней. TTP определяли как время, необходимое для бактериальной культуры для достижения индекса роста (GI) MGIT выше 75.

Санфетринем анализировали при четырех различных концентрациях, то есть 0,5, 1,25, 5 и 20 мкМ. Для каждого изолята строгая отсечка MIC была определена как минимальная концентрация, способная ингибировать ($GI < 75$) рост бактерий в течение не менее 7 дней. Рифампицин, изониазид, моксифлоксацин, линезолид и стрептомицин также использовали в качестве внутреннего контроля активности против клинических изолятов.

Активность санфетринема тестировали на панели из двадцати трех штаммов *M. tuberculosis*, включая клинические изоляты с монорезистентными формами чувствительности. Оценивали четыре различные концентрации санфетринема (0,5, 1,25,

5 и 20 мкМ). Количество штаммов, имеющих одинаковые значения МІС, показано на фиг. 2. Наиболее распространенным значением МІС было 5 мкМ (15 из 23). Четыре штамма показали значения МІС ниже 5 мкМ, в то время как в случае еще четырех штаммов это значение было выше. Все штаммы были чувствительны к санфетринему

в тестируемом диапазоне концентраций.

ЭКСПЕРИМЕНТЫ ДЛЯ КОМБИНАЦИЙ

Дальнейшие эксперименты проводили с санфетринемом (натриевая соль) в комбинации с другими средствами, такими как амоксициллин (и клавулановая кислота), рифампицин, этамбутол и деламанид.

Материалы и методы – комбинация с амоксициллином и/или клавуланатом

Планшеты по типу шахматной доски

Эксперимент проводился в 96-луночных планшетах. Получали планшеты по типу шахматной доски санфетринема (натриевая соль) с амоксициллином. Амоксициллин разбавляли по абсциссе от 1 до 9 колонки (от 80 мкМ до 0,3 мкМ), а санфетринем разбавляли по ординате от строки А до G (от 5 мкМ до 0,08 мкМ).

Использовали серийные разведения 1:2, и полученный планшет с серийными разведениями включал комбинацию санфетринема и амоксициллина с самой высокой концентрацией амоксициллина в колонке 1 и самой высокой концентрацией санфетринема в строке А.

Для подтверждения их индивидуальных МІС колонка 10 содержала только один санфетринем, а в строке Н содержался только амоксициллин.

Инокулят с DMSO в качестве положительного контроля роста распределяли от А12 до D12, и инокулят плюс рифампицин (R3501_Sigma) при 1 мкг/мл в качестве контроля ингибирования распределяли от Е12 до Н12. С помощью этих контролей можно было установить значения Z' и сигнал для фона в качестве контроля качества планшето в анализе.

В колонке 11 моксифлоксацин распределяли в качестве контроля анализа от А11 (1 мкг/мл) до Н11 (0,008 мкг/мл), чтобы получить кривую доза–эффект.

Получали четыре идентичных планшета, и в два из них добавляли клавуланат калия (33454–100MG SIGMA) по типу шахматной доски при 4 мкг/мл. Эксперимент проводили с клавуланатом и без него.

Второй набор из четырех планшето в с той же схемой, но с меньшей концентрацией амоксициллина (от 5 мкМ до 0,02 мкМ в колонках 1–9) также получали для обеспечения изучения всех соответствующих концентраций лекарственного средства.

Инокулят

Используемый носитель представлял собой 7Н9–ADC–тилоксапол. 4,7 г основы бульона Миддлбука 7Н9 растворяли в 900 мл деионизированной воды. Затем добавляли 5 мл 10% мас./об. тилоксапола и 10% обогащения альбумин–декстроза–каталаза (ADC) (Becton Dickinson). Используемый штамм представлял собой *M. tuberculosis* H37Rv, и когда культура находилась в экспоненциальной фазе роста, культуру стандартизировали до приблизительно 1×10^7 КОЕ/мл (OD600=0,125). Затем культуру разбавляли 1:200 в 7Н9–ADC–тилоксапол и 200 мкл этого инокулята добавляли в каждую лунку при 5×10^4 КОЕ/мл. Планшеты инкубировали при 37°C в течение 6 дней.

Индикатор

Резазурин использовали в качестве индикатора. Одну таблетку резазурина (Ref R/0040/79_Fisher Scientific) растворяли в 30 мл PBS. Этот раствор стерилизовали фильтрацией (0,22 мкм). 25 мкл стерилизованного раствора добавляли в каждую лунку и планшеты инкубировали в течение 48 дополнительных часов при 37°C. После

инкубации определяли флуоресценцию на SpectraMax M5 (Molecular Devices). Настройки были: возбуждение 530 нм; эмиссия 590 нм (отсечка 570 нм).

Анализ данных

Каждый планшет для анализа включал набор отрицательных контролей с DMSO, который соответствовал 100% росту бактерий, и набор положительных контролей (1 мкг/мл рифампицина), в которых достигалось 100% ингибирование роста бактерий. Эти контроли использовали для мониторинга качества анализа посредством определения Z' , а также для нормализации данных (% роста) на основе каждого планшета.

Каждый набор измерений доза–эффект санфетринема (% роста vs. [sanf]) для разных случаев: в монотерапии и в комбинации с амоксицилином (в разных концентрациях) и/или клавулановой кислотой; был приспособлен к следующему уравнению типа Хилла с четырьмя параметрами (верхнее, нижнее, XC50 и угловой коэффициент Хилла):

$$\% \text{роста} = \text{нижнее} + (\text{верхнее} - \text{нижнее}) / (1 + 10^{((\text{LogXC50} - \text{Log}[\text{sanf}]) * \text{угловой коэффициент Хилла}))}$$

Метод подбора кривой нелинейной регрессии, доступный в программном обеспечении GraphPad Prism 6, использовали для вычисления параметров для каждого случая.

Обратите внимание, что в этом уравнении XC50 представляет концентрацию для достижения значения % роста в середине между нижним и верхним. Интересующим параметром является концентрация санфетринема для достижения 90% ингибирования (т.е. 10% роста), обозначенного здесь как IC90. Используя приведенное выше уравнение, этот параметр может быть вычислен непосредственно из оценочных параметров следующим образом:

$$\text{IC90} = \text{XC50} * ((10\% - \text{нижнее}) / (\text{верхнее} - 10\%))^{(1/\text{угловой коэффициент Хилла})}$$

Для характеристики амоксицилина в монотерапии, поскольку он не достигает 90% ингибирования, вместо этого вычисляли IC80. Этот параметр рассчитывали аналогично из оценочных параметров, полученных в результате нелинейного подбора соответствующих измерений доза–эффект: % роста vs. [amox].

Результаты

Данные представлены в таблице 5 и на фиг. 3 и 4.

Таблица 5

Соединения	IC90 (мкг/мл)
санфетринем	1,22
санфетринем+Clav	0,55
санфетринем+амоксициллин (5 мкг/мл)	0,91
санфетринем+амоксициллин (5 мкг/мл) + Clav	0,1
санфетринем+амоксициллин (10 мкг/мл)	0,33
санфетринем+амоксициллин (10 мкг/мл) + Clav	0,1

Следует отметить, что амоксициллин тестировался один и значение IC80 (в мкг/мл) составляло 42. Амоксициллин и клавуланат калия также тестировали в комбинации, и значение IC80 (в мкг/мл) составляло 3,9.

Индекс фракционной ингибирующей концентрации (FICI) (Synergy, antagonism, and what the checkerboard puts between them. Odds, F.C. 1, s.l., *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2003, Vol. 52), основанный на модели аддитивности Loewe (What is synergy? The Saariselkä agreement revisited. Tang J., Wennerberg K. and Aittokallio T. 181, s.l., *Frontiers in Pharmacology*, 2015, Vol. 6), для 90% ингибирования роста (обозначается FICI₉₀)

рассматривается здесь для оценки синергизма комбинаций в этом анализе внеклеточной активности *in vitro*. Считается, что $\text{FICI} \leq 0,5$ представляет синергию. Эта характеристика/количественная оценка синергизма является исследовательской и не объясняет

фактический механизм синергии или антагонизма (как отмечают Tang J., Wennerberg K. and Aittokallio T.).

Расчет $FICI_{90}$ включает IC_{90} только для санфетринем, 1,22 мкг/мл; в комбинации с клавуланатом, 0,55 мкг/мл; в комбинации с амоксициллином (при 10 мкг/мл), 0,33 мкг/мл; и в комбинации с амоксициллином (при 5 мкг/мл) + клавуланат, 0,1 мкг/мл.

Поскольку один клавуланат не является активным и ни один амоксициллин, ни в комбинации с клавуланатом не достигает 90% ингибирования роста (фиг. 7: доза–ответ амоксициллина), соответствующие дробные слагаемые при вычислении $FICI_{90}$ равны нулю:

□ санфетринем+клавуланат:

$$FICI_{90}=0,55/1,22=0,45$$

Это почти одно разбавление, поэтому не считается, что это представляет собой значительный синергизм.

□ санфетринем+Амоксициллин (10 мкг/мл):

$$FICI_{90}=0,33/1,22=0,27$$

Считается, что эта комбинация представляет собой синергизм.

□ санфетринем+Амоксициллин (5 мкг/мл) + клавуланат:

$$FICI_{90}=0,1/1,22=0,1$$

Считается, что эта комбинация представляет собой синергизм.

Материалы и методы – комбинации санфетринема (натриевая соль) с рифампицином (RIF), этамбутолом (EMB), деламанидом (DLD) и амоксициллином (AMX)

Бактериальный штамм и общие условия роста

Штамм *Mtb* H37Rv обычно репродуцировали при 37°C в бульоне Миддлбрука (Difco), дополненном 10% Миддлбрука альбумин–декстроза–каталазы (ADC)(Difco), 0,2% глицерина и 0,05% (об./об.).

Анализ лекарственной чувствительности

Исходные растворы соединений, использованных в этом исследовании, всегда готовили свежими в один и тот же день инокуляции планшета. Для использования в формате 384–луночного планшета соединения растворяли в DMSO и распределяли с использованием цифрового диспенсера HP D3000 Digital Dispenser и кассет HP T8 Dispenserhead (Ref No. CV081A) в двухкратных разведениях.

Минимальные ингибирующие концентрации (MIC) определяли в бульонной среде на основе 7H9. Это было дополнено 0,2% глицерина и 10% ADC без тилоксапола.

Микобактериальные клетки выращивали до $OD_{600}=0,5–0,8$ и запасы замораживали при -80°C . После оттаивания клетки разводили в среде для анализа до конечной концентрации 10^5 клеток/мл и распределяли по планшетам 50 мкл/лунку. МТТ [3–(4,5–диметилтиазол–2–ил)–2,5–дифенил тетразолийбромид] (Stock 5 мг/мл Acros Organics ref 15224654) и система анализа люциферазы Bactiter–Glo (Promega, Madison, WI) использовали в качестве индикаторов роста клеток для штамма *Mtb* H37Rv.

Люминесценцию измеряли в планшет–ридере Envision Multilabel Plate Reader (PerkinElmer), используя белый непрозрачный 384–луночный планшет (781075_Greiner), режим сверхчувствительной люминесценции, со временем измерения 50 мс на лунку для системы Bactiter–Glo и OD_{580} нм измеряли в ридере Spectramax M5 (Molecular Devices), используя черный прозрачный 384–луночный планшет (781091_Greiner) для считывания МТТ.

Планшеты инкубировали в течение 7 дней перед измерением продукции АТФ (в соответствии с указаниями производителя) или конверсии МТТ в формазан (25 мкл/лунка из запаса в день 6 и 25 мкл/лунка 10% SDS в день 7), соответственно. Самая

низкая концентрация лекарственного средства, которая ингибировала 90% конверсии МТТ или продукции АТФ, по сравнению с лунками внутреннего контроля без добавления лекарственного средства (контроль DMSO) использовали для определения значений МІС (IC₉₀).

Анализ планшета по типу шахматной доски

Активность лекарственного средства определяли в 384-луночном планшете с использованием анализа МТТ или АТФ, как описано выше. Фракционную ингибирующую концентрацию (FIC) для каждого соединения рассчитывали следующим образом: $FIC_A = (MIC \text{ соединения A в присутствии соединения B}) / (MIC \text{ соединения A отдельно})$.

Аналогичным образом рассчитывали FIC для соединения B. Индекс FIC (FICI) рассчитывали как: $FICI = [FIC_A + FIC_B]$. $FICI \leq 0,5$, как полагают, представляет синергизм

Получали планшеты по типу шахматной доски санфетринема (натриевая соль) с рифампицином. Рифампицин разбавляли вдоль абсциссы от 12 до 3 колонки (от 0,08 мкМ до 0,00015625 мкМ), в то время как санфетринем разбавляли по ординате от ряда А до G (от 12,8 мкМ до 0,4 мкМ).

Колонку 2 и строку H использовали для расчета индивидуальных показателей МІС (санфетрин и рифампицин, соответственно). Эквивалентные положения в квадранте 2, 3 и 4 использовали для этамбутола и деламанида и амоксициллина.

Деламанид разбавляли от 40 нМ до 0,078 нМ и этамбутол разбавляли от 32 мкМ до 0,06 мкМ. Амоксициллин разбавляли от 128 мкМ до 0,25 мкМ. Каждый из них распределяли в эквивалентных положениях в квадранте 2 и 3, соответственно.

Результаты

Данные представлены в таблице 6 и на фиг. 5–8. Все значения МІС в таблице 6 представлены в мкМ.

Таблица 6

Соед. А	Соед. В	MIC A	MIC B	MICsyn_A	MICsyn_B	Fold_A	Fold_B	FIC_A	FIC_B	FICI
SFT	RIF	3,2	0,04	0,4	0,005	8	8	0,125	0,125	0,25
SFT	EMB	1,6	8	0,4	2	4	4	0,25	0,25	0,5
SFT	DLD	1,6	0,01	0,4	0,0025	4	4	0,25	0,25	0,5
SFT	AMX	4	128	0,5	8	8	16	0,125	0,0625	0,1875

В таблице 6 используется следующая терминология.

Соед. – Соединение

MIC – Минимальная ингибирующая концентрация в мкМ

MICsyn – Синергическая МІС тестируемого соединения (либо А, либо В) в присутствии другого соединения (либо В, либо А, соответственно)

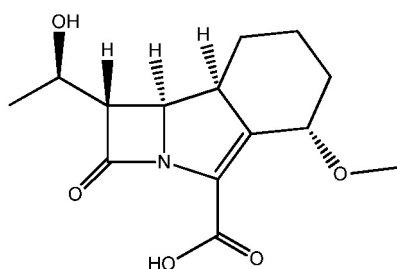
Fold – MIC/MICsyn

FIC – Фракционная ингибирующая концентрация. МІС А или В в присутствии В или А, соответственно/МІС А или В отдельно

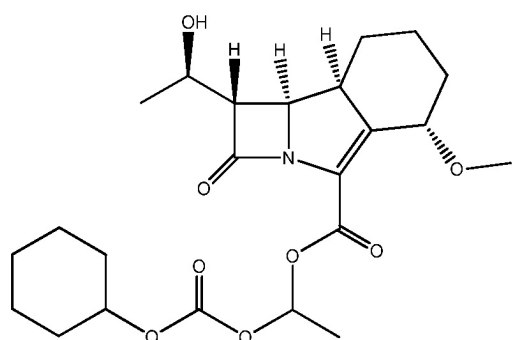
FICI – Индекс фракционной ингибирующей концентрации. $FIC_A + FIC_B$. Считается, что значение $\leq 0,5$ указывает на синергическое взаимодействие.

(57) Формула изобретения

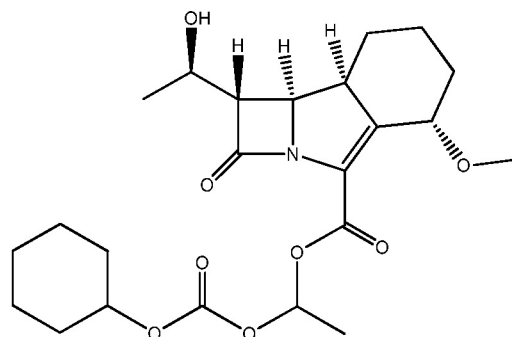
1. Применение соединения



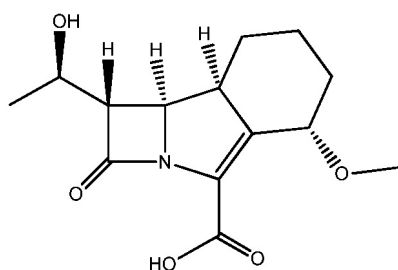
или его фармацевтически приемлемой соли или сложноэфирного пролекарства при изготовлении лекарственного средства для лечения туберкулеза, микобактериальной инфекции или заболевания, вызванного микобактериальной инфекцией, у пациента, где сложноэфирное пролекарство представляет собой:



2. Применение по п.1, где заболевание представляет собой туберкулез.
3. Применение по п.1, где микобактериальная инфекция представляет собой инфекцию *Mycobacterium tuberculosis*.
4. Применение по п.1, где применяют сложноэфирное пролекарство



5. Применение по п.1, где соединение

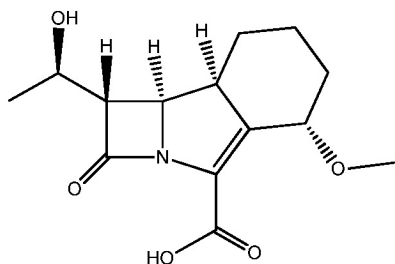


находится в форме его натриевой соли.

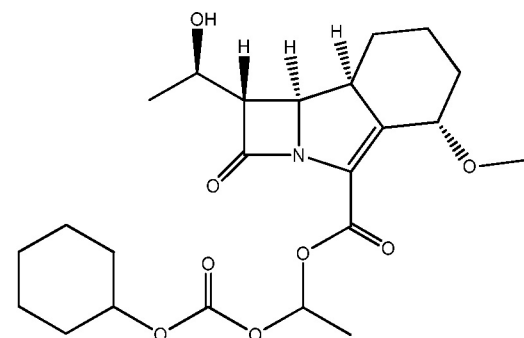
6. Применение по п.1, где пациент является человеком.
7. Применение по п.1, дополнительно включающее введение (b) ингибитора β -лактамазы.
8. Применение по п.7, где ингибитор β -лактамазы представляет собой клавуланат

или клавулановую кислоту.

9. Способ лечения туберкулеза, микобактериальной инфекции или заболевания, вызванного микобактериальной инфекцией, у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества



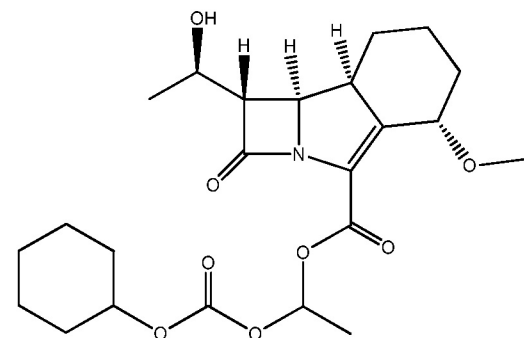
или его фармацевтически приемлемой соли или сложноэфирного пролекарства, где сложноэфирное пролекарство представляет собой



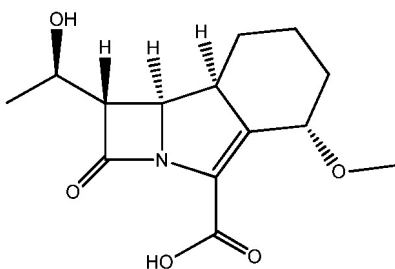
10. Способ по п.9, где заболевание представляет собой туберкулез.

11. Способ по п.9, где микобактериальная инфекция представляет собой инфекцию *Mycobacterium tuberculosis*.

12. Способ по любому из пп.9-11, который включает введение сложноэфирного пролекарства



13. Способ по любому из пп.9-11, где соединение



находится в форме его натриевой соли.

14. Способ по любому из пп.9-13, где пациент является человеком.

15. Способ по п.14, дополнительно включающий введение (b) ингибитора

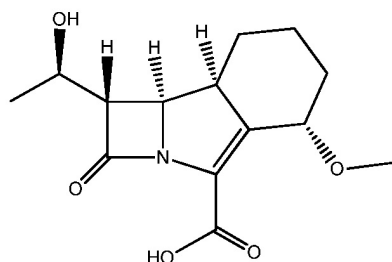
β -лактамазы.

16. Способ по п.15, где ингибитор β -лактамазы представляет собой клавуланат или клавулановую кислоту.

17. Применение комбинации (а) соединения формулы

5

10

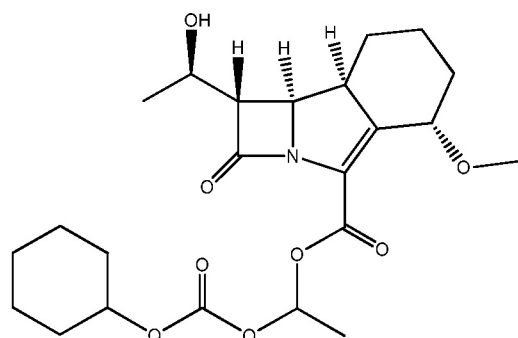


или его фармацевтически приемлемой соли или сложноэфирного пролекарства; и (b) дополнительного противотуберкулезного средства, при изготовлении лекарственного средства для введения при лечении микобактериальной инфекции, заболевания, вызванного микобактериальной инфекцией, или туберкулеза, где сложноэфирное пролекарство представляет собой

15

20

25



18. Применение по п.17, где дополнительное противотуберкулезное средство (b) выбрано из изониазида, рифампина, пиразинамида, этамбутола, моксифлоксацина, рифапентина, клофазимина, этионамида, протионамида, изоксила, тиацетазона, рифабутина, диарилхинолина, такого как бедаквилин (TMC207) или TBAJ-587, нитроимидазо-оксазина PA-824, деламанида (OPC-67683), оксазолидинона, такого как линезолид, тедизолид, радезолид, сутезолид (PNU-100480), посизолид (AZD-5847) или TBI-223, аналога EMB SQ109, OPC-167832, GSK3036656 (также известный как GSK070), GSK2556286, GSK3211830, бензотиазинона, такого как BTZ043 или PBTZ169, азаиндола, такого как TBA-7371, динитробензамида или бета-лактама, такого как меропенем, фаропенем, эртапенем, тебипенем или комбинаций бета-лактама, таких как аугментин (амоксциллин-клавуланат).

30

35

19. Применение по п.18, где дополнительное противотуберкулезное средство (b) представляет собой аугментин (амоксциллин-клавуланат).

40

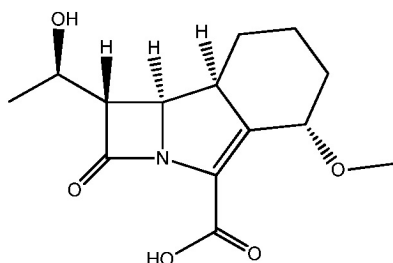
20. Применение по любому из пп.17-19, где комбинация дополнительно включает противовирусное средство, включая антиретровирусное средство.

21. Применение по п.20, где антиретровирусное средство выбрано из зидовудина, диданозина, ламивудина, залцитабина, абакавира, ставудина, адефовира, адефовир дипивоксила, фозивудина, тодоксила, эмтрицитабина, аловудина, амдоксовира, элвудитабина, невирапина, делавирдина, эфавиренца, ловирида, иммунокала, олтипразы, каправирин, лерсивирин, GSK2248761, TMC-278, TMC-125, этравирин, саквинавир, ритонавир, индинавир, нелфинавир, ампренавир, фосампренавир, бреканавир, дарунавир, атазанавир, типранавир, палинавир, лазинавир, энфувиртида, T-20,

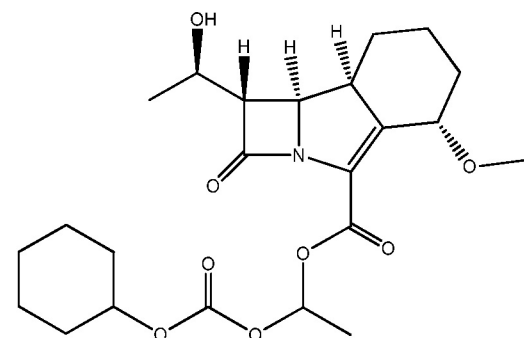
45

T-1249, PRO-542, PRO-140, TNX-355, BMS-806, BMS-663068 и BMS-626529, 5-Helix, ралтегравира, элвитегравира, GSK1349572, GSK1265744, викривирока (Sch-C), Sch-D, TAK779, маравирока, TAK449, диданозина, тенофовира, лопинавира или дарунавира.

22. Способ лечения туберкулеза, микобактериальной инфекции или заболевания, вызванного микобактериальной инфекцией, у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества комбинации (а)



или его фармацевтически приемлемой соли или сложноэфирного пролекарства и (b) дополнительного противотуберкулезного средства, где сложноэфирное пролекарство представляет собой



23. Способ по п.22, где дополнительное противотуберкулезное средство (b) выбрано из изониазида, рифампина, пиразинамида, этамбутола, моксифлоксацина, рифапентина, клофазимина, этионамида, протионамида, изоксила, тиацетазона, рифабутина, диарилхинолина, такого как бедаквиллин (TMC207) или TBAJ-587, нитроимидазо-оксазина PA-824, деламанида (OPC-67683), оксазолидинона, такого как линезолид, тедизолид, радезолид, сутезолид (PNU-100480), посизолид (AZD-5847) или TBI-223, аналога EMB SQ109, OPC-167832, GSK3036656 (также известный как GSK070), GSK2556286, GSK3211830, бензотиазинона, такого как BTZ043 или PBTZ169, азаиндола, такого как TBA-7371, динитробензамида или бета-лактама, такого как меропенем, фаропенем, эртапенем, тебипенем или комбинаций бета-лактама, таких как аугментин (амоксциллин-клавуланат).

24. Способ по п.22, где дополнительное противотуберкулезное средство (b) представляет собой аугментин (амоксциллин-клавуланат).

25. Способ по любому из пп.22-24, дополнительно включающее противовирусное средство, включая антиретровирусное средство.

26. Способ по п.25, где антиретровирусное средство выбрано из зидовудина, диданозина, ламивудина, залцитабина, абакавира, ставудина, адефовира, адефовир дипивоксила, фозивудина, тодоксила, эмтрицитабина, аловудина, амдоксовира, элвудитабина, невирапина, делавирдина, эфавиренца, ловирида, иммунокала, олтипразы, каправирина, лерсивирина, GSK2248761, TMC-278, TMC-125, этравирина, саквинавира, ритонавира, индинавира, нелфинавира, ампренавира, фосампренавира, брекканавира,

дарунавира, атазанавира, типранавира, палинавира, лазинавира, энфувиртида, T-20, T-1249, PRO-542, PRO-140, TNX-355, BMS-806, BMS-663068 и BMS-626529, 5-Helix, ралтегравира, элвитегравира, GSK1349572, GSK1265744, викривирока (Sch-C), Sch-D, TAK779, маравирока, TAK449, диданозина, тенофовира, лопинавира или дарунавира.

5

10

15

20

25

30

35

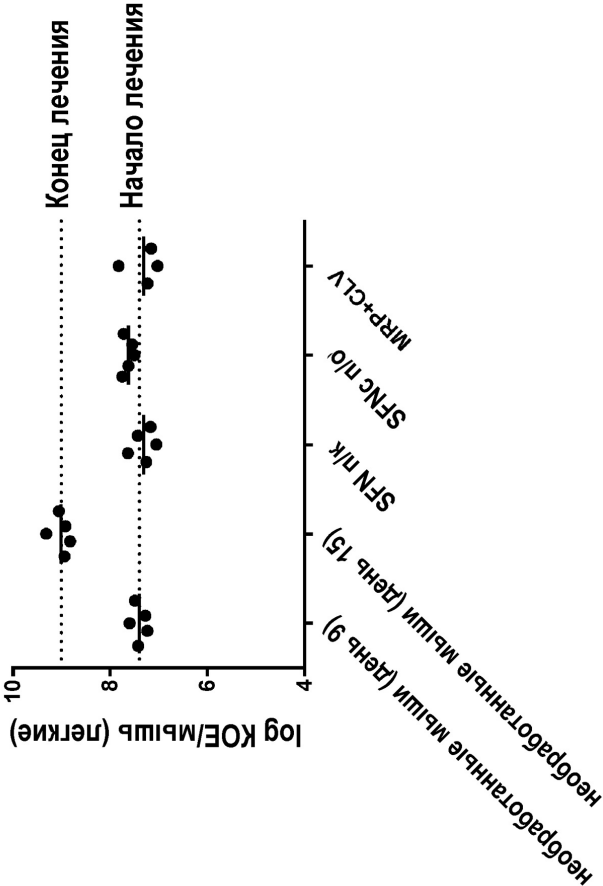
40

45

1

1/8

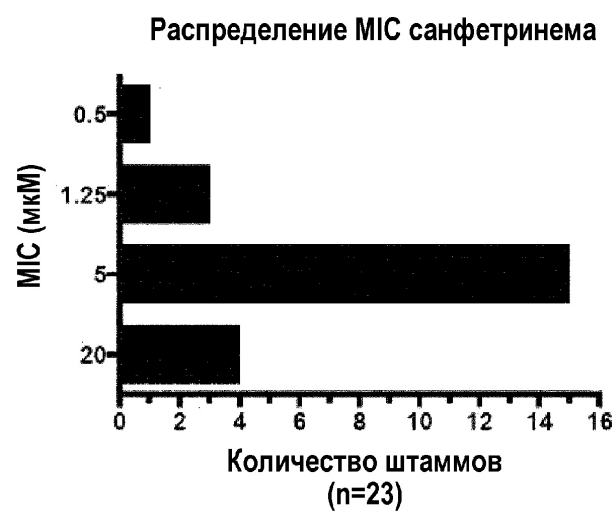
ФИГ.1



2

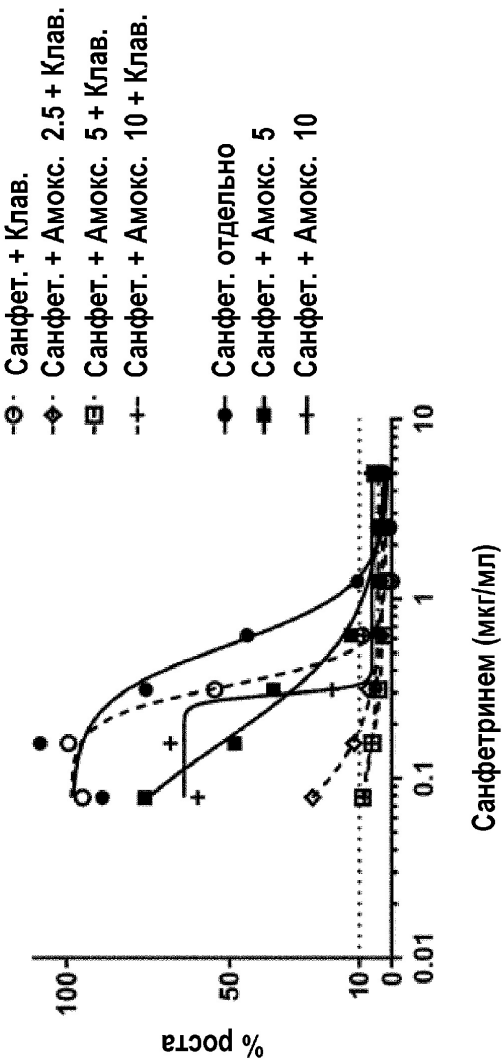
2/8

ФИГ.2



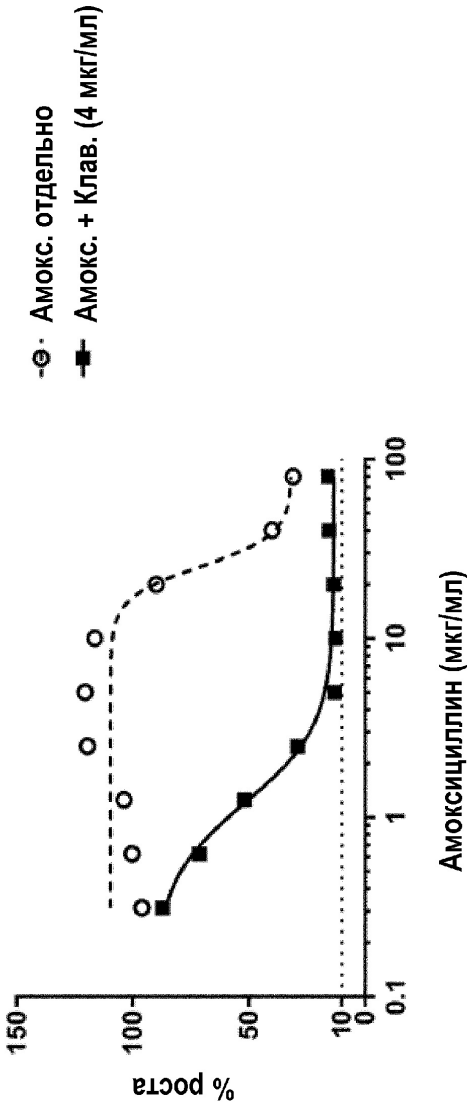
3/8

ФИГ.3



4/8

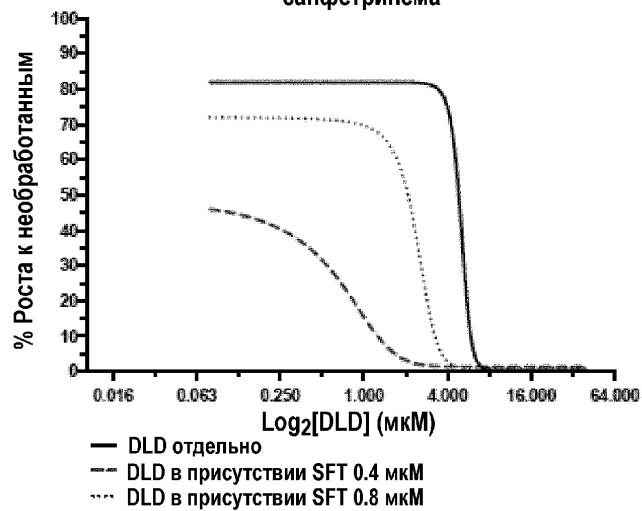
ФИГ.4



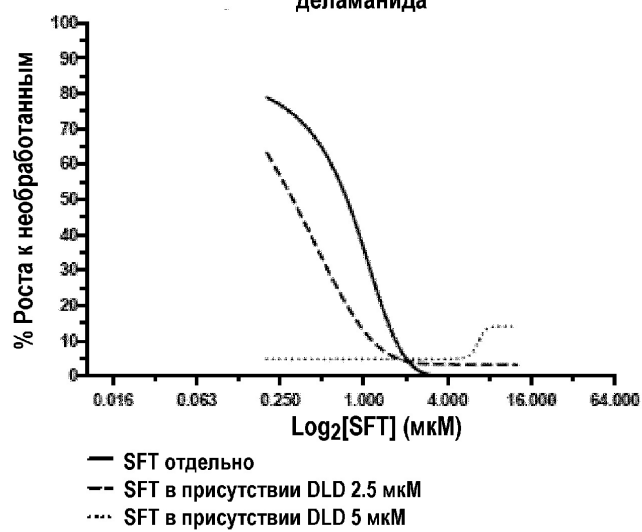
5/8

ФИГ.5

Деламанид в присутствии суб-MIC концентраций
санфетринема



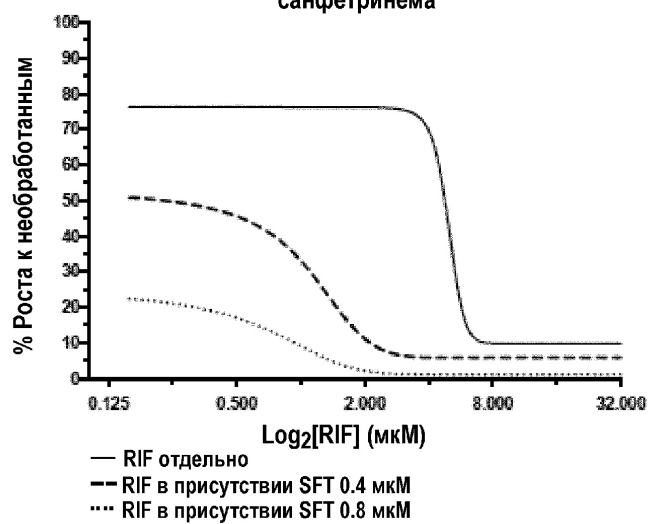
Санфетринем в присутствии суб-MIC концентраций
деламанида



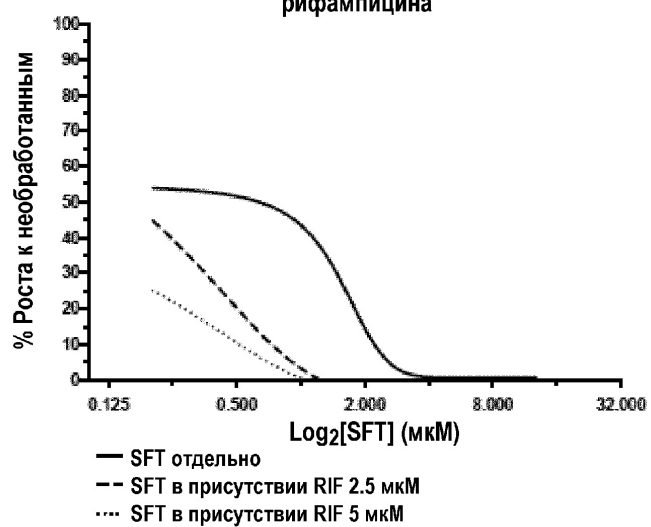
6/8

ФИГ.6

Рифампицин в присутствии суб-MIC концентраций санфетринема



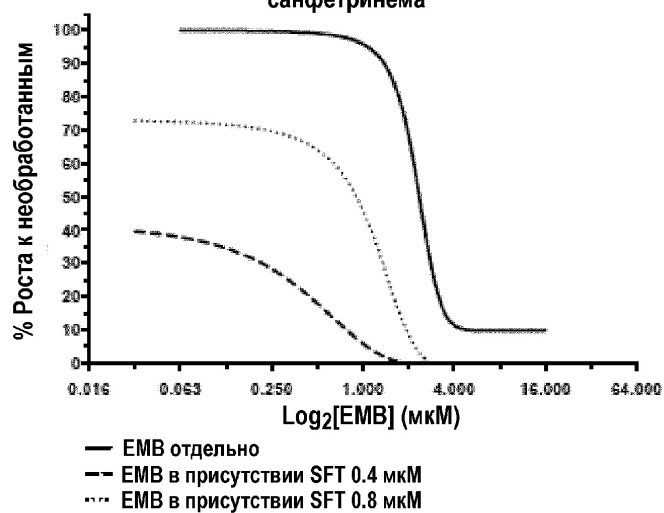
Санфетринем в присутствии суб-MIC концентраций рифампицина



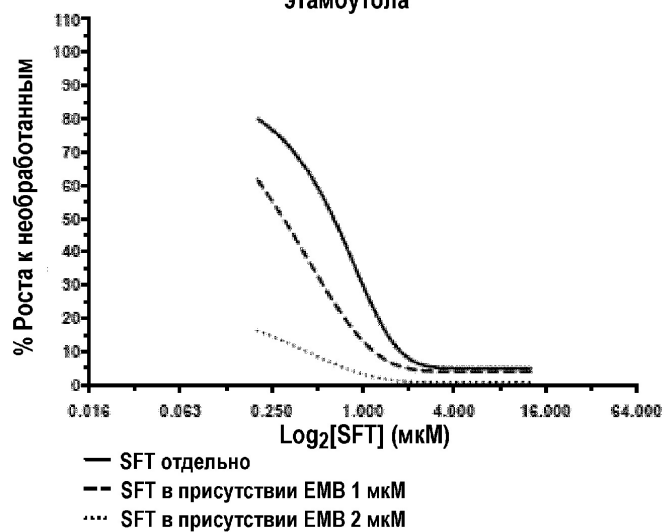
7/8

ФИГ.7

Этамбутол в присутствии суб-МІС концентраций
санфетринема



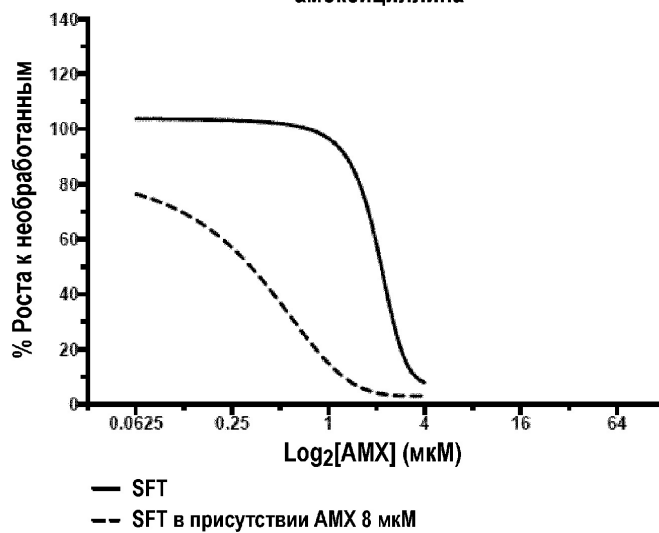
Санфетринем в присутствии суб-МІС концентраций
этамбутола



8/8

ФИГ.8

Санфетринем в присутствии суб-МИС концентраций
амоксициллина



Амоксициллин в присутствии суб-МИС концентраций
санфетринема

