

(12) МЕЖДУНАРОДНАЯ ЗАЯВКА, ОПУБЛИКОВАННАЯ В
СООТВЕТСТВИИ С ДОГОВОРом О ПАТЕНТНОЙ КООПЕРАЦИИ (РСТ)

(19) Всемирная Организация
Интеллектуальной Собственности
Международное бюро

(43) Дата международной публикации
14 февраля 2019 (14.02.2019)



(10) Номер международной публикации
WO 2019/031981 A1

(51) Международная патентная классификация:
C07D 285/32 (2006.01) *A61K 31/20* (2006.01)
A61K 31/5415 (2006.01) *A61P 1/16* (2006.01)

(21) Номер международной заявки: PCT/RU2018/000125

(22) Дата международной подачи:
02 марта 2018 (02.03.2018)

(25) Язык подачи: Русский

(26) Язык публикации: Русский

(30) Данные о приоритете:
2017128712 11 августа 2017 (11.08.2017) RU

(71) Заявители: **ИВАЩЕНКО, Алена Александровна**
(IVASHTCHENKO, Alena Alexandrovna) [US/US];
1835 East Hallandale Beach Blvd 442, Hallandale Beach,
Флорида, 33009, Hallandale Beach (US). **АЛЛА ХЕМ,
ЛЛС (ALLA CHEM, LLC)** [US/US]; 1835 East Халлан-
дале Беач Блвд 442, Халландале Беач, Флорида, 33009,
Hallandale Beach (US).

(72) Изобретатели; и

(71) Заявители: **ИВАЩЕНКО, Александр Васильевич**
(IVASHTCHENKO, Alexandre Vasilievich) [RU/RU];
Московское шоссе, 3, Долгопрудный, Московская
обл., 141700, Dolgoprudnyj (RU). **ИВАЩЕНКО,
Андрей Александрович (IVASHCHENKO, Andrey
Alexandrovich)** [RU/RU]; ул. Абрамцевская, 4/2-27,
Москва, 127576, Moscow (RU). **САВЧУК, Нико-
лай Филиппович (SAVCHUK, Nikolay Filippovich)**
[US/US]; 6300 Виа Дос Валлес, Ранчо Санта Фе, Кали-
форния, 92067, Rancho Santa Fe (US).

(72) Изобретатели: **РОГОВОЙ, Борис (ROGOVOJ,
Boris)**; 7160, Шорелине Драйв, Юнит 4308, Сан Диего,
Калифорния, 92122, San Diego (US). **БЫЧКО, Вадим
Васильевич (BYCHKO, Vadim Vasilievich)**; 11084 Ка-

минито Аллегра, Сан Диего, Калифорния, 92131, San
Diego (US). **ХВАТ, Александр (KHAVAT, Alexander)**;
12272 Мисти Блю Корт, Сан Диего, Калифорния, 92131,
San Diego (US).

(81) Указанные государства (если не указано иначе, для
каждого вида национальной охраны): AE, AG, AL, AM,
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ,
CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,
HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP,
KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME,
MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ,
OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA,
SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Указанные государства (если не указано иначе, для
каждого вида региональной охраны): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ,
UG, ZM, ZW), евразийский (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU,
TJ, TM), европейский патент (AL, AT, BE, BG, CH, CY,
CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT,
LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE,
SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN,
GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Декларации в соответствии с правилом 4.17:

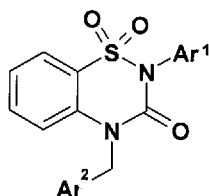
— об авторстве изобретения (правило 4.17 (iv))

Опубликована:

— с отчётом о международном поиске (статья 21.3)

(54) Title: HEPATITIS VIRUS ENTRY INHIBITOR AND PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR TREATING HEPATITIS

(54) Название изобретения: ИНГИБИТОР ВХОДА ВИРУСА ГЕПАТИТА И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ
ЛЕЧЕНИЯ ГЕПАТИТА



(57) Abstract: The present invention relates to novel hepatitis delta virus (HDV) entry inhibitors, to a novel pharmaceutical composition, and to a method for treating HDV infection and co-infection of HDV and hepatitis B virus (HBV). The present hepatitis delta virus entry inhibitor is 1,1-dioxo-1,4-dihydro-2H-benzo[1,2,4]thiadiazin-3-one of general formula 1, or a hydrate and/or solvate thereof, wherein Ar1 and Ar2 are optionally identical aryls, including phenyl, optionally substituted with one, two or three substituents selected from C1-C4 alkyl, methoxyl, halogen, carboxyl of optionally substituted carbamoyl and carbonitrile.

(57) Реферат: Данное изобретение относится к новым ингибиторам входа вируса гепатита дельта (ВГД), новой фармацевтической композиции и способу лечения инфекции ВГД и ко-инфекции ВГД и вируса гепатита В (ВГВ). Ингибитор входа вируса гепатита дельта, представляющий собой 1,1-диоксо-1,4-дигидро-2H-бензо[1,2,4]тиадазин-3-он общей формулы 1, его гидрат и/или сольват, где Ar1 и Ar2 представляют собой необязательно одинаковые арилы, в том числе фенил, необязательно замещенный одним, двумя или тремя заместителями, выбранными из C1-C4алкила, метоксила, галогена, карбоксила необязательно замещенного карбамоила и карбонитрила.

WO 2019/031981 A1

Ингибитор входа вируса гепатита и фармацевтическая композиция для лечения гепатита

Область техники

Данное изобретение относится к новым ингибиторам входа вируса гепатита дельта (ВГД), новой фармацевтической композиции и способу лечения инфекции ВГД и ко-инфекции ВГД и вируса гепатита В (ВГВ).

Предшествующий уровень техники

Вирус гепатита дельта уникален среди патогенов человека и животных тем, что имеет ряд общих свойств как с виридами растений, так и с виридоподобными сателлитными РНК растений. Этот небольшой содержащий РНК инфекционный агент является вирусом-сателлитом, поскольку для его размножения в клетках и развития инфекции необходимо, чтобы клетки были заражены ВГВ (он использует оболочечные белки ВГВ (S-антигены) для упаковки своего генома). Существует предположение, что ВГД развился из примитивной виридоподобной РНК, захватившей клеточный транскрипт. Этот патоген, переносимый кровью, размножается в печени и часто вызывает острый гепатит у млекопитающих.

ВГД передаётся через кровь и её производные. Существуют две основные модели развития инфекции ВГД. Коинфекция имеет место в том случае, когда организм заражается одновременно и ВГВ, и ВГД. О суперинфекции говорят тогда, когда организм сначала имел ВГВ, а потом заразился ВГД. Такие суперинфекции могут достигать наиболее сильной выраженности и имеют наибольшую вероятность перехода в хроническую форму. Пациенты, заражённые и ВГВ и ВГД, имеют намного большую вероятность развития терминальной стадии печёночной недостаточности, быстрого развития цирроза печени, а в случае хронических инфекций - увеличенную вероятность гепатоцеллюлярной карциномы.

Хотя ВГД обнаруживается исключительно в присутствии ВГВ, при заражении ВГВ далеко не всегда обнаруживается ВГД. В некоторых популяциях частота совместного развития ВГВ с ВГД особенно высока. В разных популяциях доля пациентов с ВГВ, страдающих также от ВГД, варьирует от менее чем 1 % до более 10 %. Наиболее высок процент таких пациентов в бассейне Амазонки, на территории юга бывшего СССР, в Средиземноморье и Африке южнее Сахары. В целом в развитых странах ВГД редок.

Процент инфицированных двумя вирусами одновременно (ко-инфицированными) может быть особенно высок среди определённых групп населения в пределах одной популяции, так, среди наркоманов, использующих нестерильные иглы, он может достигать более чем 70 %. Также в группу риска входят люди, принимающие концентраты факторов свёртывания крови. По всему миру ВГД заражены около 20 млн. человек.

В настоящий момент не существует направленной терапии конкретно против ВГД. Было показано, что в 20 % случаев применение высоких доз интерферона-α давало положительный результат, однако при прекращении приёма интерферона инфекция снова развивалась, следовательно, интерферон не приводит к излечению [<https://ru.wikipedia.org/>].

Против ВГД были опробованы методы противовирусной терапии, основанные на ингибиторах обратной транскриптазы ВГВ. Можно было бы предположить, что это приведёт к опосредованному подавлению размножения ВГД, однако в действительности такого не произошло [<https://ru.wikipedia.org/wiki>].

В настоящее время известен по-видимому только один ингибитор входа ВГД Мирклудекс В (Myrcludex В), представляющий собой синтетический липопептид, идентичный аминокислотной последовательности домена preS1 поверхностного антигена ВГВ (HBsAg-L). Это линейный, 47-аминокислотный, химически синтезированный полипептид, несущий N-концевую миристоильную часть и C-концевой карбоксамида. Мирклудекс В ингибирует распространение ВГД и ВГВ in vitro, на животных моделях и в клинических испытаниях [<http://myr-pharma.com/about/research-and-development/technology-and-mode-of-action>]. Мирклудекс В является ингибитором входа ВГД и ВГВ, блокирующим полипептид, осуществляющий сопряженный транспорт таурохолата натрия (NTCP, клеточный рецептор этих вирусов), таким образом ингибируя новое инфицирование клеток печени. (Sodium/Taurocholate Co-transporting Polypeptide - NTCP) [Schulze A, et al. *J. Virol.* 2010, 84(4), 1989-200. Slijepcevic D et al. *Hepatology* 2015, 62(1), 207-219.].

Мирклудекс В имеет наномолярную активность ($EC_{50} \sim 47$ нМ) ингибирования входа ВГВ in vitro за счет блокирования NTCP [file:///C:/Users/av/Downloads/viruses-09-00172-v3%20(1).pdf].

В октябре 2015 г. начались клинические испытания Мирклудекса В [F.A. Lempp, S. Urban. *Viruses* 2017, 9, 172, 1-19; <http://www.studfiles.ru/preview/6159594/> page:32], результаты которых до настоящего времени не опубликованы.

В настоящий момент не существует направленной терапии конкретно против инфекции ВГД и отсутствуют ингибиторы ВГД, представляющие собой малые молекулы. В этой связи поиск новых препаратов для лечения инфекции ВГД и ко-инфекции ВГД и ВГВ является актуальной задачей.

Ниже приведены определения терминов, которые использованы в описании этого изобретения.

Термин «алкил», используемый здесь, относится к насыщенным с линейной или разветвленной цепью углеводородным радикалам, содержащим от одного до шести атомов углерода. Примеры алкильных радикалов C_1 - C_6 , включают, но не ограничиваются ими, метил, этил, пропил, изопропил, н-бутил и трет-бутил.

«Арил» означает ароматическую моноциклическую или полициклическую систему, включающую от 6 до 14 атомов углерода, преимущественно от 6 до 10 атомов углерода. Арил может содержать один или более «заместителей циклической системы», которые могут быть одинаковыми или разными.

«Галоген» означает фтор, хлор, бром и йод. Предпочтительными являются фтор, хлор и бром.

«Гидрат» означает стехиометрическую или нестехиометрическую композицию соединения или его соли с водой.

«Карбокси группа» означает группу $-CO_2H$.

«Ко-инфекция» означает в вирусологии сочетанное заражение одной клетки различными видами вирусов.

«Лекарственное начало» (лекарственная субстанция лекарственное вещество, drug-substance) означает физиологически активное вещество синтетического или иного (биотехнологического, растительного, животного, микробного и прочего) происхождения, обладающее фармакологической активностью и являющееся активным началом фармацевтической композиции, используемой для производства и изготовления лекарственного препарата (средства).

«Лекарственное средство (препарат)» - вещество (или смесь веществ в виде фармацевтической композиции), в виде таблеток капсул инъекций, мазей и др. готовых форм предназначенное для восстановления, исправления или изменения физиологических

функций у человека и животных, а также для лечения и профилактики болезней, диагностики, анестезии, контрацепции, косметологии и прочего.

«Метокси группа» обозначает группу -O-CH₃.

«Фармацевтическая композиция» обозначает композицию, включающую в себя соединение формулы 1 и, по крайней мере, один из компонентов, выбранных из группы, состоящей из фармацевтически приемлемых и фармакологически совместимых наполнителей, растворителей, разбавителей, носителей, вспомогательных, распределяющих и воспринимающих средств, средств доставки, таких как консерванты, стабилизаторы, наполнители, измельчители, увлажнители, эмульгаторы, суспендирующие агенты, загустители, подсластители, отдушки, ароматизаторы, антибактериальные агенты, фунгициды, лубриканты, регуляторы пролонгированной доставки, выбор и соотношение которых зависит от природы и способа назначения и дозировки. Примерами суспендирующих агентов являются этоксилированный изостеариловый спирт, полиоксиэтилен, сорбитол и сорбитовый эфир, микрокристаллическая целлюлоза, метагидроксид алюминия, бентонит, агар-агар и трагакант, а также смеси этих веществ. Защита от действия микроорганизмов может быть обеспечена с помощью разнообразных антибактериальных и противогрибковых агентов, например, таких как, парабены, хлорбутанол, сорбиновая кислота и подобные им соединения. Композиция может включать также изотонические агенты, например, сахара, хлористый натрий и им подобные. Пролонгированное действие композиции может быть обеспечено с помощью агентов, замедляющих абсорбцию активного начала, например, моностеарат алюминия и желатин. Примерами подходящих носителей, растворителей, разбавителей и средств доставки являются вода, этанол, полиспирты, а также их смеси, растительные масла (такие, как оливковое масло) и инъекционные органические сложные эфиры (такие, как этилолеат). Примерами наполнителей являются лактоза, молочный сахар, цитрат натрия, карбонат кальция, фосфат кальция и им подобные. Примерами измельчителей и распределяющих средств являются крахмал, алгиновая кислота и ее соли, силикаты. Примерами лубрикантов являются стеарат магния, лаурилсульфат натрия, тальк, а также полиэтиленгликоль с высоким молекулярным весом. Фармацевтическая композиция для перорального, сублингвального, трансдермального, внутримышечного, внутривенного, подкожного, местного или ректального введения активного начала, одного или в комбинации с другим

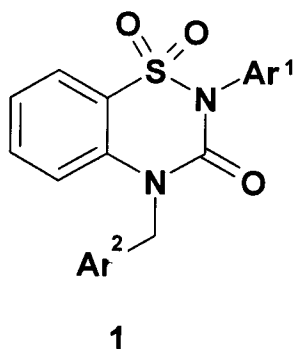
активным началом, может быть введена животным и людям в стандартной форме введения, в виде смеси с традиционными фармацевтическими носителями. Пригодные стандартные формы введения включают пероральные формы, такие как таблетки, желатиновые капсулы, пилюли, порошки, гранулы, жевательные резинки и пероральные растворы или суспензии, сублингвальные и трансбуккальные формы введения, аэрозоли, имплантаты, местные, трансдермальные, подкожные, внутримышечные, внутривенные, интраназальные или внутриглазные формы введения и ректальные формы введения.

«Фармацевтически приемлемая соль» означает относительно нетоксичные органические и неорганические соли кислот и оснований, заявленных в настоящем изобретении. Эти соли могут быть получены *in situ* в процессе синтеза, выделения или очистки соединений или приготовлены специально. В частности, соли оснований могут быть получены специально, исходя из очищенного свободного основания заявленного соединения и подходящей органической или неорганической кислоты. Примерами полученных таким образом солей являются гидрохлориды, гидробромиды, сульфаты, бисульфаты, фосфаты, нитраты, ацетаты, оксалаты, валериаты, олеаты, пальмитаты, стеараты, лаураты, бораты, бензоаты, лактаты, тозилаты, цитраты, малеаты, фумараты, сукцинаты, тартраты, мезилаты, малонаты, салицилаты, пропионаты, этансульфонаты, бензолсульфонаты, сульфаматы и им подобные (Подробное описание свойств таких солей дано в Berge S.M., et al., "Pharmaceutical Salts" J. Pharm. Sci. 1977, 66: 1-19). Соли заявленных кислот также могут быть специально получены реакцией очищенной кислоты с подходящим основанием, при этом могут быть синтезированы соли металлов и аминов. К металлическим относятся соли натрия, калия, кальция, бария, цинка, магния, лития и алюминия, наиболее желательными из которых являются соли натрия и калия. Подходящими неорганическими основаниями, из которых могут быть получены соли металлов, являются гидроксид, карбонат, бикарбонат и гидрид натрия, гидроксид и бикарбонат калия, поташ, гидроксид лития, гидроксид кальция, гидроксид магния, гидроксид цинка. В качестве органических оснований, из которых могут быть получены соли заявленных кислот, выбраны амины и аминокислоты, обладающие достаточной основностью, чтобы образовать устойчивую соль, и пригодные для использования в медицинских целях (в частности, они должны обладать низкой токсичностью). К таким аминам относятся аммиак, метиламин, диметиламин, триметиламин, этиламин,

диэтиламин, триэтиламин, бензиламин, дибензиламин, дициклогексиламин, пиперазин, этилпиперидин, трис(гидроксиметил)аминометан и подобные им. Кроме того, для солеобразования могут быть использованы гидроокиси тетраалкиламмония, например, такие как, холин, тетраметиламмоний, тетраэтиламмоний и им подобные. В качестве аминокислот могут быть использованы основные аминокислоты – лизин, орнитин и аргинин.

Раскрытие изобретения

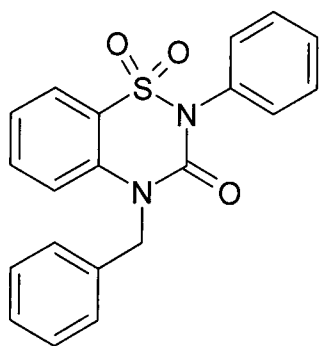
Предметом данного изобретения является новый ингибитор входа вируса гепатита дельта, представляющий собой 1,1-диоксо-1,4-дигидро-2Н-бензо[1,2,4]тиадиазин-3-оны общей формулы 1, его гидрат и/или сольват,



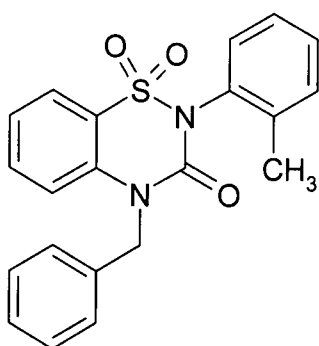
где Ar¹ и Ar² представляют собой необязательно одинаковые арилы, в том числе фенил, необязательно замещенный одним, двумя или тремя заместителями, выбранными из C₁-C₄алкила, метоксила, галогена, карбоксила необязательно замещенного карбамоила и карбонитрила.

Соединения общей формулы 1, как неожиданно установили авторы, являются эффективными ингибиторами входа ВГД. Соединения общей формулы 1 блокируют NTCP рецептор гепатоцита, важный для развития инфекционного вируса гепатита дельта, таким образом, ингибируя новое инфицирование клеток печени.

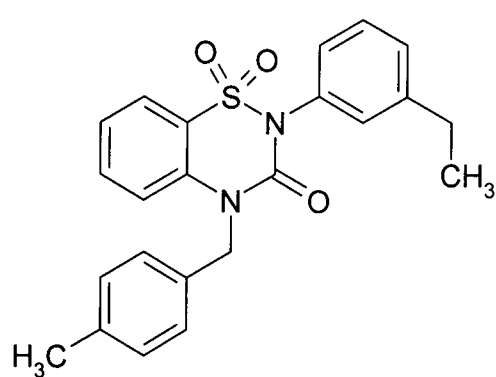
Согласно данному изобретению предпочтительным ингибитором входа ВГД общей формулы 1 является 1,1-диоксо-1,4-дигидро-2Н-бензо[1,2,4]тиадиазин-3-он, выбранный из ряда соединений 1.1-1.16 и их гидратов и/или сольватов.



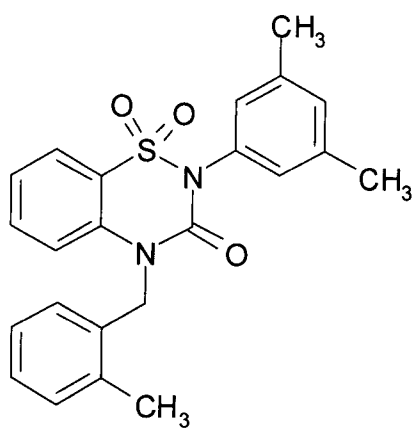
1.1



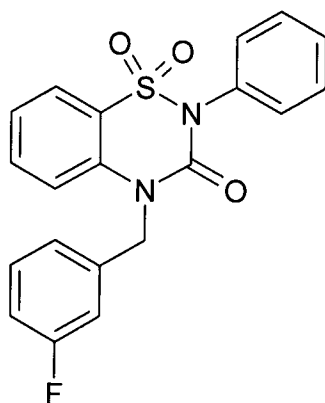
1.2



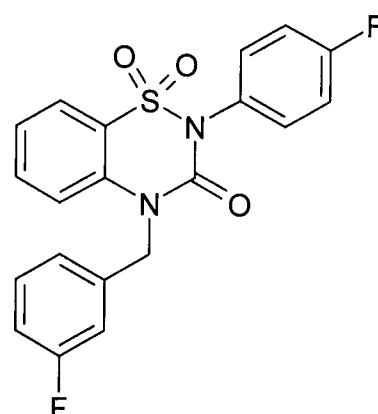
1.3



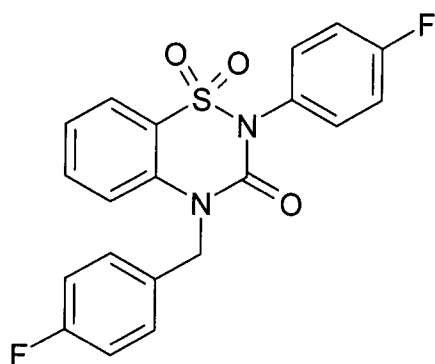
1.4



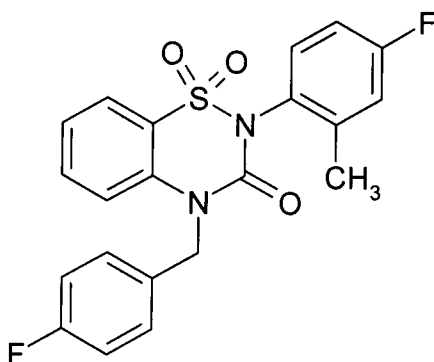
1.5



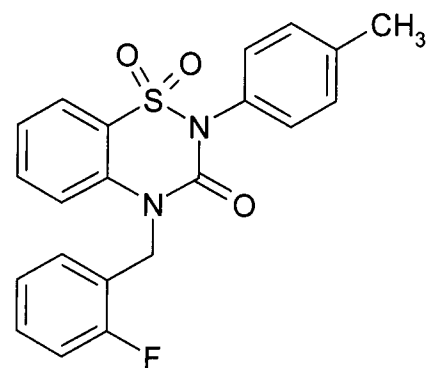
1.6



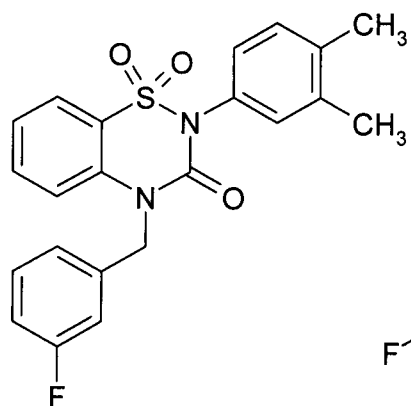
1.7



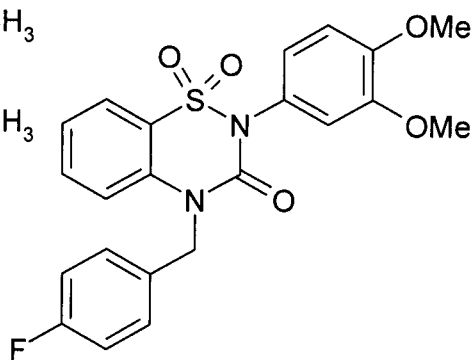
1.8



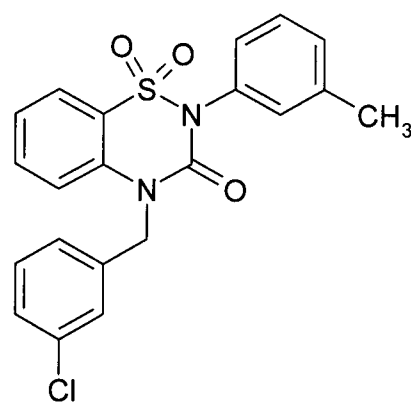
1.9



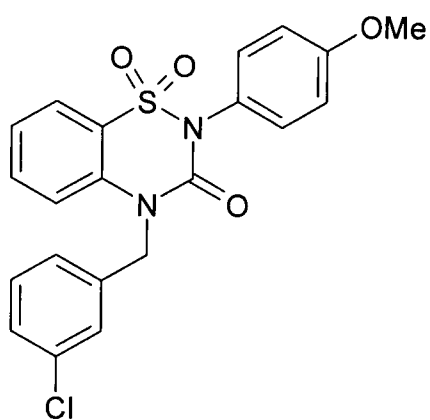
1.10



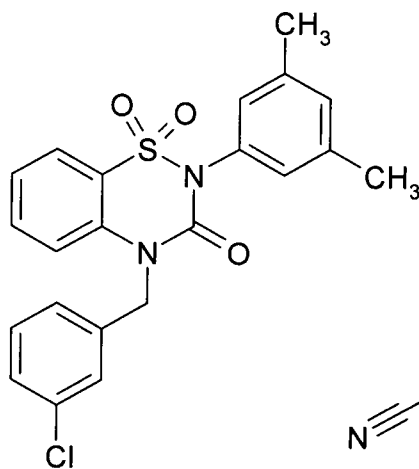
1.11



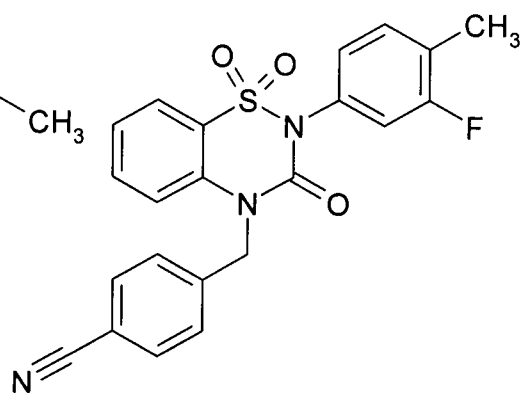
1.12



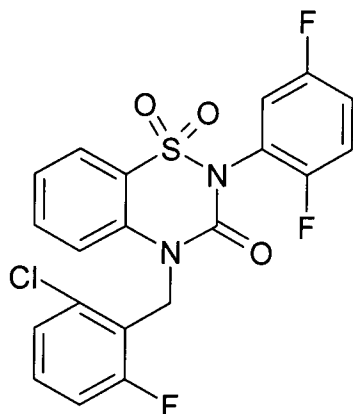
1.13



1.14



1.15



1.16

Соединения общей формулы 1 являются коммерчески доступными соединениями [база данных SciFinder® от Chemical Abstracts Service]. Соединения 1.1-1.6 и 1.8-1.16 известны также, как ингибиторы репликации ВГВ [Патент RU 2574387 (2016)].

Соединения общей формулы 1, их гидраты и/или сольваты являются активными ингибиторами входа ВГД, блокирующими NTCP рецептор гепатоцита. Ингибирующую активность соединений общей формулы 1 (ингибирование секреции антигена HDag в культуре клеток HepG2/NTCP, зараженных ВГД) определяли методом ELISA по протоколу, описанному ниже в Примере 1, а их цитотоксичность определяли по протоколу, описанному ниже в Примере 2. В сопоставимых условиях методом ELISA определяли ингибирование входа ВГВ соединениями общей формулы 1 (ингибирование секреции антигена HBeAg) в культуре клеток HepG2/NTCP, зараженных ВГВ). Например, активность ингибирования секреции антигена HDag соединением формулы 1.7 соответствует значению $EC_{50} = 64$ нМ, а соединением формулы 1.14 - $EC_{50} = 38$ нМ. Авторы установили, что соединения формул 1.7 и 1.14 также являются и активными ингибиторами входа ВГВ и имеют активность ингибирования секреции антигена HBeAg соединением формулы 1.7 соответствует значению $EC_{50} = 61$ нМ, а соединением формулы 1.14 - $EC_{50} = 37$ нМ.

Согласно данному изобретению новый ингибитор входа ВГД общей формулы 1, его гидрат и/или сольват представляет собой лекарственное начало для приготовления фармацевтической композиции и готовой лекарственной формы для профилактики и

лечения инфекции ВГД и ко-инфекции ВГД и ВГВ и необязательно гепатита С (ВГС) и вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) у теплокровных животных и людей.

Предметом данного изобретения является фармацевтическая композиция в форме таблеток, капсул или инъекций, помещенных в фармацевтически приемлемую упаковку, для лечения инфекции ВГД или ко-инфекции ВГД и ВГВ и ВГС и ВИЧ у людей и теплокровных животных, включающая в свой состав ингибитор входа ВГД общей формулы 1, его гидрат и/или сольват в терапевтически эффективном количестве и необязательно фармацевтически приемлемые эксципиенты. Под фармацевтически приемлемыми эксципиентами подразумеваются применяемые в сфере фармацевтики разбавители, вспомогательные агенты и/или носители. Фармацевтическая композиция наряду с ингибитором общей формулы 1 или его гидратом и/или сольватом по настоящему изобретению может включать и другие активные субстанции, при условии, что они не вызывают нежелательных эффектов.

При необходимости использования фармацевтической композиции по настоящему изобретению в клинической практике она может смешиваться с традиционными фармацевтическими носителями.

Носители, используемые в фармацевтических композициях по настоящему изобретению, представляют собой носители, которые применяются в сфере фармацевтики для получения распространенных форм, в том числе: в пероральных формах используются связующие вещества, смазывающие агенты, дезинтеграторы, растворители, разбавители, стабилизаторы, суспендирующие агенты, бесцветные агенты, корригенты вкуса; в формах для инъекций используются антисептические агенты, солюбилизаторы, стабилизаторы; в местных формах используются основы, разбавители, смазывающие агенты, антисептические агенты.

Предметом данного изобретения является способ получения фармацевтической композиции смешением с инертным наполнителем и/или растворителем, по крайней мере, одного ингибитора входа ВГД общей формулы 1 или его гидрата и/или сольвата в терапевтически эффективном количестве.

Предметом данного изобретения являются также терапевтические коктейли для лечения инфекции ВГД и ко-инфекции ВГД и ВГВ и необязательно ВГС и ВИЧ, включающие в качестве одного из компонентов новое лекарственное средство общей формулы 1, его гидрат и/или сольват или новую фармацевтическую композицию,

содержащих в качестве активного компонента, по крайней мере, один ингибитор входа ВГД общей формулы 1 или его гидрат и/или сольват.

Терапевтический коктейль для лечения инфекции ВГД или ко-инфекции ВГД и ВГВ и необязательно ВГС и ВИЧ, наряду с фармацевтической композицией по данному изобретению, может включать другие известные препараты, предназначенные для лечения ВГВ, ВГС, ВИЧ или препараты, усиливающие иммунную систему пациента.

В соответствии с данным изобретением способ профилактики и лечения инфекции ВГД или ко-инфекции ВГД и ВГВ и необязательно ВГС и ВИЧ у животных и людей заключается во введении пациенту новой фармацевтической композиции по данному изобретению или нового терапевтического коктейля по данному изобретению.

Лекарственные средства могут вводиться через ингалятор, перорально или парентерально (например, внутривенно, подкожно, внутривенно или местно). Клиническая дозировка средства общей формулы 1 или его гидрата и/или сольвата у пациентов может корректироваться в зависимости от терапевтической эффективности и биодоступности активных ингредиентов в организме, скорости их обмена и выведения из организма, а также в зависимости от возраста, пола и стадии заболевания пациента, при этом суточная доза у взрослых обычно составляет 10 ~ 500 мг. Поэтому во время приготовления из фармацевтической композиции ингибитора по настоящему изобретению в виде единиц дозировки необходимо учитывать вышеназванную эффективную дозировку, при этом каждая единица дозировки препарата должна содержать 10 ~ 500 мг ингибитора общей формулы 1 или его гидрат и/или сольват. В соответствии с указаниями врача или фармацевта данные препараты могут приниматься несколько раз в течение определенных промежутков времени.

Предметом данного изобретения является также способ ингибирования активности ВГД в естественных условиях, включающий стадию контактирования ингибитора общей формулы 1, его фармацевтически приемлемой соли, гидрата и/или сольвата и NTCP рецептора гепатоцита.

Авторы обнаружили также, что соединение 1.7 его гидрат и/или сольват является ингибитором входа вируса гепатита В. Это также является предметом данного изобретения.

Лучший вариант осуществления изобретения

Данное изобретение иллюстрируется, но не ограничивается следующими примерами.

Пример 1. Определение противовирусной активности фармацевтической композиции, содержащей в качестве активной субстанции один из ингибиторов входа ВГВ общей формулы 1, в отношении ВГД в культуре клеток человеческой гепатомы (HepG2/NTCP), зараженной ВГД *in vitro*.

Для определения активности ингибиторов использовался иммунный *in vitro* тест ELISA на антиген ВГД (HDAg). С помощью этого теста измерялась эффективность ингибирования тестируемыми соединениями продукции антигена (и, следовательно, входа ВГД) в клетках, инфицированных ВГД. Используемая в данном эксперименте культура клеток HepG2/NTCP способна быть эффективно инфицирована ВГД и, следовательно, пригодна для изучения ингибиторов входа ВГД.

Клетки HepG2/NTCP были высеяны в 96-луночные платы ($3,0 \times 10^3$ клеток на лунку) в среде DMEM (50 мкл на каждую лунку). Для каждого тестируемого соединения приготовили 6 растворов в среде DMEM в диапазоне концентраций 0,2-60 мкМ. Спустя 4 часа после высевания клеток, исходный раствор был удален при помощи аспирации, после чего к каждой лунке добавили 50 мкл раствора тестируемого соединения, а также 50 мкл препарата ВГД. Таким образом, финальные концентрации тестируемых соединений были в диапазоне 0,1-30 мкМ. После инкубации в течение 24 часов, вирусная среда была удалена при помощи аспирации, и к культурам были добавлены тестируемые соединения в исходных концентрациях до конечного объема 200 мкл. Клетки и тестируемые соединения инкубировали дополнительно в течение 7 дней при 37 °C в увлажненной атмосфере воздуха, содержащей 5% углекислого газа (CO₂). Культуральные супернатанты исследовали на содержание HDAg при помощи коммерческого диагностического набора HDV-Ag Microwell ELISA (Diagnostic Automation Inc.), в соответствии с рекомендациями производителя. Кратко, от 10 до 50 мкл супернатантов вносили в 96-луночные планшеты с адсорбированными антителами к HDAg, добавляли второе анти- HDAg антитело, меченное пероксидазой хрена, и инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре. Промывали каждую лунку троекратно раствором PBS, затем обрабатывали 100 мкл/лун раствора OPD (приготовлен растворением 1 таблетки OPD в 12 мл цитрат-фосфатного

буфера с добавлением 5 мкл 30% H_2O_2) в течение 30 минут в темноте при комнатной температуре. Реакцию останавливали добавлением к каждой лунке 100 мкл 2N H_2SO_4 , после чего измеряли поглощение при длине волны 490 нм. Величину EC_{50} , представляющую собой концентрацию тестируемого соединения, при котором репликация вируса понижается вдвое, определяли для каждого тестируемого соединения при помощи программы Xlfit.

Например, активность ингибирования секреции антигена HDAg соединением формулы 1.7 соответствует значению $\text{EC}_{50} = 64$ нМ, а соединением формулы 1.14 - $\text{EC}_{50} = 38$ нМ.

Полученные результаты свидетельствуют о наномолярной противовирусной активности ингибиторов входа ВГД соединений (1.1 -1.16) общей формулы 1 в отношении ВГД *in vitro*.

Пример 2. Определение цитотоксичности ингибиторов общей формулы 1.

Для определения цитотоксичности субстанций клетки HepG2/NTCP высевались в черной микроплате с прозрачным дном (96 ячеек, $3,0 \times 10^3$ клеток на лунку). Для каждого ингибитора использовали три независимых повтора. Тестируемые ингибиторы добавляли через 18 часов, после чего клетки инкубировали с веществами в течение 7 дней. Промывали дважды каждую лунку фосфатно-солевым буфером PBS (0,2 мл/лун) и затем лизировали клетки добавлением клеточного буфера (50 мкл/лун) (все указанные реактивы входят в комплект набора ATPLite, Perkin-Elmer, USA). Микроплату инкубировали в течение 5 минут на вращающейся платформе при 600 об/мин, после чего добавляли в каждую лунку 50 мкл раствора субстрата (часть набора ATPLite). Инкубировали еще 5 минут на вращающейся платформе при 600 об/мин, выдерживали 10 минут в темноте, и затем измеряли люминесценцию на приборе TopCount NXT (Packard, Perkin Elmer). Величину CC_{50} , представляющую из себя концентрацию тестируемого соединения, при котором жизнеспособность клеток понижается вдвое, определяли для каждого тестируемого ингибитора общей формулы 1 при помощи программы Xlfit. Полученные результаты свидетельствуют о низкой цитотоксичности ингибиторов ($\text{CC}_{50} > 30$ μM) общей формулы 1.

Пример 3. Получение лекарственного средства в форме таблеток. Смешивают 1600 мг крахмала, 1600 мг измельченной лактозы, 400 мг талька и 1000 мг ингибитора формулы 1.7 или формулы 1.13 и спрессовывают в брусок. Полученный брусок измельчают в гранулы и просеивают через сита, собирая гранулы размером 14-16 меш. Полученные гранулы таблетуют в подходящую форму таблетки весом 560 мг каждая.

Пример 4. Получение лекарственного средства в форме капсул. Тщательно смешивают ингибитор формулы **1.7** или формулы **1.13** с порошком лактозы в соотношении 2 : 1. Полученную порошкообразную смесь упаковывают по 600 мг в желатиновые капсулы подходящего размера.

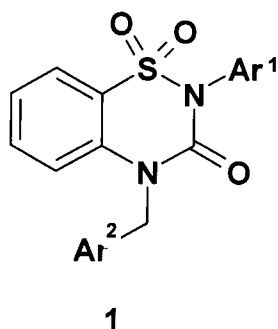
Пример 5. Получение лекарственного средства в форме инъекционных композиций для внутримышечных, внутривенных или подкожных инъекций. Смешивают 500 мг ингибитора формулы **1.7** или формулы **1.13** с 300 мг хлорбутанола, 2 мл пропиленгликоля и 100 мл инъекционной воды. Полученный раствор фильтруют и помещают по 1 мл в ампулы, которые запаивают.

Промышленная применимость

Изобретение может быть использовано в медицине и ветеринарии.

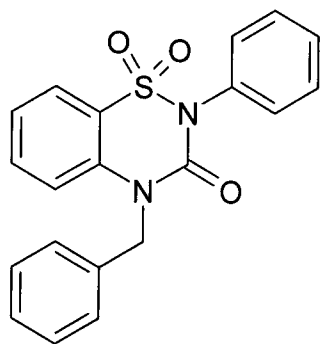
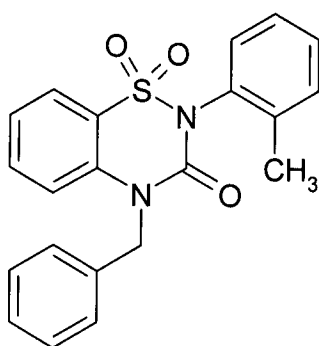
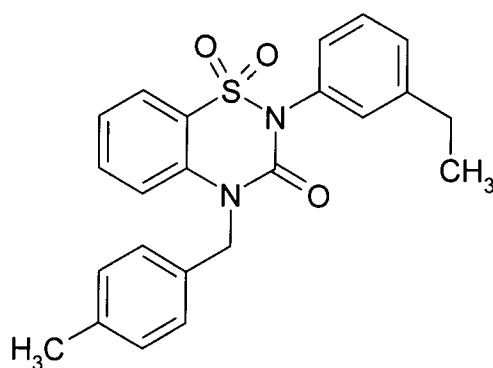
Формула изобретения

1. Ингибитор входа вируса гепатита дельта, представляющий собой 1,1-диоксо-1,4-дигидро-2Н-бензо[1,2,4]тиадиазин-3-он общей формулы **1**, его гидрат и/или сольват,

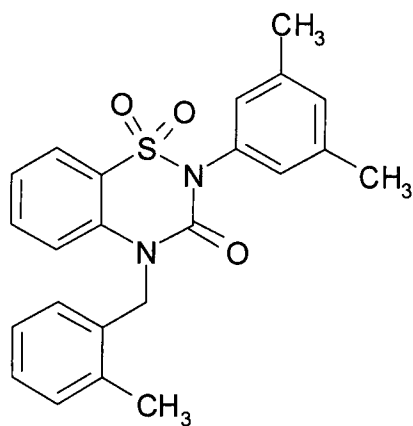
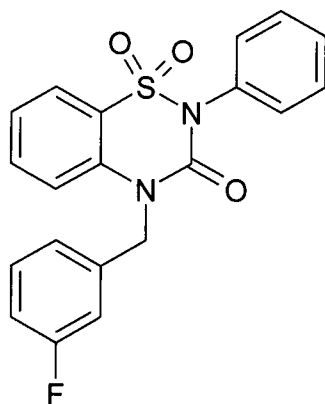
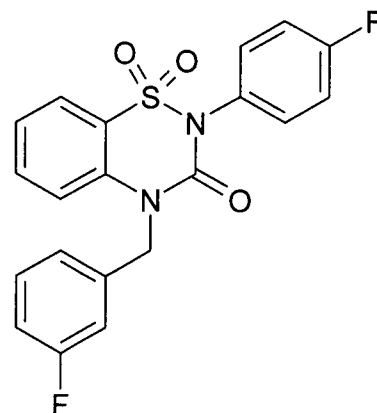
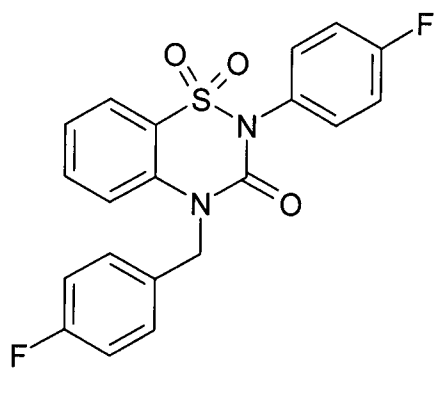
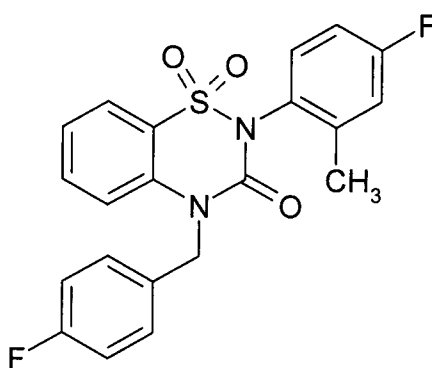
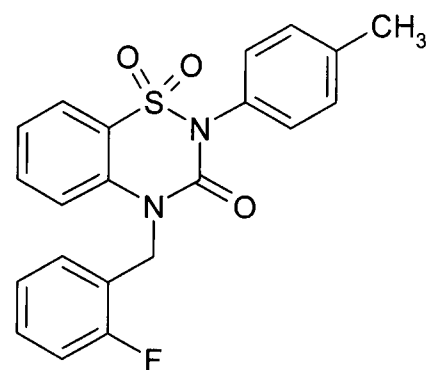
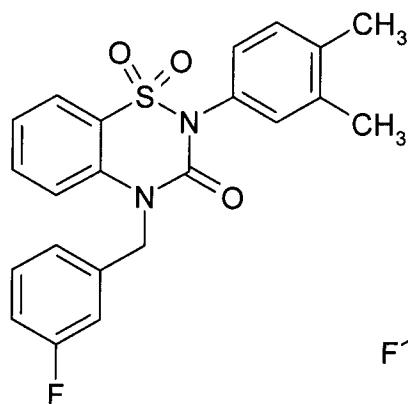
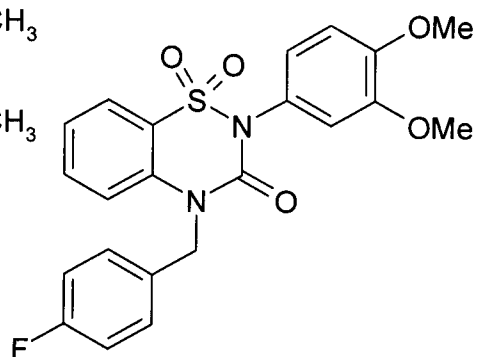
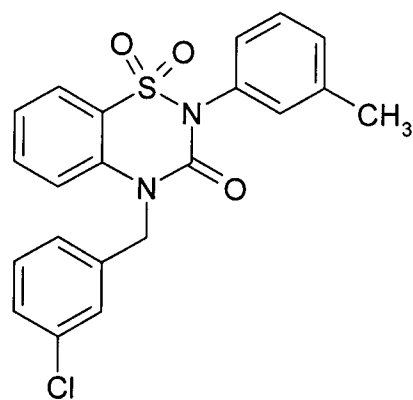


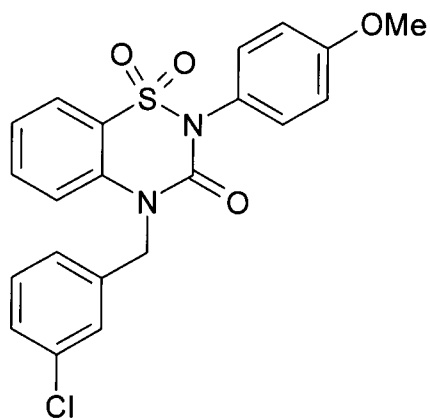
где Ar¹ и Ar² представляют собой необязательно одинаковые арилы, в том числе фенил, необязательно замещенный одним, двумя или тремя заместителями, выбранными из C₁-C₄алкила, метоксила, галогена, карбоксила необязательно замещенного карбамоила и карбонитрила.

2. Ингибитор по п.1, представляющий собой 1,1-диоксо-1,4-дигидро-2Н-бензо[1,2,4]тиадиазин-3-он выбранный из ряда соединений формул **1.1-1.16**, его гидрат и/или сольват

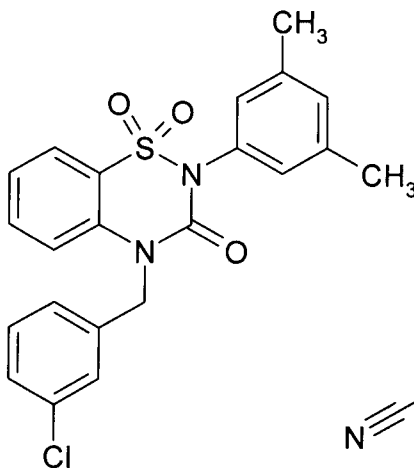
**1.1****1.2****1.3**

16

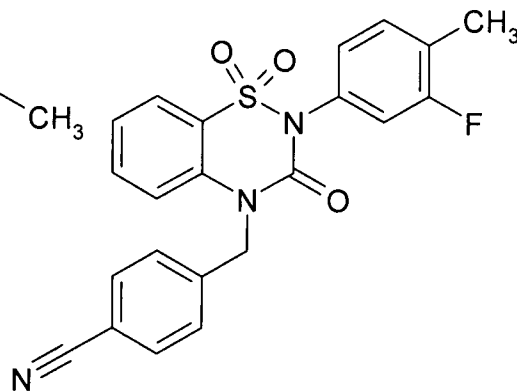
**1.4****1.5****1.6****1.7****1.8****1.9****1.10****1.11****1.12**



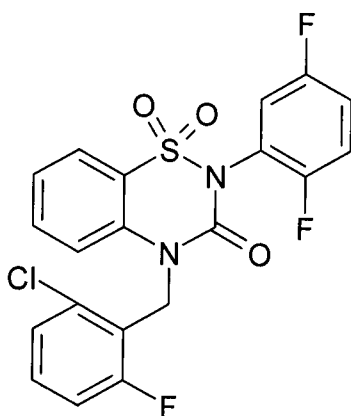
1.13



1.14



1.15



1.16

3. Фармацевтическая композиция в форме таблеток, капсул или инъекций, помещенных в фармацевтически приемлемую упаковку, включающая в свой состав ингибитор входа вируса гепатита дельта общей формулы **1**, его фармацевтически приемлемую соль, гидрат и/или сольват в терапевтически эффективном количестве и необязательно фармацевтически приемлемые эксципиенты.

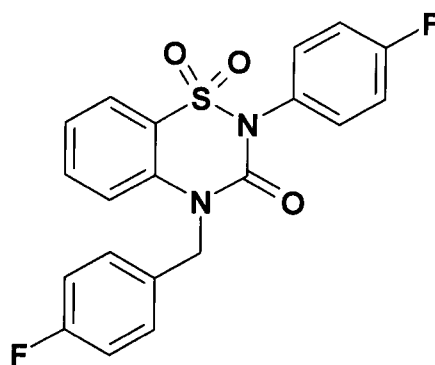
4. Способ получения фармацевтической композиции смешением с инертным наполнителем и/или растворителем, по крайней мере, одного ингибитора общей формулы **1** или его фармацевтически приемлемой соли, гидрата и/или сольвата в терапевтически эффективном количестве.

5. Терапевтический коктейль для лечения вирусных инфекций и ко-инфекций, включающий в качестве одного из компонентов ингибитор входа вируса гепатита дельта общей формулы 1, его фармацевтически приемлемую соль, гидрат и/или сольват или фармацевтическую композицию, содержащих в качестве активного компонента, ингибитор входа вируса гепатита дельта общей формулы 1, его фармацевтически приемлемую соль, и/или гидрат и/или сольват.

6. Способ профилактики и лечения инфекции вируса гепатита дельта или ко-инфекции вируса гепатита дельта и гепатита В и необязательно вируса гепатита С и/или вируса иммунодефицита человека у нуждающихся в этом пациентов, введением пациенту ингибитора входа вируса гепатита дельта общей формулы 1, его фармацевтически приемлемой соли, гидрата и/или сольвата или фармацевтической композиции, которые содержат в качестве активного компонента, по крайней мере, один ингибитор входа вируса гепатита дельта общей формулы 1, или его фармацевтически приемлемую соль, гидрат и/или сольват.

7. Способ ингибирования входа вируса гепатита дельта в естественных условиях, включающий стадию контактирования ингибитора общей формулы 1, его фармацевтически приемлемой соли, гидрата и/или сольвата и NTCP рецептора гепатоцита.

8. Ингибитор входа вируса гепатита В, представляющий собой 4-(4-фторбензил)-2-(4-фторфенил)-1,1-диоксо-1,4-дигидро-2Н-бензо[1,2,4]тиадиазин-3-он формулы 1.7, его гидрат и/или сольват



1.7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/RU 2018/000125

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D 285/32(2006.01)

A61K 31/20(2006.01)

A61K 31/5415(2006.01)

A61P 1/16(2006.01)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D, A61K, A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

RUPAT, ESP@CENET, EAPO, USPTO, CIPO, DEPATISnet, SIPO, DWPI, J-PLAT PAT, K-PION, PatSearch, STN

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	RU 2574397 C1 (IVASHCHENKO ALEKSANDR VASILEVICH et al.)	1-7
Y	10.02.2016, claims 1-6, p.10, 11	8
X	WO 2014/006402 A1 (HEPTARES THERAPEUTICS LIMITED) 09.01.2014, abstract, the claims, table 1, examples 2-8, 10-21, 24-29, 31-72, 77-157, 185	1,2
Y	EA 200201263 A1 (AIDENIKS (KAIMAN) LIMITED) 26.06.2003, abstract; p. 1, third and last paragraphs; p.2, first paragraph; p.3, p.4, 1-3 paragraphs	8
Y	WO 2012/131061 A1 (NOVARTIS AG et al.) 04.10.2012, the claims	8

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 July 2018 (13.07.2018)

Date of mailing of the international search report

16 August 2018 (16.08.2018)

Name and mailing address of the ISA/

RU

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

ОТЧЕТ О МЕЖДУНАРОДНОМ ПОИСКЕ

Номер международной заявки

PCT/RU 2018/000125

A. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ <i>C07D 285/32</i> (2006.01) <i>A61K 31/5415</i> (2006.01) <i>A61K 31/20</i> (2006.01) <i>A61P 1/16</i> (2006.01)		
Согласно Международной патентной классификации МПК		
B. ОБЛАСТЬ ПОИСКА Проверенный минимум документации (система классификации с индексами классификации) C07D, A61K, A61P		
Другая проверенная документация в той мере, в какой она включена в поисковые подборки		
Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины) RUPAT, ESP@CENET, EAPO, USPTO, CIPO, DEPATISnet, SIPO, DWPI, J-PLAT PAT, K-PION, PatSearch, STN		
C. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ:		
Категория*	Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
X	RU 2574397 C1 (ИВАЩЕНКО АЛЕКСАНДР ВАСИЛЬЕВИЧ и др.) 10.02.2016, п.п.1-6 формулы, с.с. 10,11	1-7
Y		8
X	WO 2014/006402 A1 (HEPTARES THERAPEUTICS LIMITED) 09.01.2014, реферат, формула изобретения, таблица 1, примеры 2-8, 10-21, 24-29, 31-72, 77-157, 185	1,2
Y	EA 200201263 A1 (АЙДЕНИКС (КАЙМАН) ЛИМИТЕД) 26.06.2003, реферат; с. 1, третий и последний абзацы; с.2, первый абзац; с.3, с.4, 1-3-й абзацы	8
Y	WO 2012/131061 A1 (NOVARTIS AG и др.) 04.10.2012, формула изобретения	8
☐ последующие документы указаны в продолжении графы C. ☐ данные о патентах-аналогах указаны в приложении		
* Особые категории ссылочных документов:	“Т” более поздний документ, опубликованный после даты международной подачи или приоритета, но приведенный для понимания принципа или теории, на которых основывается изобретение	
“А” документ, определяющий общий уровень техники и не считающийся особо релевантным	“Х” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает новизной или изобретательским уровнем, в сравнении с документом, взятым в отдельности	
“Е” более ранняя заявка или патент, но опубликованная на дату международной подачи или после нее	“У” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает изобретательским уровнем, когда документ взят в сочетании с одним или несколькими документами той же категории, такая комбинация документов очевидна для специалиста	
“L” документ, подвергающий сомнению притязание(я) на приоритет, или который приводится с целью установления даты публикации другого ссылочного документа, а также в других целях (как указано)	“&” документ, являющийся патентом-аналогом	
“О” документ, относящийся к устному раскрытию, использованию, экспонированию и т.д.		
“Р” документ, опубликованный до даты международной подачи, но после даты испрашиваемого приоритета		
Дата действительного завершения международного поиска	Дата отправки настоящего отчета о международном поиске	
13 июля 2018 (13.07.2018)	16 августа 2018 (16.08.2018)	
Наименование и адрес ISA/RU: Федеральный институт промышленной собственности, Бережковская наб., 30-1, Москва, Г-59, ГСП-3, Россия, 125993 Факс: (8-495) 531-63-18, (8-499) 243-33-37	Уполномоченное лицо: Полякова С.Л. Телефон № (8-499) 240 25-91	