

(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)

Бензо[1,2,4]тиадиазиновые ингибиторы репликации вируса гепатита В и фармацевтическая композиция для лечения гепатита В.

Область техники

Данное изобретение относится к новым ингибиторам репликации вируса гепатита В (HBV), новой фармацевтической композиции для лечения гепатита В, способу их получения и применения.

Предшествующий уровень техники

Гепатит В — это инфекция печени, потенциально представляющая угрозу для жизни, вызываемая HBV. Он представляет одну из основных проблем глобального здравоохранения. Гепатит В может приводить к развитию хронической болезни печени и создавать высокий риск смерти от цирроза и рака печени.

По данным ВОЗ самые высокие уровни распространенности гепатита В отмечаются в Африке к югу от Сахары и в Восточной Азии. Большинство жителей этих регионов приобретают инфекцию гепатита В в детстве, а от 5% до 10% взрослого населения имеют хроническую инфекцию.

Высокие показатели хронических инфекций отмечаются также в районе Амазонки и в южных частях Восточной и Центральной Европы. По оценкам хронически инфицировано от 2% до 5% общего населения Ближнего Востока и Индийского субконтинента. В Западной Европе и Северной Америке хронически инфицировано менее 1% населения.

Вероятность того, что вирусная инфекция гепатита В станет хронической, зависит от возраста, в котором человек приобретает инфекцию. Хронические инфекции развиваются у 80-90% детей, инфицированных в течение первого года жизни и у 30-50% детей, инфицированных в возрасте до шести лет. Среди взрослых людей хронические инфекции развиваются у <5% инфицированных, здоровых в остальных отношениях людей. 5-25% взрослых людей, ставших хронически инфицированными в детстве, умирают от связанных с гепатитом В рака или цирроза печени.

Более 240 миллионов человек имеют хронические (длительные) инфекции печени. Около 780 000 человек ежегодно умирает от острых или хронических последствий гепатита В.

С 1982 года доступна вакцина против гепатита В. Эта вакцина эффективна в предотвращении инфекции и ее хронических последствий на 95% и является первой вакциной против одного из основных видов рака человека.

Людей с хроническим гепатитом В, которые нуждаются в лечении, лечат противовирусными препаратами, такими как тенофовир и энтекавир, а также уколами интерферона. Лечение может замедлять развитие цирроза, уменьшать заболеваемость гепатоцеллюлярной карциномой и улучшать выживаемость в долгосрочной перспективе.

В последние годы были открыты нуклеозидные гетероциклические соединения, ингибирующие репликацию вируса гепатита В [US 6436943, US 2013/0071354, WO 2013/102655], в том числе: methyl (R)-4-(2-chloro-4-fluorophenyl)-2-(3,5-difluoro-2-pyridinyl)-6-methyl-1,4-dihydro-pyrimidine-5-carboxylate (BAY 41-4109) [O. Weber et al. Inhibition of human hepatitis B virus (HBV) by a novel non-nucleosidic compound in a transgenic mouse model. *Antiviral Res.* 54, 69-78, 2002.], а также сульфоамилариламиды [WO 20013/006394, WO 2013/096744, WO 2014/033170, WO 2014/033176], сульфоамилтиофенамиды [WO 2014/184365].

Известны производные 1,1-диоксо-2Н-1,2,4-бензотиадиазин-3(4Н)-она, показавшие высокую активность как антагонисты рецептора орексина-2 и заявленные для лечения и профилактики наркотической зависимости, двигательных расстройств, нарушений сна, неврологических заболеваний, ассоциируемых с депрессией, когнитивных расстройств, болезни Альцгеймера. Также описан способ их получения взаимодействием 2-нитробензенсульфонил хлорида и замещенного анилина с последующим восстановлением нитрогруппы в присутствии дихлорида олова и циклизацией в присутствии трифосгена [WO 2014006402]. Известен твердофазный синтез 2,4-дизамещенных 1,2,4-бензотиадиазин-3-он 1,1-диоксидов из 4-нитрофенилуксусной кислоты [Shingo Makino et al. Efficient synthesis of 2,4-disubstituted 1,2,4-benzothiadiazin-3-one 1,1-dioxides on solid support. *J. Comb. Chem.* 5(1), 73-78, 2003].

Однако специального лечения острого гепатита В до настоящего времени нет. В этой связи поиск новых препаратов для лечения гепатита В является актуальной задачей.

Раскрытие изобретения

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

«Алкил» означает алифатическую углеводородную линейную или разветвленную группу с 1-12 атомами углерода в цепи. Разветвленная означает, что алкильная цепь имеет один или несколько «низших алкильных» заместителей. Алкил может иметь один или несколько одинаковых или различных заместителей, включая галоген, алкенилокси, циклоалкил, арил, гетероарил, гетероциклил, ароил, циано, гидроксид, алкокси, карбокси, алкинилокси, аралкокси, арилокси, арилоксикарбонил, алкилтио, гетероарилтио, аралкилтио, арилсульфонил, алкилсульфонилгетероаралкилокси, аннелированный гетероарилциклоалкил, аннелированный гетероарилциклоалкил, аннелированный гетероарилгетероцикленил, аннелированный гетероарилгетероциклил, аннелированный арилциклоалкил, аннелированный арилциклоалкил, аннелированный арилгетероцикленил, аннелированный арилгетероциклил, алкоксикарбонил, аралкоксикарбонил, гетероаралкилоксикарбонил или $R_k^a R_{k+1}^a N-$, $R_k^a R_{k+1}^a NC(=O)-$, $R_k^a R_{k+1}^a NC(=S)-$, $R_k^a R_{k+1}^a NSO_2-$, где R_k^a и R_{k+1}^a независимо друг от друга представляют собой «заместители аминогруппы», например, атом водорода, алкил, арил, аралкил, гетероаралкил, гетероциклил или гетероарил, или R_k^a и R_{k+1}^a вместе с атомом N, с которым они связаны, образуют через R_k^a и R_{k+1}^a 4 - 7 членный гетероциклил или гетероцикленил. Предпочтительными алкильными группами являются метил, трифторметил, циклопропилметил, циклопентилметил, этил, н-пропил, изо-пропил, н-бутил, трет-бутил, н-пентил, 3-пентил, метоксиэтил, карбоксиметил, метоксикарбонилметил, этоксикарбонилметил, бензилоксикарбонилметил метокси-карбонилметил и пиридилметилоксикарбонилметил. Предпочтительными «алкильными заместителями» являются циклоалкил, арил, гетероарил, гетероциклил, гидроксид, алкокси, алкоксикарбонил, аралкокси, арилокси, алкилтио, гетероарилтио, аралкилтио, алкилсульфонил, арилсульфонил, алкоксикарбонил, аралкоксикарбонил, гетероаралкилоксикарбонил или $R_k^a R_{k+1}^a N-$, $R_k^a R_{k+1}^a NC(=O)-$, аннелированный арилгетероцикленил, аннелированный арилгетероциклил.

арилциклоалкенил, аннелированный арилциклоалкил, аннелированный арилгетероцикленил, аннелированный арилгетероциклил. Предпочтительными «заместителями карбамоильными» являются алкил, циклоалкил, арил, гетероарил, гетероциклил, алкоксикарбонилалкил, аралкоксикарбонилалкил, гетероаралкилоксикарбонилалкил или $R_k^a R_{k+1}^a N-$, $R_k^a R_{k+1}^a NC(=O)$ -алкил, аннелированный арилгетероцикленил, аннелированный арилгетероциклил.

«**Заместитель циклической системы**» означает заместитель, присоединенный к ароматической или неароматической циклической системе, включая водород, алкил, алкенил, алкинил, арил, гетероарил, аралкил, гетероаралкил, гидрокси, гидроксилалкил, амино, аминоксилалкил, алкокси, арилокси, ацил, ароил, галоген, нитро, циано, карбокси, алкоксикарбонил, арилоксикарбонил, аралкоксикарбонил, алкилоксилалкил, арилоксилалкил, гетероциклилоксилалкил, арилалкилоксилалкил, гетероциклилалкил-оксилалкил, алкилсульфонил, арилсульфонил, гетероциклилсульфонил, алкилсульфинил, арилсульфинил, гетероциклилсульфинил, алкилтио, арилтио, гетероциклилтио, алкилсульфонилалкил, арилсульфонилалкил, гетероциклилсульфонилалкил, алкилсульфинилалкил, арилсульфинилалкил, гетероциклилсульфинилалкил, алкилтиоалкил, арилтиоалкил, гетероциклилтиоалкил, арилалкилсульфонилалкил, гетероциклилалкилсульфонилалкил, арилалкилтиоалкил, гетероциклилалкилтиоалкил, циклоалкил, циклоалкенил, гетероциклил, гетероцикленил, амидино, $R_k^a R_{k+1}^a N-$, $R_k^a N=$, $R_k^a R_{k+1}^a N$ -алкил-, $R_k^a R_{k+1}^a NC(=O)$ - или $R_k^a R_{k+1}^a NSO_2-$, где R_k^a и R_{k+1}^a представляют собой независимо друг от друга «заместители аминогруппы», например, водород, необязательно замещенный алкил, необязательно замещенный арил, необязательно замещенный аралкил, или необязательно замещенный гетероаралкил, или заместитель $R_k^a R_{k+1}^a N-$, в котором R_k^a может быть ацил или ароил, а значение R_{k+1}^a определено выше, или «заместителями циклической системы» являются $R_k^a R_{k+1}^a NC(=O)$ - или $R_k^a R_{k+1}^a NSO_2-$, в которых R_k^a и R_{k+1}^a вместе с атомом азота, с которым они связаны, образуют через R_k^a и R_{k+1}^a 4-7 членный гетероциклил или гетероцикленил.

«**Карбамоил**» означает $C(=O)N R_k^a R_{k+1}^a$ - группу. Карбамоил может иметь один или несколько одинаковых или различных «заместителей карбамоильных» R_k^a и R_{k+1}^a , включая водород, алкенил, алкил, арил, гетероарил, гетероциклил.

«**Карбоксил**» означает $HO C(=O)$ - (карбоксильную) группу.

«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.

«Низший алкил» означает линейный или разветвленный алкил с 1-4 атомами углерода.

«Терапевтический коктейль» представляет одновременно администрируемую комбинацию двух и более лекарственных препаратов, обладающих различным механизмом фармакологического действия и направленных на различные биомишени, участвующие в патогенезе заболевания.

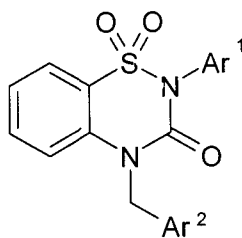
«Фармацевтическая композиция» обозначает композицию, включающую в себя соединение формулы 1 и, по крайней мере, один из компонентов, выбранных из группы, состоящей из фармацевтически приемлимых и фармакологически совместимых наполнителей, растворителей, разбавителей, носителей, вспомогательных, распределяющих 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, альгиновая 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 интритриглазные 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(гидроксиэтил)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.

Предметом данного изобретения являются новые ингибиторы репликации вируса гепатита В, представляющие собой 1,1-диоксо-1,4-дигидро-2Н-бензо[1,2,4]тиадиазин-3-оны общей формулы 1, их фармацевтически приемлемые соли и/или гидраты.

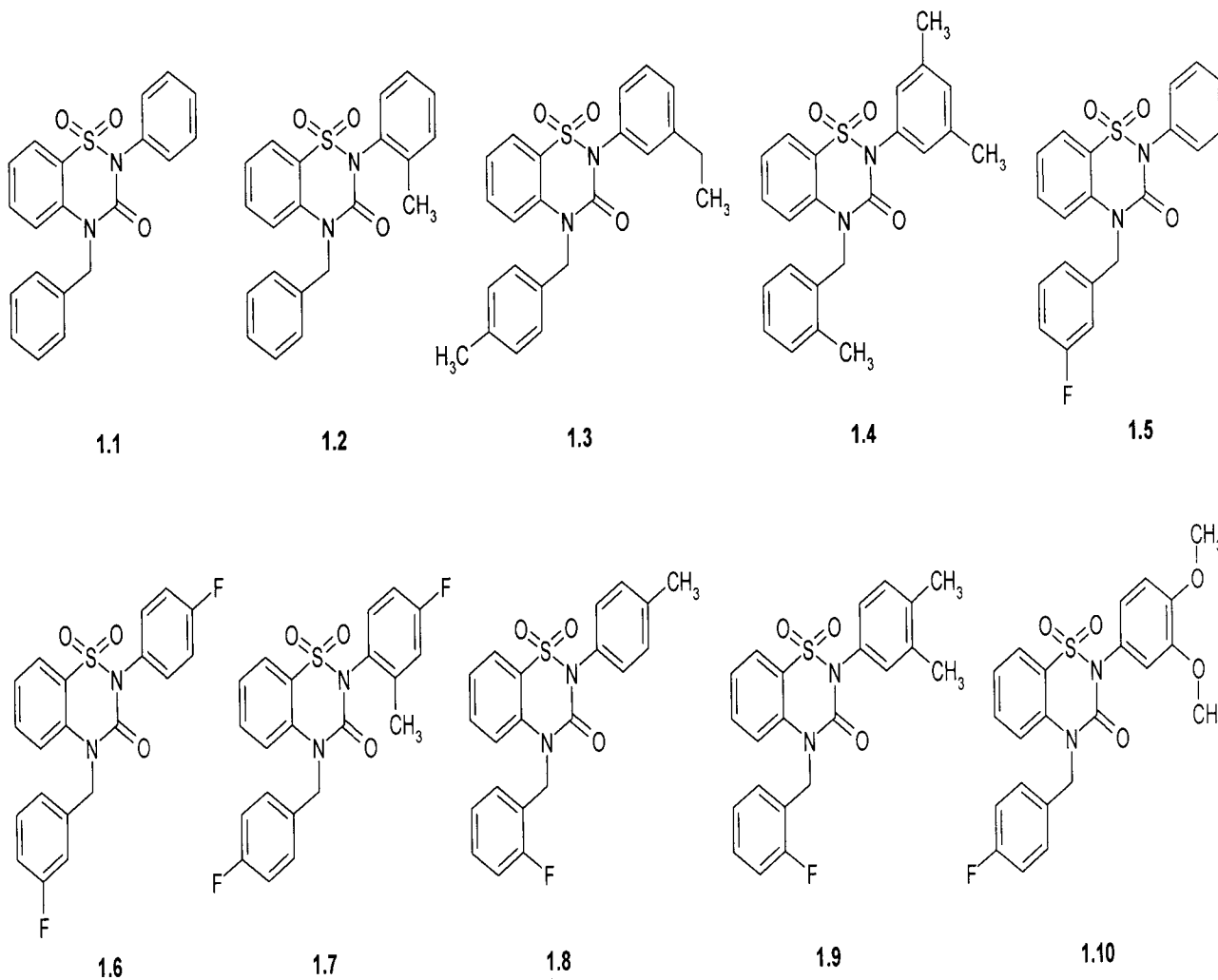


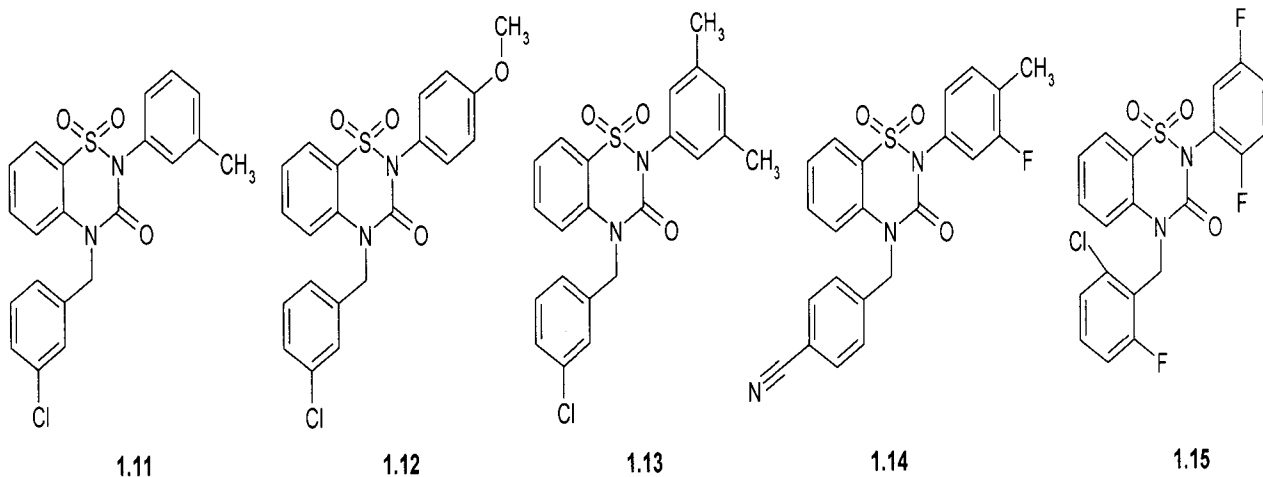
1

где Ar^1 и Ar^2 представляют собой необязательно одинаковые арилы, в том числе фенил, необязательно замещенный одним, двумя или тремя заместителями, выбранными из C_1 -Сдлкила, метоксила, галогена, карбоксила необязательно замещенного карбамоила и карбонитрила.

Соединения общей формулы **1**, как неожиданно установили авторы, оказались эффективными ингибиторами репликации вируса гепатита В.

Согласно данному изобретению предпочтительными ингибиторами общей формулы **1** являются 1,1-диоксо-1,4-дигидро-2Н-бензо[1,2,4]тиадиазин-3-оны **1.1-1.15**





Ингибиторы репликации вируса гепатита В общей формулы **1** являются коммерчески доступными соединениями от ряда компаний, в том числе от ChemDiv, Inc. (USA) [база данных SciFinder® от Chemical Abstracts Service].

Ингибирующую активность соединений общей формулы **1** (ингибирование секреции "е"-антигена (HBeAg) в культуре клеток HepG2/NTCP, зараженных HBV) определяли методом ELISA по протоколу, описанному ниже в Примере 1, а их цитотоксичность определяли по протоколу, описанному ниже в Примере 2.

Согласно данному изобретению новые ингибиторы общей формулы **1** представляют собой лекарственное начало для приготовления фармацевтической композиции и готовых лекарственных форм для профилактики и лечения HBV у теплокровных животных и людей.

Предметом данного изобретения является фармацевтическая композиция в форме таблеток, капсул или инъекций, помещенных в фармацевтически приемлемую упаковку, для лечения гепатита В у людей и теплокровных животных, включающая в свой состав ингибитор репликации HBV общей формулы **1** в терапевтически эффективном количестве.

Фармацевтические композиции могут включать 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 их фармацевтически приемлемой солью и/или гидратом 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 общей формулы 1 или его фармацевтически приемлемой соли в терапевтически эффективном количестве.

Предметом данного изобретения являются также терапевтические коктейли для лечения гриппа, включающие в качестве одного из компонентов новое лекарственное средство или новую фармацевтическую композицию, содержащих в качестве активного компонента, по крайней мере, одно соединение общей формулы 1 или его фармацевтически приемлемую соль и/или гидрат.

Терапевтический коктейль для лечения HВV, наряду с фармацевтической композицией по данному изобретению, может включать другие известные препараты, предназначенные для лечения вируса гепатита В, или препараты, усиливающие иммунную систему пациента.

В соответствии с данным изобретением способ профилактики и лечения гепатита В у животных и людей заключается во введении пациенту новой фармацевтической композиции или нового терапевтического коктейля.

Лекарственные средства могут вводиться через ингалятор, перорально или парентерально (например, внутривенно, подкожно, внутривнутрибрюшинно или местно). Клиническая дозировка средства общей формулы 1 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. 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 HBV в естественных условиях, включающий стадию контактирования ингибитора общей формулы 1 и HBV. Данное изобретение иллюстрируется, но не ограничивается следующими примерами.

Пример 1. Определение противовирусной активности фармацевтической композиции, содержащей в качестве активной субстанции один из ингибиторов общей формулы 1, в отношении вирусов гепатита В (HBV) в культуре клеток человеческой гепатомы (HepG2/NTCP), зараженной HBV *in vitro* (*Elife* 2012 Nov 13;1:e00049. doi: 10.7554/eLife.00049).

Для определения активности ингибиторов использовался иммунный *in vitro* тест ELISA на “e”-антиген вируса HBV (HBeAg). С помощью этого теста измерялась эффективность ингибирования тестируемыми соединениями продукции антигена (и, следовательно, репликации вируса) в клетках, инфицированных вирусом HBV. Используемая в данном эксперименте культура клеток HepG2/NTCP способна, будучи инфицированной вирусом HBV, поддерживать полный цикл вирусной репликации.

Препарат HBV, использованный в данном эксперименте для инфекции клеток HepG2/NTCP, был получен из супернатантов клеточных культур линии AD38, секретирующей HBV в отсутствие тетрациклина (*Antimicrob. Agents Chemother.* 1997 Aug; 41(8):1715-20).

Клетки HepG2/NTCP были высеяны в 96-луночные платы ($3,0 \times 10^3$ клеток на лунку) в среде Nuh-7 (50 мкл на каждую лунку). Для каждого тестируемого соединения приготовили 6 растворов в среде Nuh-7 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 HBV. Таким образом, финальные концентрации тестируемых соединений были в диапазоне 0,1-30 мкмоль/л. 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 °С в атмосфере воздуха, содержащей 5% углекислого газа (CO₂). Культуральные супернатанты исследовали на содержание HBeAg при помощи коммерческого диагностического набора "HBeAg Elisa 4.0" (MP Biomedicals, Singapore) в соответствии с рекомендациями производителя. Кратко, от 10 до 50 мкл супернатантов вносили в 96-луночные планшеты с адсорбированными антителами к HBeAg, добавляли второе анти-HBeAg антитело, меченое пероксидазой хрена, и инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре. Промывали каждую лунку трехкратно 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% H₂O₂) в течение 30 минут в темноте при комнатной температуре. Реакцию останавливали добавлением к каждой лунке 100 мкл 2N H₂SO₄, после чего измеряли поглощение при длине волны 490 нм. Величину EC₅₀, представляющую из себя концентрацию тестируемого соединения, при котором репликация вируса понижается вдвое, определяли для каждого тестируемого соединения при помощи программы Xlfit.

Полученные результаты свидетельствуют о высокой противовирусной активности ингибиторов общей формулы **1** в отношении HBV. Так, например, в таблице 1 представлены значения EC₅₀ для некоторых представителей ингибиторов общей формулы **1** в отношении HBV.

Таблица 1. Противовирусная активность ингибиторов общей формулы **1**, в отношении вирусов гепатита В (HBV) в культуре клеток человеческой гепатомы (HepG2/NTCP), зараженной HBV *in vitro*.

Ингибитор		EC ₅₀ , μM
№	CAS №	

1.3	CAS 951519-99-6	0.48
1.5	CAS 896681-30-40	0.17
1.7	CAS 951541-95-0	0.43
1.12	CAS 866846-93-7	0.67
1.13	CAS 896681-15-5	0.08

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 и общей формулы 2 при помощи программы Xlfit. Полученные результаты свидетельствуют о низкой цитотоксичности ингибиторов ($CC_{50} > 30 \mu\text{M}$) 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 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 1.13 с порошком лактозы в соотношении 2 : 1. Полученную

порошкообразную смесь упаковывают по 600 мг в желатиновые капсулы подходящего размера.

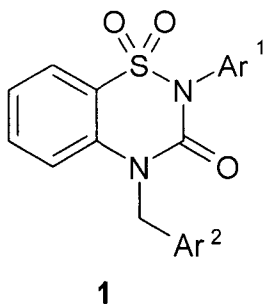
Пример 5. Получение лекарственного средства в форме инъекционных композиций для внутримышечных, внутривенных или подкожных инъекций. Смешивают 500 мг ингибитора **1.13** с 300 мг хлорбутанола, 2 мл пропиленгликоля и 100 мл инъекционной воды. Полученный раствор фильтруют и помещают по 1 мл в ампулы, которые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

Промышленная применимость

Изобретение может быть использовано в медицине и ветеринарии.

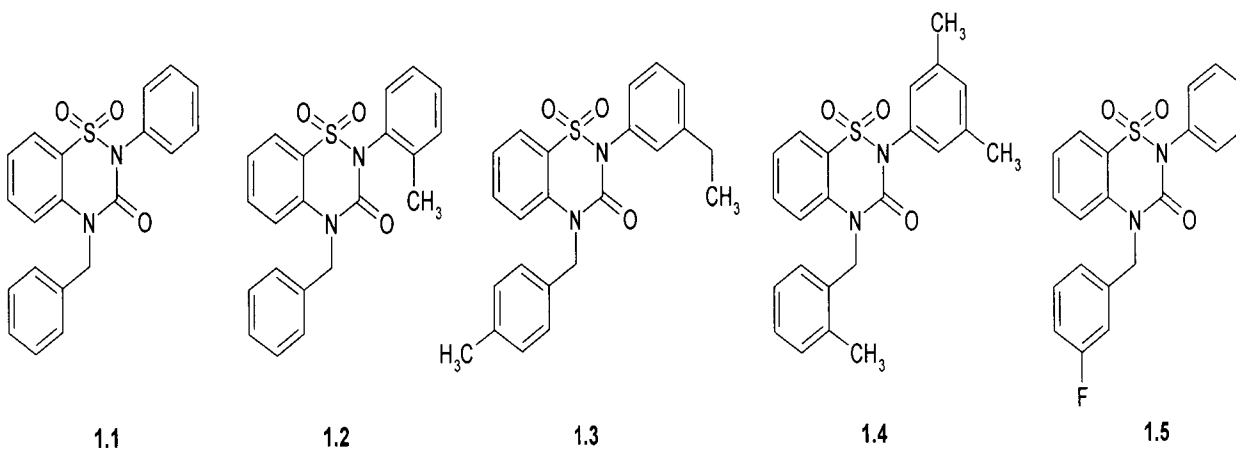
Формула изобретения

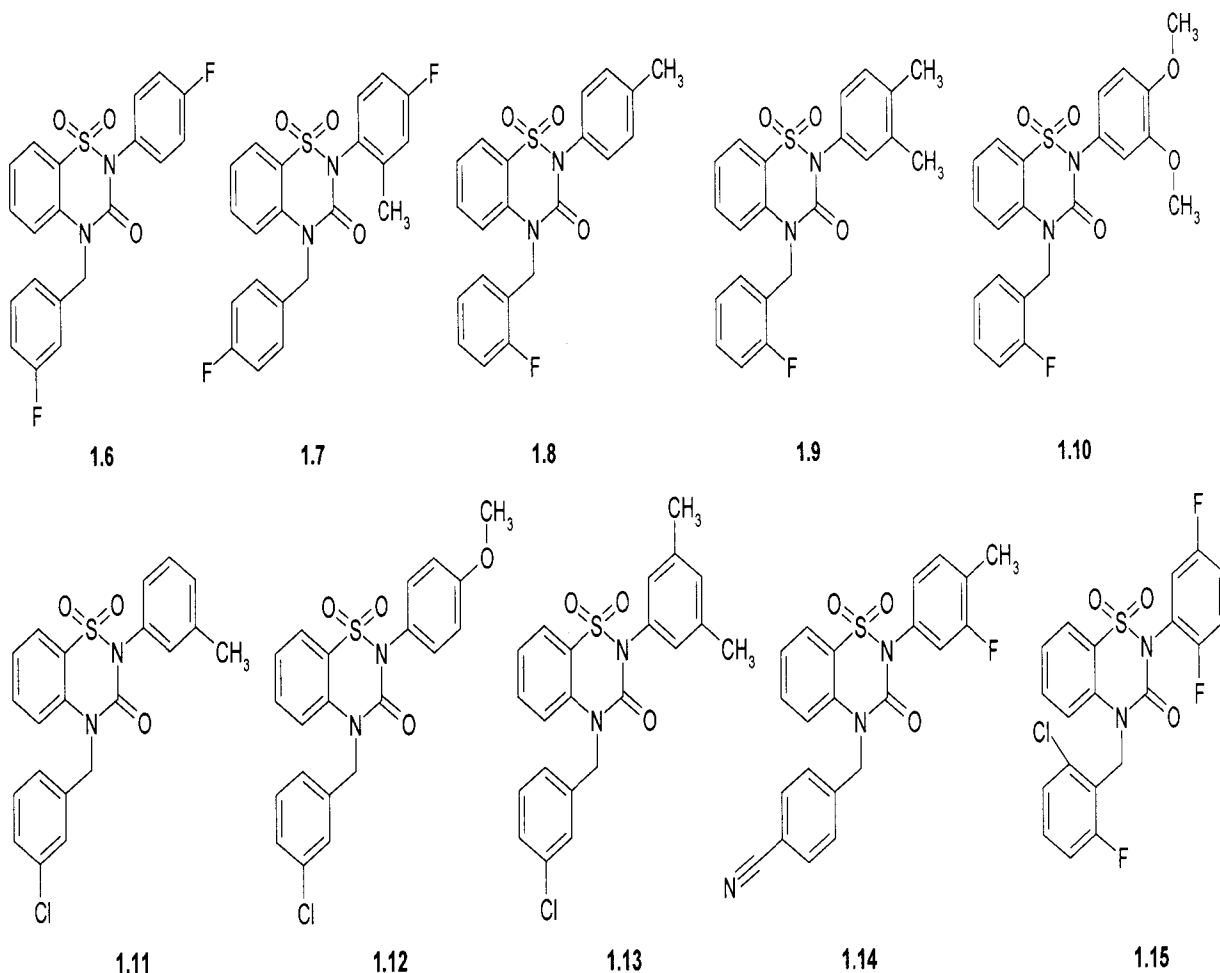
1. Применение соединений, представляющих собой 1,1-диоксо-1,4-дигидро-2Н-бензо[1,2,4]тиадиазин-3-оны общей формулы **1**, их фармацевтически приемлемые соли и/или гидраты в качестве ингибиторов репликации вируса гепатита В,



где Ar¹ и Ar² представляют собой фенил, необязательно замещенный одним, двумя или тремя одинаковыми или различными заместителями, выбранными из C₁-C₄алкила, метоксила, галогена, карбоксила и карбонитрила.

2. Применение соединений по п.1, представляющих собой 1,1-диоксо-1,4-дигидро-2Н-бензо[1,2,4]тиадиазин-3-оны, выбранные из ряда соединений формулы **1.1-1.15**





3. Фармацевтическая композиция в форме таблеток, капсул или инъекций, помещенных в фармацевтически приемлемую упаковку, для лечения гепатита В, содержащая ингибитор репликации вируса гепатита В общей формулы 1 по пп. 1, его фармацевтически приемлемую соль и/или гидрат в терапевтически эффективном количестве.

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

5. Способ профилактики и лечения вируса гепатита В заключается во введении пациенту ингибитора репликации вируса гепатита В общей формулы 1 по пп. 1, его фармацевтически приемлемой соли и/или гидрата или фармацевтической композиции по

пп. 3, содержащей в качестве активного компонента, по крайней мере, один ингибитор репликации вируса гепатита В общей формулы **1** по п.п. 1, его фармацевтически приемлемую соль и/или гидрат.

6. Способ ингибирования активности вируса гепатита В в естественных условиях, включающий стадию контактирования ингибитора общей формулы **1** по п.п. 1, его фармацевтически приемлемой соли и/или гидрата и вируса гепатита В.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/RU 2015/000856

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		<i>C07D 285/24 (2006.01)</i> <i>A61K 31/5415 (2006.01)</i> <i>A61P 31/16 (2006.01)</i>
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 285/24, A61K 31/5415, A61P 31/16		
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) PatSearch (RUPTO internal), USPTO, PAJ, Esp@cenet, DWPI, EAPATIS, PATENTSCOPE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2014/006402 A1 (HEPTARES THERAPEUTICS LIMITED) 09.01.2014, abstract, the claims, p. 4, lines 1-9, p. 121-122, examples, p. 50, table, compound 69-72	3-4
A		1-2, 5-6
A	DATABASE ONLINE! MAKINO SHINGO et al. Efficient Synthesis of 2, 4- Disubstituted 1, 2, 4 -Benzothiadiazin-3-one 1, 1-Dioxides on Solid Support. Journal of Combinatorial Chemistry, 5 (1), 73-78 (English) 2003. Retrieved from STN 121 :86193 CAS REACT, REGISTRY via STN RN 483362-16-9P CA, RN 483362-17-0 S A, abstract, schema 1, 2	1-6
A	WO 2008/124450 B1 (ANADYS PHARMACEUTICALS, INC.) 16.10.2008, abstract, the claims, examples 39, 57	1-6
A	WO 2012/064667 A2 (OMEROS CORPORATION et al.) 18.05.2012, p. 1, 85, 230-232, abstract	1-6
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> 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 24 April 2016 (24.04.2016)		Date of mailing of the international search report 02 June 2016 (02.06.2016)
Name and mailing address of the ISA/ Facsimile No.		Authorized officer Telephone No.

ОТЧЕТ О МЕЖДУНАРОДНОМ ПОИСКЕ

Номер международной заявки

PCT/RU 2015/000856

<p>A. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ</p> <p style="text-align: center;"><i>C07D 285/24 (2006.01)</i> <i>A61K 31/5415 (2006.01)</i> <i>A61P 31/16 (2006.01)</i></p> <p>Согласно Международной патентной классификации МПК</p>																			
<p>B. ОБЛАСТЬ ПОИСКА</p> <p>Проверенный минимум документации (система классификации с индексами классификации)</p> <p style="text-align: center;">C07D 285/24, A61K 31/5415, A61P 31/16</p> <p>Другая проверенная документация в той мере, в какой она включена в поисковые подборки</p> <p>Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины)</p> <p style="text-align: center;">PatSearch (RUPTO internal), USPTO, PAJ, Esp@cenet, DWPI, EAPATIS, PATENTSCOPE</p>																			
<p>C. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ:</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Категория*</th> <th>Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей</th> <th>Относится к пункту №</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>WO 2014/006402 A1 (HEPTARES THERAPEUTICS LIMITED) 09.01.2014, реферат, формула, с. 4, строки 1-9, с. 121-122, примеры, с. 50, таблица, соединения 69-72</td> <td>3-4</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td></td> <td>1-2, 5-6</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>DATABASE ONLINE! MAKINO SHINGO et al. Efficient Synthesis of 2, 4-Disubstituted 1, 2, 4 -Benzothiadiazin-3-one 1, 1-Dioxides on Solid Support. Journal of Combinatorial Chemistry, 5 (1), 73-78 (English) 2003. Retrieved from STN 121:86193 CASREACT, REGISTRY via STN RN 483362-16-9P CA, RN 483362-17-0 CA, реферат, схема 1, 2</td> <td>1-6</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2008/124450 B1 (ANADYS PHARMACEUTICALS, INC.) 16.10.2008, реферат, формула, примеры 39, 57</td> <td>1-6</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2012/064667 A2 (OMEROS CORPORATION et al.) 18.05.2012, с. 1, 85, 230-232, реферат</td> <td>1-6</td> </tr> </tbody> </table>		Категория*	Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №	X	WO 2014/006402 A1 (HEPTARES THERAPEUTICS LIMITED) 09.01.2014, реферат, формула, с. 4, строки 1-9, с. 121-122, примеры, с. 50, таблица, соединения 69-72	3-4	A		1-2, 5-6	A	DATABASE ONLINE! MAKINO SHINGO et al. Efficient Synthesis of 2, 4-Disubstituted 1, 2, 4 -Benzothiadiazin-3-one 1, 1-Dioxides on Solid Support. Journal of Combinatorial Chemistry, 5 (1), 73-78 (English) 2003. Retrieved from STN 121:86193 CASREACT, REGISTRY via STN RN 483362-16-9P CA, RN 483362-17-0 CA, реферат, схема 1, 2	1-6	A	WO 2008/124450 B1 (ANADYS PHARMACEUTICALS, INC.) 16.10.2008, реферат, формула, примеры 39, 57	1-6	A	WO 2012/064667 A2 (OMEROS CORPORATION et al.) 18.05.2012, с. 1, 85, 230-232, реферат	1-6
Категория*	Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №																	
X	WO 2014/006402 A1 (HEPTARES THERAPEUTICS LIMITED) 09.01.2014, реферат, формула, с. 4, строки 1-9, с. 121-122, примеры, с. 50, таблица, соединения 69-72	3-4																	
A		1-2, 5-6																	
A	DATABASE ONLINE! MAKINO SHINGO et al. Efficient Synthesis of 2, 4-Disubstituted 1, 2, 4 -Benzothiadiazin-3-one 1, 1-Dioxides on Solid Support. Journal of Combinatorial Chemistry, 5 (1), 73-78 (English) 2003. Retrieved from STN 121:86193 CASREACT, REGISTRY via STN RN 483362-16-9P CA, RN 483362-17-0 CA, реферат, схема 1, 2	1-6																	
A	WO 2008/124450 B1 (ANADYS PHARMACEUTICALS, INC.) 16.10.2008, реферат, формула, примеры 39, 57	1-6																	
A	WO 2012/064667 A2 (OMEROS CORPORATION et al.) 18.05.2012, с. 1, 85, 230-232, реферат	1-6																	
<p><input type="checkbox"/> последующие документы указаны в продолжении графы C. <input type="checkbox"/> данные о патентах-аналогах указаны в приложении</p>																			
<p>* Особые категории ссылочных документов:</p> <p>“А” документ, определяющий общий уровень техники и не считающийся особо релевантным</p> <p>“Е” более ранняя заявка или патент, но опубликованная на дату международной подачи или после нее</p> <p>“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)</p> <p>“O” документ, относящийся к устному раскрытию, использованию, экспонированию и т.д.</p> <p>“P” документ, опубликованный до даты международной подачи, но после даты испрашиваемого приоритета</p>	<p>“T” более поздний документ, опубликованный после даты международной подачи или приоритета, но приведенный для понимания принципа или теории, на которых основывается изобретение</p> <p>“X” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает новизной или изобретательским уровнем, в сравнении с документом, взятым в отдельности</p> <p>“Y” 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</p> <p>“&” документ, являющийся патентом-аналогом</p>																		
<p>Дата действительного завершения международного поиска</p> <p style="text-align: center;">24 апреля 2016 (24.04.2016)</p>	<p>Дата отправки настоящего отчета о международном поиске</p> <p style="text-align: center;">02 июня 2016 (02.06.2016)</p>																		
<p>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</p>	<p>Уполномоченное лицо: Полякова С. Телефон № 499-240-25-91</p>																		