

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 047299

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.06.27

(21) Номер заявки
201992413

(22) Дата подачи заявки
2018.04.04

(51) Int. Cl. A61K 45/06 (2006.01)
A61K 31/4196 (2006.01)
A61K 31/4439 (2006.01)
A61P 31/10 (2006.01)

(54) ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМБИНАЦИЯ ТРИТЕРПЕНОИДНОГО ПРОИЗВОДНОГО ЭНФУМАФУНГИНА С ИЗАВУКОНАЗОЛОМ И ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ИНВАЗИВНОГО АСПЕРГИЛЛЕЗА ЛЕГКИХ

(31) 62/483,647

(32) 2017.04.10

(33) US

(43) 2020.03.16

(86) PCT/US2018/026088

(87) WO 2018/191077 2018.10.18

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
САЙНЕКСИС, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Ангуло Гонсалес Давид А. (US)

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

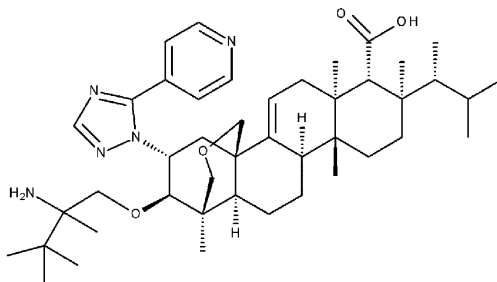
(56) WO-A1-2010019204
WO-A1-2010019203
CECILE CLAUD ET AL.: "ABSTRACT",
ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY,
vol. 56, no. 6, 12 June 2012 (2012-06-12), pages
3428-3431, XP055490175, US ISSN: 0066-4804, DOI:
10.1128/AAC.05661-11 figure 2

MARIA SIOPI ET AL.: "Dose optimization
of voriconazole/anidulafungin combination against
Aspergillus fumigatus using an in vi tro
pharmacokinetic/pharmacodynamic model and response
surface analysis:clinical implications for azole-resistant
aspergillosis", JOURNAL OF ANTIMICROBIAL
CHEMOTHERAPY, vol. 71, no. 11, 25 July 2016
(2016-07-25), pages 3135-3147, XP055480953, GB ISSN:
0305-7453, DOI: 10.1093/jac/dkw276 page 3143, column 2

PFALLER M A ET AL.: "In vitro
activity of a Hos2 deacetylase inhibitor,
MGCD290, in combination with echinocandins against
echinocandin-resi stantCandidaspecies", DIAGNOSTIC
MICROBIOLOGY AND INFECTIOUS DISEASE,
ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 81, no. 4,
25 November 2014 (2014-11-25), pages 259-263,
XP029146854, ISSN: 0732-8893, DOI: 10.1016/
J.DIAGMICROBIO.2014.11.008 table 3

ANTIGONI ELEFANTI ET AL.: "Amphotericin
B-and Voriconazole-Echinocandin Combinations against
Aspergillus spp.: Effect of Serum on Inhibitory and
Fungicidal Interactions", ANTIMICROBIAL AGENTS
AND CHEMOTHERAPY, vol. 57, no. 10, 1 October
2013 (2013-10-01), pages 4656-4663, XP055480958, ISSN:
0066-4804, DOI: 10.1128/AAC.00597-13 table 1
WO-A1-2016079536

(57) Изобретение относится к фармацевтическим комбинациям первого терапевтического средства, которое представляет собой соединение формулы (II) со вторым терапевтическим средством, которое представляет собой изавуконазол. Изобретение также относится к способу лечения инвазивного аспергиллеза легких у нуждающегося в этом субъекта, включающему введение субъекту указанных фармацевтических комбинаций.



(II)

B1

047299

047299 B1

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к применению тритерпеноидных противогрибковых соединений - производных энфумафунгина в комбинации с другими противогрибковыми средствами, такими как азолы, полиены, липопептиды и алиламидамы, для лечения грибковых заболеваний. Более конкретно, изобретение относится к противогрибковым комбинациям тритерпеноидов -производных энфумафунгина (или их фармацевтически приемлемых солей), которые являются ингибиторами синтеза (1,3)- β -D-глюкана, в комбинации с другими противогрибковыми средствами, такими как средства, активные в отношении грибковой плесени, которые обладают активностью против плесневых грибов, включая, но не ограничиваясь этим, вориконазол, изавуконазол, позаконазол, итраконазол и амфотерицин В, для лечения и/или профилактики инфекций, вызванных плесневыми грибами.

Предпосылки создания изобретения

Грибковые инфекции, вызванные плесневыми грибами, являются серьезной проблемой здравоохранения с высокой смертностью, связанной с такими инфекциями. Некоторые плесневые грибы, включая виды *Aspergillus*, *Zygomycetes*, *Fusarium* и виды *Scedosporium*, могут вызывать системные грибковые инфекции. Среди них, *Aspergillus* spp. является наиболее распространенным, являющийся причиной 85% случаев. Инвазивный аспергиллез легких представляет собой опасную для жизни инфекцию для пациентов с ослабленным иммунитетом, с высокими показателями смертности (диапазон 20-40%), несмотря на доступность противогрибковых средств, обладающих активностью в отношении возбудителя (*Aspergillus* spp.). Первым рекомендуемым вариантом лечения инвазивного аспергиллеза являются активные в отношении плесневых грибов азоловые противогрибковые средства (например, вориконазол, изавуконазол, позаконазол и итраконазол). Препараты амфотерицина В являются вторичным вариантом из-за значительной почечной токсичности. Несмотря на наличие активных в отношении плесневых грибов противогрибковых средств, результаты лечения не являются оптимальными, что часто приводит к неэффективности лечения и смертности.

Кроме того, появились азол-резистентные виды *Aspergillus*, что еще больше ограничивает терапевтические возможности для пациентов. Необходимы другие и более эффективные подходы к лечению, и важную роль может играть комбинированная терапия. Комбинированная терапия, чтобы быть эффективной, должна включать противогрибковые средства, которые при совместном введении проявляют синергетическое взаимодействие, которое может потенциально повысить противогрибковую эффективность, снизить токсичность, быстрее вылечить, предотвратить или избежать появления резистентности и/или обеспечить противогрибковую активность более широкого спектра по сравнению с режимами монотерапии. Однако комбинированная терапия также может быть вредной в случае антагонистических взаимодействий, снижения противогрибковой эффективности и повышения токсичности.

Энфумафунгин представляет собой гемиацетальный тритерпеновый гликозид, который продуцируется при ферментациях *Normonema* spp., связанных с живыми листьями *Juniperus communis* (патент США № 5756472; Pelaez et al., *Systematic and Applied Microbiology*, 23:333-343, 2000; Schwartz et al., *JACS*, 722:4882-4886, 2000; Schwartz, R.E., *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 11 (11).1761-1772, 2001). Энфумафунгин является одним из нескольких тритерпеновых гликозидов, которые обладают противогрибковыми активностями *in vitro*. Способ противогрибкового действия энфумафунгина и других противогрибковых тритерпеноидных гликозидов был определен как ингибирование синтеза глюкана клеточной стенкой грибов за счет их специфического действия на (1,3)- β -D-глюкансинтазу (Onishi et al., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44:368-377, 2000; Pelaez et al., *Systematic and Applied Microbiology*, 23:333-343, 2000). (1,3)- β -D-глюкансинтаза остается привлекательной мишенью для действия противогрибкового лекарственного средства, поскольку она присутствует во многих патогенных грибах и, таким образом, обеспечивает широкий противогрибковый спектр; кроме того, нет аналога у млекопитающих, и, следовательно, эти соединения имеют небольшую основанную на механизме токсичность или не имеют ее вообще. Производные тритерпеноидного соединения энфумафунгина, относящиеся к данному изобретению, продемонстрировали активность против грибковых изолятов, которые резистентны к другим ингибиторам глюкансинтазы (например, липопептидным средствам, таким как эхинокандины), указывая на то, что биологическая и молекулярная мишень производных энфумафунгина отличается от мишени других ингибиторов глюкансинтазы.

Различные производные энфумафунгина раскрыты, например, в международных патентных публикациях WO 2007/126900 и WO 2007/127012.

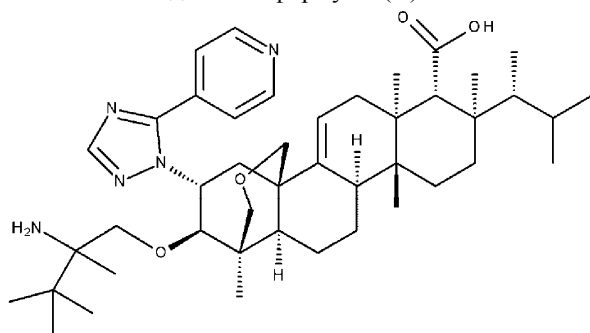
В предыдущих исследованиях была оценена эффективность других противогрибковых средств в комбинации для лечения инфекций *Aspergillus* spp., но не были убедительно продемонстрированы улучшенные результаты (Marg K, et al., *Ann Intern Med*. 2015;162:81-89). Эти субоптимальные результаты комбинированной терапии доступных противогрибковых средств могут быть связаны с отсутствием пероральных препаратов (например, для эхинокандинов и амфотерицина В), ограничивающих их длительное применение (длительное применение часто является необходимым для лечения инфекций, вызванных плесневыми грибами), и появлением резистентности, особенно к азолам (единственные средства, доступные для перорального и внутривенного введения при инфекциях *Aspergillus*). Другие ограничения

доступных в настоящее время противогрибковых средств для лечения инфекций, вызванных плесневыми грибами, включают высокий риск взаимодействий азолов с другими лекарственными средствами и почечную токсичность, связанную с амфотерицином В. В данной области существует потребность в противогрибковых комбинациях, которые обеспечивают улучшенные результаты лечения и выживания при грибковых инфекциях и которые пригодны для длительной комбинированной терапии, необходимой для лечения инфекций, вызванных плесневыми грибами. В данной области также существует потребность в безопасных и эффективных противогрибковых средствах, которые можно использовать в комбинации, которая может позволить уменьшить использование амфотерицина В и азолов (например, путем уменьшения суточной дозы или сокращения продолжительности лечения), сводя к минимуму риск связанной с этим токсичности.

Сущность изобретения

Настоящее изобретение относится к производным энфумафунгина, используемым в комбинации с другими активными в отношении плесневых грибов противогрибковыми средствами для лечения и/или профилактики инфекций, вызванных плесневыми грибами. Производные энфумафунгина и их фармацевтически приемлемые соли являются полезными для ингибирования (1,3)- β -D-глюкансинтазы и полезны в комбинации с другими средствами, активными в отношении плесневых грибов, в профилактике или лечении грибковых инфекций, вызванных одним или несколькими различными патогенами, включая, но не ограничиваясь этим, виды *Aspergillus*, *Mucor*, *Fusarium* и *Scedosporium*. Настоящее изобретение направлено на удовлетворение потребностей в данной области, таких как описанные выше, по меньшей мере, потому что производные энфумафунгина активны в отношении азол-резистентных штаммов *Aspergillus*, их можно вводить как внутривенно, так и перорально и они имеют очень низкий риск взаимодействий с другими лекарственными средствами, и их использование в описанных в настоящем изобретении комбинациях преодолевает ограничения других противогрибковых соединений и комбинаций.

Настоящее изобретение предоставляет фармацевтические комбинации (а) первого терапевтического средства, которое представляет собой соединение формулы (II):



(II)

которое представляет собой (1S,4aR,6aS,7R,8R,10aR,10bR,12aR,14R,15R)-15-[[2-амино-2,3,3-триметилбутил]окси]-8-[(1R)-1,2-диметилпропил]-14-[5-(4-пиридинил)-1H-1,2,4-триазол-1-ил]-1,6,6a,7,8,9,10,10a,10b,11,12,12a-додекагидро-1,6a,8,10a-тетраметил-4H-1,4a-пропано-2H-фенантро[1,2-c]пиран-7-карбоновую кислоту, или его фармацевтически приемлемую соль; и

(b) второго терапевтического средства, которое представляет собой изавуконазол.

Изобретение также предоставляет способы лечения инвазивного аспергиллеза легких у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту указанной фармацевтической комбинации.

Краткое описание чертежей

Фиг. 1 представляет график, показывающий кумулятивную вероятность выживания в исследовании новозеландских белых кроликов, инокулированных изолятом *Aspergillus fumigatus*, которых не обрабатывали противогрибковым средством (контроль) или которых затем обрабатывали в отдельности SCY-078, в отдельности изавуконазолом или комбинацией SCY-078 и изавуконазола.

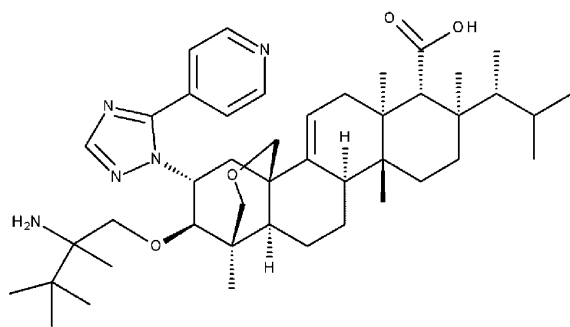
Фиг. 2 представляет график, показывающий оценки инфаркта легкого в исследовании, на которое ссылаются на фиг. 1.

Фиг. 3 представляет график, показывающий уровни галактоманнанового антигена, обнаруженные в сыворотке крови кроликов в исследовании, на которое ссылаются на фиг. 1.

Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение обеспечивает комбинации

(а) первого терапевтического средства, которое представляет собой соединение формулы (II):



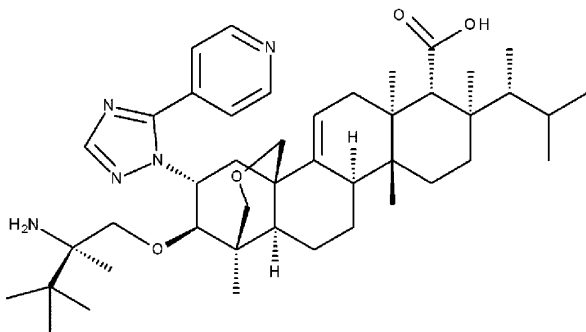
(II)

которое представляет собой (1S,4aR,6aS,7R,8R,10aR,10bR,12aR,14R,15R)-15-[[2-амино-2,3,3-триметилбутил]окси]-8-[(1R)-1,2-диметилпропил]-14-[5-(4-пиридинил)-7H-1,2,4-триазол-1-ил]-1,6,6a,7,8,9,10,10a,10b,11,12,12a-додекагидро-1,6a,8,10a-тетраметил-4H-1,4a-пропано-2H-фенантро[1,2-c]пиран-7-карбоновую кислоту,

или его фармацевтически приемлемую соль; и

(b) второго терапевтического средства, которое представляет собой изавуконазол. В предпочтительных вариантах осуществления настоящее изобретение обеспечивает комбинацию

(a) соединения формулы (IIa) (далее называемого SCY-078):



(IIa)

которое представляет собой (1S,4aR,6aS,7R,8R,10aR,10bR,12aR,14R,15R)-15-[[2(2R)-амино-2,3,3-триметилбутил]окси]-8-[(1R)-1,2-диметилпропил]-14-[5-(4-пиридинил)-7H-1,2,4-триазол-1-ил]-1,6,6a,7,8,9,10,10a,10b,11,12,12a-додекагидро-1,6a,8,10a-тетраметил-4H-1,4a-пропано-2H-фенантро[1,2-c]пиран-7-карбоновую кислоту,

или его фармацевтически приемлемой соли; и

(b) второго терапевтического средства, которое представляет собой изавуконазол.

В других предпочтительных вариантах осуществления настоящее изобретение обеспечивает комбинацию, где первое терапевтическое средство и второе терапевтическое средство присутствуют в количествах, делающих фармацевтическую комбинацию эффективной для лечения инфекции *Aspergillus* у нуждающегося в этом субъекта.

В других предпочтительных вариантах осуществления настоящее изобретение обеспечивает комбинацию, где первое терапевтическое средство и второе терапевтическое средство присутствуют в количествах, делающих фармацевтическую комбинацию эффективной для лечения инвазивного аспергиллеза легких у нуждающегося в этом субъекта.

В других предпочтительных вариантах осуществления настоящее изобретение обеспечивает комбинацию, где первое терапевтическое средство и второе терапевтическое средство присутствуют в количествах, делающих фармацевтическую комбинацию эффективной для профилактики инфекции *Aspergillus* у нуждающегося в этом субъекта.

В других предпочтительных вариантах осуществления настоящее изобретение обеспечивает комбинацию, где первое терапевтическое средство и второе терапевтическое средство присутствуют в количествах, делающих фармацевтическую комбинацию эффективной для профилактики инвазивного аспергиллеза легких у нуждающегося в этом субъекта.

Другие варианты осуществления настоящего изобретения включают:

(hh) Способ лечения инвазивного аспергиллеза легких у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту комбинации: первого терапевтического средства, которое представляет собой соединение формулы (II) или (IIa) или его фармацевтически приемлемую соль; и второго терапевтического средства, которое представляет собой изавуконазол.

(ii) Способ по пункту (hh), где первое терапевтическое средство вводят последовательно со вторым

терапевтическим средством.

(jj) Способ по пункту (hh), где первое терапевтическое средство вводят одновременно со вторым терапевтическим средством.

В описании соединений в вариантах осуществления, изложенных выше, указанные замещения включены только в той степени, в которой заместители обеспечивают стабильные соединения, соответствующие определению.

Соединения формулы (II) и (IIa) и их фармацевтически приемлемые соли обладают противомикробной (например, противогрибковой) активностью против *Aspergillus* (например, *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus* и *Aspergillus versicolor*). Соединения особенно эффективны против *Aspergillus flavus* и *Aspergillus fumigatus*.

Ввиду их противогрибковой активности соединения формулы (II) и (IIa) и их фармацевтически приемлемые соли и/или гидратные формы полезны для лечения и/или профилактики одной или нескольких различных поверхностных, кожных, подкожных и системных грибковых инфекций кожи, глаз, волос, ногтей, слизистой оболочки полости рта, желудочно-кишечного тракта, бронхов, легких, эндокарда, мозга, оболочки головного мозга, органов мочевого выделения, влагалища, ротовой полости, офтальмологических и системных инфекций, почек, бронхов, сердца, наружного слухового канала, кости, полости носа, параназальной полости, селезенки, печени, подкожной ткани, лимфатического протока, желудочно-кишечного тракта, суставов, мышц, сухожилий, интерстициальных плазматических клеток в легких, крови и т.д.

Поэтому соединения формулы (II) и (IIa) и их фармацевтически приемлемые соли и/или гидратные формы, полезны для профилактики и лечения одного или нескольких различных инфекционных заболеваний, таких как дерматофитоз (например, трихофития, стригущий лишай или дерматомироз), стопа атлета, паранихия, отрубевидный лишай, эритразма, интертриго, грибковый пеленочный дерматит, кандидозный вульвит, кандидозный баланит, наружный отит, кандидоз (кожный и кожно-слизистый), хронический мукокандиоз (например кандидоз полости рта и вагинальный кандидоз), криптококкоз, геотрихоз, трихоспория, аспергиллез, пенициллез, фузариоз, зигомикоз, споротрихоз, хромомироз, кокцидиоидомикоз, гистоплазмоз, бластомикоз, паракокцидиоидомикоз, псевдаллешериоз, мицетома, микотический кератит, отомироз, пневмоцистоз и фунгемия. Соединения также можно использовать в качестве профилактических средств для предотвращения системных и местных грибковых инфекций. Использование в качестве профилактических средств, например, может быть подходящим в качестве части режима селективной деконтаминации кишечника при профилактике инфекции у пациентов с ослабленным иммунитетом (например, пациентов со СПИДом, пациентов, получающих терапию рака или пациентов с трансплантацией). Предотвращение чрезмерного роста грибов во время лечения антибиотиками также может быть желательным при некоторых синдромах заболевания или ятрогенных состояниях.

Соединения формулы (II) и (IIa) и их фармацевтически приемлемые соли и можно получить в соответствии со способами синтеза, раскрытыми в патенте США № 8188885, содержание которого включено в настоящее изобретение посредством ссылки в полном объеме.

"Стабильное" соединение представляет собой соединение, которое может быть получено и выделено, и структура и свойства которого остаются или могут оставаться или практически не изменяться в течение периода времени, достаточного для обеспечения возможности использования соединения для целей, описанных в настоящем изобретении (например, терапевтическое или профилактическое введение субъекту). Ссылка на соединение также включает стабильные комплексы соединения, такие как стабильный гидрат.

В результате выбора заместителей и структуры заместителей некоторые из соединений формул (II) и (IIa) могут иметь асимметричные центры и могут встречаться в виде смесей стереоизомеров или отдельных диастереомеров или энантиомеров. Если не указано иное, все изомерные формы этих соединений (и их фармацевтически приемлемые соли), выделенные или в смесях, входят в объем настоящего изобретения. Также в объем настоящего изобретения включены таутомерные формы соединений, как изображено (и их фармацевтически приемлемые соли).

Соединения формулы (II) и (IIa) и их фармацевтически приемлемые соли также полезны для подготовки и осуществления анализов скрининга на противогрибковые соединения. Например, соединения полезны для выделения мутантов, которые являются отличными инструментами скрининга для идентификации дополнительных противогрибковых соединений.

Соединения формулы (II) и (IIa) можно вводить в форме "фармацевтически приемлемых солей" или гидратов, в зависимости от ситуации. Однако другие соли могут быть полезны при получении соединений или их фармацевтически приемлемых солей. Например, когда соединения содержат основную аминогруппу, их можно удобно выделить в виде солей трифторуксусной кислоты (например, после очистки при помощи ВЭЖХ). Преобразование солей трифторуксусной кислоты в другие соли, включая фармацевтически приемлемые соли, можно осуществить при помощи ряда стандартных способов, известных в данной области. Например, для получения желаемой соли можно использовать подходящую ионообменную смолу. Альтернативно, преобразование соли трифторуксусной кислоты в исходный свободный амин может быть осуществлено стандартными способами, известными в данной области (например, нейтрал-

зацией подходящим неорганическим основанием, таким как NaHCO_3). Другие желаемые соли аминов затем могут быть получены обычным способом путем взаимодействия свободного основания с подходящей органической или неорганической кислотой. Типичные фармацевтически приемлемые соли четвертичного аммония включают следующие: гидрохлорид, сульфат, фосфат, карбонат, ацетат, тартрат, цитрат, малат, сукцинат, лактат, стеарат, фумарат, гиппурат, малеат, глюконат, аскорбат, адипат, глицерат, глутамат, глюкуронат, пропионат, бензоат, мезилат, тозилат, олеат, лактобионат, лаурилсульфат, бисилат, каприлат, изетионат, гентизат, малонат, напсилат, эдисилат, памоат, ксинафоат, нападисилат, гидробромид, нитрат, оксалат, циннамат, манделат, ундециленат и камсилат. Многие из соединений формулы (II) и (IIa) содержат кислотную группу карбоновой кислоты, и в этом случае их подходящие фармацевтически приемлемые соли могут включать соли с щелочными металлами, например, соли натрия или калия; соли с щелочноземельными металлами, например соли кальция или магния; и соли, образованные с подходящими органическими лигандами, например соли четвертичного аммония.

Термин "введение" и его варианты (например, "осуществление введения" соединения) означают предоставление соединения или пролекарства соединения субъекту, нуждающемуся в лечении. Когда соединение формулы (II) и (IIa) или его фармацевтически приемлемая соль, или его гидрат или пролекарство обеспечивается в комбинации со вторым активным средством (например, другими противогрибковыми и/или антибактериальными средствами, полезными для лечения грибковых и/или бактериальных инфекций), "введение" и его варианты каждый следует понимать как включающий одновременное и последовательное обеспечение соединения (или его соли, гидрата или пролекарства) и другого активного средства.

В контексте настоящего изобретения термин "композиция" предназначен для охвата продукта, включающего указанные ингредиенты, а также любого продукта, который прямо или косвенно получают в результате объединения указанных ингредиентов.

Под "фармацевтически приемлемым" подразумевают, что ингредиенты фармацевтической композиции должны быть совместимы друг с другом и не причинять вреда реципиенту.

Термин "субъект" (альтернативно указанный в настоящем изобретении как "пациент") в контексте настоящего изобретения относится к животному, предпочтительно млекопитающему, наиболее предпочтительно человеку, который был объектом лечения, наблюдения или эксперимента.

Термин "синергетический" относится к эффекту соединения формулы (II) или (IIa) или его фармацевтически приемлемой соли, или его гидрата или пролекарства, обеспечиваемому в комбинации со вторым активным противогрибковым средством для предотвращения, сдерживания развития или лечения расстройства, когда такой эффект лучше или более благоприятен или более выражен, чем аддитивные эффекты отдельных терапий. Синергетический эффект комбинации терапий может позволить использовать более низкие дозы одной или нескольких индивидуальных терапий и/или менее частое введение терапий субъекту с расстройством. Возможность использовать более низкие дозы терапевтического средства и/или вводить терапевтическое средство реже снижает токсичность, связанную с введением терапии субъекту, без снижения эффективности терапии при профилактике или лечении расстройства. Кроме того, синергетический эффект может привести к повышению эффективности средств при профилактике или лечении расстройства. Наконец, синергетический эффект комбинации терапий может позволить избежать или уменьшить неблагоприятные или нежелательные побочные эффекты, связанные с использованием любой терапии отдельно.

Термин "эффективное количество" в контексте настоящего изобретения означает количество активного ингредиента или фармацевтического средства, которое вызывает биологический или лекарственный ответ в ткани, системе, организме животного или человека, которого добивается исследователь, ветеринар, лечащий врач или другой клиницист. В одном варианте осуществления "эффективное количество" может представлять собой терапевтически эффективное количество, которое облегчает симптомы заболевания или состояния, подлежащего лечению. В другом варианте осуществления "эффективное количество" может представлять собой профилактически эффективное количество для профилактики симптомов заболевания или состояния, которое нужно предотвратить, или для уменьшения вероятности его возникновения. Термин может также относиться к уровню эффекта ингибирования производного энфумафунгина, достаточному для ингибирования (1,3)- β -D-глюкансинтазы, и тем самым вызывая желаемый ответ. Термин также может относиться к количеству второго противогрибкового средства, такого как средство, активное в отношении плесневых грибов, достаточному для ингибирования роста плесневых грибов. Термин также может относиться к количеству производного энфумафунгина и второго средства, которое при введении в комбинации является достаточным для ингибирования роста плесневых грибов, вызывая, таким образом, желаемый ответ (например, терапевтически эффективное количество, профилактически эффективное количество или эффективное для ингибирования количество). Когда производные энфумафунгина и второе противогрибковое средство вводят в форме соли, ссылки на количества этих соединений относятся к соединениям в форме свободной кислоты или свободного основания.

В целях профилактики или лечения грибковой инфекции комбинированную терапию, включающую первое противогрибковое средство, которое представляет собой соединение формулы (II) или (IIa) (необязательно в форме соли), и второе противогрибковое средство, можно вводить любым способом, кото-

рый обеспечивает контакт активного средства с участком действия средства. Первое и второе средства можно вводить общепринятыми способами, доступными для использования в сочетании с фармацевтическими препаратами, либо в виде отдельных терапевтических средств, либо в виде комбинации терапевтических средств. Их можно вводить в отдельности, но в соответствии с обычной практикой можно вводить с фармацевтическим носителем, выбранным на основании выбранного пути введения и стандартной фармацевтической практики. Их можно вводить одновременно или последовательно на протяжении части или всего режима противогрибковой терапии любым приемлемым путем введения, подходящим для предполагаемой цели. Например: первое и второе средства можно вводить внутривенно, перорально или местно; или одно внутривенно, а другое перорально; или одно перорально, а другое местно; или в любой комбинации способов введения, которые могут быть подходящими для лечения грибковой инфекции или ее предотвращения. Например: в случае инвазивного аспергиллеза предпочтительный путь введения будет внутривенным и/или пероральным; при грибковой инфекции кожи противогрибковые соединения можно вводить либо оба местно, либо одно перорально, а другое местно; при глазной грибковой инфекции, противогрибковые средства можно вводить либо оба местно, либо одно внутривенно или перорально, а другое местно. Например, соединения формулы (II) и (IIIa) и их фармацевтические соли и/или гидратные формы и второе противогрибковое средство можно вводить одним или несколькими из следующих способов: перорально, парентерально (включая подкожные инъекции, внутривенные, внутримышечные, интратеральные инъекции или методы инфузии), путем ингаляции (например, назальный или буккальный ингаляционный спрей, аэрозоли из дозирующего ингалятора и ингалятора сухого порошка), через небулайзер, путем глазного введения, местно, трансдермально или ректально, в форме стандартной дозы фармацевтической композиции, содержащей эффективное количество соединения и обычные нетоксичные фармацевтически приемлемые носители, адъюванты и наполнители. Жидкие препараты, подходящие для перорального введения (например, суспензии, сиропы, эликсиры и т.п.), можно получить в соответствии с методиками, известными в данной области, и можно использовать обычные среды, такие как вода, гликоли, масла, спирты и т.п. Твердые препараты, подходящие для перорального введения (например, порошки, пилюли, капсулы и таблетки), можно получить в соответствии с методиками, известными в данной области техники, и можно использовать такие твердые наполнители, как крахмалы, сахара, каолин, смазывающие вещества, связующие, разрыхлители и т.п. Парентеральные композиции можно получить в соответствии с методиками, известными в данной области, и обычно в качестве носителя используют стерильную воду и, необязательно, другие ингредиенты, такие как вещество, способствующее растворимости. Растворы для инъекций могут быть получены в соответствии со способами, известными в данной области техники, в которых носитель включает физиологический раствор, раствор глюкозы или раствор, содержащий смесь физиологического раствора и глюкозы.

Более подробное описание способов, подходящих для использования для получения фармацевтических композиций, и ингредиентов, подходящих для использования в указанных композициях, представлено в Remington's Pharmaceutical Sciences, 20th издание, под редакцией A. R. Gennaro, Mack Publishing Co., 2000.

Соединения формулы (II) и (IIIa) и их фармацевтически приемлемые соли и/или гидратные формы, можно вводить, например, перорально или внутривенно, в диапазоне доз, например, 0,001-1000 мг/кг массы тела млекопитающего (например, человека) в день в виде разовой дозы или дробных доз. Пример диапазона доз составляет 0,01-500 мг/кг массы тела в день перорально или внутривенно в виде разовой дозы или дробных доз. Другой пример диапазона доз составляет 0,1-100 мг/кг массы тела в день перорально или внутривенно в виде разовой дозы или дробных доз. Для перорального введения композиции могут быть представлены в форме таблеток или капсул, содержащих, например, от 1,0 до 1000 мг активного ингредиента, в частности 1, 5, 10, 15, 20, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 750 и 1000 мг активного ингредиента, для симптоматической корректировки дозировки пациенту, подлежащему лечению. Конкретный уровень дозы и частота приема для каждого конкретного пациента могут варьироваться и будут зависеть от множества факторов, включая активность конкретного используемого соединения, метаболическую стабильность и продолжительность действия этого соединения, возраст, массу тела, общее состояние здоровья, пол, режим питания, способ и время введения, скорость экскреции, комбинацию лекарственных средств, тяжесть конкретного состояния и реципиента, принимающего лечение.

Второе противогрибковое средство, которое представляет собой изавуконазол, можно вводить (например, перорально или внутривенно) в диапазоне доз, например, 0,001-1000 мг/кг массы тела млекопитающего (например, человека) в день в виде разовой дозы или дробных доз, более предпочтительно в диапазоне доз 0,01-100 мг/кг. Пример диапазона доз составляет 1-100 мг/кг массы тела в день перорально или внутривенно в виде разовой дозы или дробных доз. Для перорального введения композиции могут быть представлены в форме (например) таблеток, суспензий, растворов или капсул, содержащих, например, 1,0-500 мг активного ингредиента, в частности 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 375, 400 и 500 мг активного ингредиента, для симптоматической корректировки дозировки пациенту, подлежащему лечению. Конкретный уровень дозы и частота приема для каждого конкретного пациента могут варьироваться и будут зависеть от множества факторов, включая активность конкретного используемого соединения, метаболическую стабильность и продолжительность действия этого соединения, возраст, массу тела,

общее состояние здоровья, пол, режим питания, способ и время введения, скорость выведения, комбинацию лекарственных средств, тяжесть конкретного состояния и реципиента, принимающего лечение. Для внутривенного введения композиции могут быть представлены в форме (например) растворов, суспензий или других приемлемых фармацевтических форм, содержащих, например, от 1,0 до 500 мг активного ингредиента. Для местного введения второе противогрибковое средство может быть представлено в форме (например) крема, раствора, мази, пены, порошка, лака, эмульсии или других фармацевтически приемлемых форм, содержащих, например, 0,001-900 мг активного ингредиента на грамм продукта.

Противогрибковая активность соединений может быть продемонстрирована в различных анализах, известных в данной области, например, на основании их ингибирующей активности в отношении синтеза глюкозы (IC_{50}), минимальной ингибирующей концентрации (МИС) и минимальной эффективной концентрации (МЕС) против нитевидных плесеней и дерматофитов в анализе микроразведения в бульоне, или в анализах активности *in vivo* против *Aspergillus* на мышках или кроликах. В основном было найдено, что соединения формулы (I), представленные в примерах патента США № 8188885, показывают МЕС против *Aspergillus fumigatus* в диапазоне <0,03-32 мкг/мл.

Примеры

Следующие примеры служат только для иллюстрации изобретения и его практического осуществления. Примеры не должны рассматриваться как ограничения объема или сущности изобретения.

Испытание комбинаций.

Взаимодействия между различными лекарственными средствами описано по-разному как синергическое, индифферентное или антагонистическое. Оценки взаимодействий лекарственных средств *in vitro* обычно основаны на теории "отсутствия взаимодействия", которая предполагает, что лекарственные средства в комбинации не взаимодействуют друг с другом и поэтому считаются индифферентными. Когда наблюдаемый эффект комбинации лекарственных средств больше, чем тот, что предсказан теорией "отсутствия взаимодействия", то заявляется синергизм. С другой стороны, антагонизм заявляется, когда наблюдаемый эффект меньше предсказанного.

Чтобы определить тип взаимодействия между репрезентативным соединением производных энфумафунгина (SCY-078) с несколькими противогрибковыми средствами против *Aspergillus fumigatus*, грибка, наиболее часто вызывающего инвазивное заболевание у людей, использовали метод шахматной доски. В исследованиях использовали цитратную соль соединения.

Метод шахматной доски включает определение процента ингибирования роста грибковых клеток в присутствии различных комбинаций лекарственных средств. Процент ингибирования роста рассчитывают относительно роста в контрольных лунках, которые содержат только клетки и не содержат лекарственного средства. Анализ осуществляли в 96-луночных микропланшетах, в которых каждый ряд и каждая колонка содержали двукратные серийные разведения лекарственного средства А и лекарственного средства В в диапазоне концентраций от 0 до немного выше их минимальной ингибирующей концентрации (МИС). В каждой лунке была уникальная комбинация из 2 препаратов. Затем инокулят добавляли в каждую лунку и рост оценивали после 48-часовой инкубации, чтобы определить первую лунку, в которой рост был ингибирован. После определения МИС противогрибковых средств в комбинации методом шахматной доски осуществляли дальнейший анализ с использованием непараметрического индекса фракционной ингибирующей концентрации (FICI), который определяли с использованием следующего уравнения:

$$FICI = \left(\frac{\text{МИС лекарственного средства А в комбинации}}{\text{МИС лекарственного средства А}} \right) + \left(\frac{\text{МИС лекарственного средства В в комбинации}}{\text{МИС лекарственного средства В}} \right)$$

где МИС-А и МИС-В представляют собой МИС лекарственных средств А и В, соответственно. В соответствии с терминологией Odds (Odds, F. C. 2003. Synergy, antagonism and what the checkerboard puts between them. *J. Antimicrob. Chemother.* 52:1), значение FICI равное или меньше 0,5, считается синергизмом, значение FICI более 4,00 считается антагонизмом, а значение FICI в диапазоне от 0,5 до 4,0 считается отсутствием взаимодействия.

Каждое из лекарственных средств первоначально разбавляли либо в стерильной дистиллированной воде, либо в DMSO, в зависимости от того, было ли лекарственное средство водорастворимым или нерастворимым в воде, соответственно. Поскольку SCY-078 не растворяется в воде, использовали нерастворимый в воде препарат.

Исходный раствор SCY-078 получали в DMSO при концентрации в 200 раз превышающей желаемую для использования в планшетах с лекарственными средствами. Серийные разведения исходного раствора осуществляли в DMSO для получения одиннадцати 2-кратных разведений лекарственного средства. Затем раствор SCY-078 разбавляли 4-кратно до желаемой концентрации в среде RPMI-1640 так, чтобы DMSO не ограничивал рост организма, и чтобы количество DMSO было одинаковым для каждого разведения.

Для испытания комбинации необходимы два 96-луночных планшета. Используя многоканальную пипетку, 50 мкл самой низкой концентрации первого лекарственного средства (лекарственное средство А) добавляли в каждую лунку колонки 1 первого планшета (планшет А) и колонки 1 второго планшета (планшет В; ряды А - D). Затем 50 мкл следующего самого высокого рабочего разведения лекарственного средства А добавляли в каждую лунку в колонке 2, продолжая разведения до тех пор, пока все колонки 1-11 не были заполнены. Колонка 12 осталась пустой. 50 мкл самой низкой концентрации лекарственного средства В добавляли в каждую лунку в ряду D планшета В. 50 мкл следующего самого высокого рабочего разведения лекарственного средства В добавляли в каждую лунку в ряду С планшета В, продолжая разведения, пока все ряды до ряда В планшета А не были заполнены. Ряд А планшета А не содержал лекарственного средства В. 50 мкл RPMI добавляли в ряд А и колонку 12 (лунка А-12 содержала 100 мкл просто RPMI).

Так же, как описано выше, в каждую лунку добавляли 100 мкл инокулята организма. Планшеты затем инкубировали в течение 48 ч и визуально считывали после инкубации.

Цель исследования состояла в том, чтобы определить, приведет ли комбинация SCY-078 с вориконазолом, изавуконазолом или амфотерицином В к объединенной противогрибковой активности *in vitro*, превышающей сумму активностей каждого лекарственного средства в отдельности. MIC комбинаций определяли с использованием анализа в формате шахматной доски, описанного выше.

Материалы.

Испытываемые изоляты: испытывали следующие шесть клинических штаммов *Aspergillus* (4 дикого типа и 2 резистентных):

Штаммы дикого типа.

A. fumigatus MRL# 20438

A. fumigatus MRL# 28382

A. fumigatus MRL# 28401

A. fumigatus MRL# 28378

Резистентные штаммы

A. fumigatus MRL# 28383

A. fumigatus MRL# 28500

A. fumigatus 28500 имеет CYP51 мутацию на F46Y.

Противогрибковые средства: испытывали следующие комбинации:

SCY-078 + вориконазол,

SCY-078 + изавуконазол,

SCY-078 + амфотерицин В.

Штаммы *A. fumigatus* получали из Справочной библиотеки по микологии (MRL) в Школе медицины Западного резервного университета Кейза, штат Огайо, США. SCY-078 был изготовлен Avista Laboratories, Северная Каролина, США. Вориконазол, изавуконазол и амфотерицин В получали от коммерческих поставщиков.

Методы.

Первоначальные определения MIC отдельных противогрибковых средств осуществляли в соответствии со стандартом M38-A2 Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI) для тестирования чувствительности мицелиальных грибов.

Определение MIC комбинаций осуществляли методом шахматной доски в соответствии с Center for Medical Mycology SOP A11.3. Метод шахматной доски для испытания комбинаций представляет собой модификацию испытания противогрибковой чувствительности с использованием микроразведений, в котором два испытываемых соединения объединяют в различных концентрациях, чтобы определить, имеют ли они синергетический, антагонистический или никакого эффекта на соответствующие MIC значения.

Противогрибковые средства серийно разбавляли двукратно в среде RPMI для получения одиннадцати концентраций каждого и объединяли в лунках микротитровального планшета. Включали два ряда, состоящие из серийных разведений каждого отдельного лекарственного средства. Все комбинации испытывали в двух повторах. Сравнение MIC отдельных лекарственных средств с MIC комбинированных средств свидетельствует об их относительной эффективности.

Эта интерпретация следовала рекомендациям Antivicrobial Agents and Chemotherapy, которые предлагают консервативную интерпретацию данных для комбинаций, полученных методом шахматной доски.

Результаты.

Табл. 1 представляет оценку FICI и интерпретацию для SCY-078 в комбинации с изавуконазолом против азол-чувствительных и резистентных испытанных изолятов *A. fumigatus* (испытания осуществляли в двух повторах). Против испытанных чувствительных изолятов комбинация SCY-078 и изавуконазола продемонстрировала синергизм во всех четырех испытанных изолятах. Против резистентного CYP51

мутантного штамма *A. fumigatus* 28500 и резистентного штамма 28383 комбинация SCY-078 с изавуконозолом не продемонстрировала никакого взаимодействия.

Табл. 2 представляет оценку FICI и интерпретацию для SCY-078 в комбинации с вориконазолом против азол-чувствительных и резистентных испытанных изолятов *A. fumigatus* (испытания осуществляли в двух повторах). Против испытанных чувствительных изолятов комбинация SCY-078 и вориконазола продемонстрировала синергизм против всех четырех оцениваемых изолятов. Комбинация SCY-078 и вориконазола показала отсутствие взаимодействия при испытании против резистентных изолятов *A. fumigatus*.

Табл. 3 представляет оценку FICI и интерпретацию для SCY-078 в комбинации с амфотерицином В против азол-чувствительных и резистентных испытанных изолятов *A. fumigatus* (испытания осуществляли в двух повторах). Комбинация SCY-078 и амфотерицина В продемонстрировала синергизм против всех чувствительных оцениваемых изолятов. В отношении резистентного изолята *A. fumigatus* 28383, SCY-078 в комбинации с амфотерицином В не продемонстрировали взаимодействия. Однако против мутантного штамма СУР51 (*A. fumigatus* 28500) комбинация SCY-078 с амфотерицином В продемонстрировала синергетическую активность.

Таблица 1

Значения MIC в отдельности и в комбинации для SCY-078 и изавуконозола против *A. fumigatus* (мкг/мл).

Значения MIC считывали через 48 ч и каждое испытание осуществляли в двух повторах

MRL	Орган изм	MIC для лекарственного средства в отдельности		MIC для лекарственного средства в комбинации		FICI оценка SCY-078/ Изавуконазол	Интерпретац ия
		SCY- 078	Изавукон азол	SCY- 078	Изавукона зол		
2043 8	<i>A. fumig atus</i>	4	1	0,016	0,5	0,50	Синергетиче ское действие
		4	1	0,016	0,5	0,50	Синергетиче ское действие
2837 8	<i>A. fumig</i>	4	1	0,125	0,125	0,16	Синергетиче ское
	<i>atus</i>						действие
		4	1	0,125	0,25	0,28	Синергетиче ское действие
2838 2	<i>A. fumig atus</i>	8	>8	0,016	0,25	0,03	Синергетиче ское действие
		4	1	0,063	0,25	0,27	Синергетиче ское действие
2840 1	<i>A. fumig atus</i>	4	1	0,25	0,25	0,31	Синергетиче ское действие
		8	1	0,5	0,25	0,31	Синергетиче ское действие
*283 83	<i>A. fumig atus</i>	4	>8	0,063	>8	1,02	Отсутствие взаимодейств ия
		4	>8	0,031	4	0,51	Отсутствие взаимодейств ия
*285 00	<i>A. fumig atus</i>	4	>8	1	>8	1,25	Отсутствие взаимодейств ия
		4	>8	0,125	>8	1,03	Отсутствие взаимодейств ия

*Азол-резистентные штаммы.

Таблица 2

Значения МИС в отдельности и в комбинации для SCY-078 и вориконазола против *A. fumigatus* (мкг/мл).
Значения МИС считывали через 48 ч и каждое испытание осуществляли в двух повторах

MRL	Организм	МИС В отдельности		МИС в комбинации		Оценка FICI SCY-078/ Вориконазол	Интерпретация
		SCY-078	Вориконазол	SCY-078	Вориконазол		
20438	<i>A. fumigatus</i>	8	1	0,125	0,25	0,27	Синергетическое действие
		4	1	0,25	0,25	0,31	Синергетическое действие
28378	<i>A. fumigatus</i>	8	0,5	0,5	0,125	0,31	Синергетическое действие
		4	0,25	0,5	0,016	0,19	Синергетическое действие
28382	<i>A. fumigatus</i>	8	0,5	0,5	0,125	0,31	Синергетическое действие
		8	0,5	0,016	0,25	0,50	Синергетическое действие
28401	<i>A. fumigatus</i>	8	2	0,25	0,5	0,28	Синергетическое действие
		8	2	0,125	0,5	0,27	Синергетическое действие
*28383	<i>A. fumigatus</i>	8	>16	0,031	>16	1,00	Отсутствие взаимодействия
		8	>16	0,031	>16	1,00	Отсутствие взаимодействия
*28500	<i>A. fumigatus</i>	4	>16	1	>16	1,25	Отсутствие взаимодействия
		8	>16	1	>16	1,13	Отсутствие взаимодействия

*Азол-резистентные штаммы.

Таблица 3

Значения MIC в отдельности и в комбинации для SCY-078 и амфотерицина В против *A. fumigatus* (мкг/мл). Значения MIC считывали через 48 ч и каждое испытание осуществляли в двух повторах

MR L	Организм	MIC В отдельности		MIC в комбинации		Оценка FICI SCY-078/ Амфотерицин В	Интерпретация
		SCY-078	Амфотерицин В	SCY-078	Амфотерицин В		
20438	<i>A. fumigatus</i>	4	4	0,016	0,5	0,13	Синергетическое действие
		4	4	0,016	0,5	0,13	Синергетическое действие
28378	<i>A. fumigatus</i>	4	2	0,016	0,5	0,25	Синергетическое действие
		4	2	0,016	0,5	0,25	Синергетическое действие
28382	<i>A. fumigatus</i>	4	4	0,016	1	0,25	Синергетическое действие
		8	4	0,063	0,5	0,13	Синергетическое действие
							Синергетическое действие
28401	<i>A. fumigatus</i>	4	4	0,016	1	0,25	Синергетическое действие
		8	4	0,031	0,5	0,13	Синергетическое действие
*28383	<i>A. fumigatus</i>	4	4	0,016	4	1,00	Отсутствие взаимодействия
		4	2	0,125	2	1,03	Отсутствие взаимодействия
*28500	<i>A. fumigatus</i>	4	4	0,016	1	0,25	Синергетическое действие
		4	4	0,125	1	0,28	Синергетическое действие

*Азол-резистентные штаммы.

Эти данные показывают, что комбинации SCY-078 и вориконазола, изавуконазола и амфотерицина В продемонстрировали синергетическую активность против всех испытанных изолятов *Aspergillus fumigatus* дикого типа. Комбинации SCY-078 и каждого из вориконазола, изавуконазола и амфотерицина В продемонстрировали либо синергетическую активность, либо отсутствие взаимодействия против испытанных азол-резистентных изолятов *Aspergillus fumigatus*. Важно отметить, что не было продемонстрировано антагонизма с этими комбинациями.

Исследование *in vivo*.

Осуществляли исследование для оценки эффективности комбинации SCY-078 с изавуконазолом. Изавуконазол является противогрибковым триазолом второго поколения с активностью против *Aspergillus spp.* Как описано выше, инвазивный аспергиллез легких представляет собой опасную для жизни инфекцию у пациентов с ослабленным иммунитетом, особенно у пациентов с тяжелой и длительной нейтропенией вследствие миелотоксической химиотерапии для лечения рака, и пациентов, получающих иммуносупрессивные препараты для профилактики отторжения после трансплантации органов или лечения болезни трансплантат-против-хозяина (GVHD) после аллогенной трансплантации костного мозга. Для этой оценки *in vivo* выбрана модель кролика с нейтропенией, чтобы дополнительно проиллюстрировать эффект комбинированной терапии SCY-078 и азола в соответствующей популяции с подавленным им-

мунитетом.

Методы.

В этом исследовании использовали новозеландских белых кроликов с массой тела 2,5-3,5 кг (Covance Research Products, Inc., Denver, PA). Сосудистый доступ устанавливали путем хирургического введения силикатикового туннелируемого центрального венозного катетера. Цитозин арабинозид (Cytosar-U) 525 мг/м² вводили внутривенно в дни с 1 по 5 и в дни 8, 9, 13 и 14 для получения выраженной и стойкой нейтропении (концентрация нейтрофилов <100 нейтрофилов/мкл). Метилпреднизолон (Solu-Medrol®, Pfizer, NY) 5 мг/кг вводили в дни 1-3 для ингибирования активности макрофагов. Антибиотики (цефтазидим 75 мг/кг вводили внутривенно два раза в день; гентамицин 5 мг/кг вводили внутривенно через день; ванкомицин 15 мг/кг вводили внутривенно ежедневно) использовали для профилактики оппортунистических бактериальных инфекций при нейтропении.

Инокулят: в этом исследовании использовали изолят 4215 NIH *Aspergillus fumigatus* (ATCC No. MY A-1163), полученный от пациента со смертельным исходом легочного аспергиллеза. Изолят *A. fumigatus* субкультивировали на картофельных скошенных агаре с декстрозой (Remel Inc., Baltimore, MD), инкубировали в течение 24 ч при 37°C и затем хранили при комнатной температуре в течение 5 дней перед использованием. В день 2 (то есть через 1 день после первой дозы цитозинарабинозида), при прямой визуализации, инокулят ($2,5 \times 10^8$ *A. fumigatus* conidia) вводили в трахею на расстоянии от голосовых связок.

Противогрибковая терапия: Как показано в табл. 4, исследовали следующие шесть групп лечения: группа, получавшая SCY-078 в дозе 2,5 мг/кг/день (SCY2.5); группа, получавшая SCY-078 в дозе 7,5 мг/кг/день (SCY7.5); группа, получавшая изавуконазол в дозе 40 мг/кг/день (ISA40); группа, получавшая SCY-078 в дозе 2,5 мг/кг/день и изавуконазол в дозе 40 мг/кг/день (SCY2.5+ISA40); группа, получавшая SCY-078 в дозе 7,5 мг/кг/день и изавуконазол в дозе 40 мг/кг/день (SCY7.5+ISA40); и необработанная контрольная группа (UC). Каждая группа включала шесть кроликов. Противогрибковые средства, в случае их введения, вводили внутривенно один раз в день. Использовали цитратную соль SCY-078. В группах, получавших противогрибковую терапию, такое введение начиналось через 24 часа после эндотрахеальной инокуляции и продолжалось один раз в день в течение 12 дней. Выживших кроликов в обработанных группах умерщвляли через 24 ч после последнего введения противогрибкового средства(средств). Ни одно животное в необработанной группе не выжило после дня 8.

Оценки: выживаемость, легочный инфаркт и галактоманнановую антигемию (серологический маркер инфекции *Aspergillus*) оценивали как показатели ответа на лечение. После смерти или умерщвления подопытного животного, легкие взвешивали, и их осматривали два наблюдателя слепым методом на наличие очагов геморрагического инфаркта, типичного для легочного аспергиллеза. Кровь каждого кролика собирали через день для определения концентраций галактоманнана в сыворотке. Концентрации галактоманнана в сыворотке крови определяли при помощи иммунологического анализа Platelia® *Aspergillus* (EIA) (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France) с использованием сэндвич-варианта одностадийного иммуноферментного анализа в микропланшетах. Данные иммуноферментного анализа выражали в виде графика сывороточного GMI (галактоманнанового индекса), в зависимости от времени.

Таблица 4

Группы лечения

Группа №	Группа лечения	Доза (мг/кг/день)	Количество животных
1	Необработанный контроль (UC)	0	6
2	SCY2.5	2,5	6
3	SCY7.5	7,5	6
4	ISA40	40	6
5	SCY2.5+ISA40	2,5 и 40	6
6	SCY7.5+ISA40	7,5 и 40	6
Всего			36

Результаты.

Выживаемость была значительно увеличена у животных, получавших SCY7.5+ISA40 или SCY2.5+ISA40, по сравнению с животными, получавшими только SCY-078 (SCY7.5 или SCY2.5) или только изавуконазол (ISA40) (фиг. 1). В частности, кролики, получавшие SCY7.5+ISA40 или SCY2.5+ISA40, имели выживаемость, вплоть до дня запланированного умерщвления (день 13), 83% (5 из 6 в каждой группе), тогда как животные, получавшие только ISA40, имели выживаемость 32% (2 из 6); животные, получавшие только SCY2.5, имели выживаемость 16% (1 из 6); и животные, получавшие только SCY7.5, и необработанные контроли не доживали до 13 дня. Маркеры повреждения легких (оценка легочного инфаркта) продемонстрировали сходную картину ответа (фиг. 2). Галактоманнановая антигемия в сыворотке была значительно снижена у животных, получавших SCY7.5+ISA40 или SCY2.5+ISA40, по сравнению с животными, получавшими отдельные препараты (фиг. 3). Комбинация SCY-078 и изавуконазола была более эффективной в снижении уровней галактоманнана, чем любое из

этих средств отдельно. Кроме того, комбинация SCY-078 и изавуконазола обеспечивала более быстрое уменьшение галактоманнановой антигенемии, чем любое из этих средств отдельно.

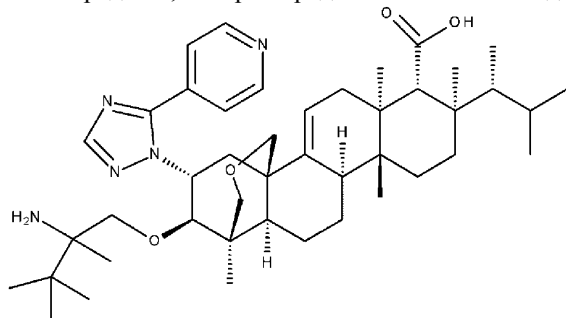
Это исследование также показало, что комбинация SCY-078 с азолом была более эффективной и показала синергетический эффект при лечении инвазивного аспергиллеза легких по сравнению с SCY-078 или азолом, используемыми отдельно, в этой модели.

Хотя настоящее изобретение было конкретно показано и описано со ссылкой на его предпочтительные варианты осуществления, специалистам в данной области техники будет понятно, что в свете настоящего раскрытия изобретения в него могут быть внесены различные изменения в форме и деталях, не выходя за рамки объема изобретения, охватываемого прилагаемой формулой изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая комбинация:

(a) первого терапевтического средства, которое представляет собой соединение формулы (II):



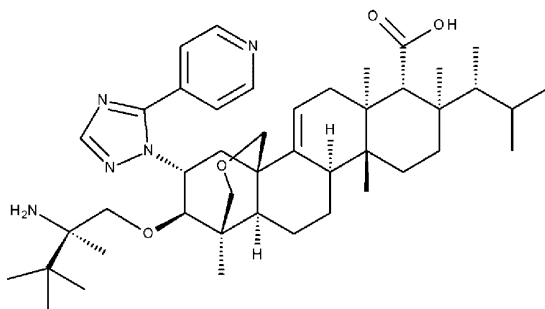
(II)

которое представляет собой (1S,4aR,6aS,7R,8R,10aR,10bR,12aR,14R,15R)-15-[[2-амино-2,3,3-триметилбутил]окси]-8-[(1R)-1,2-диметилпропил]-14-[5-(4-пиридинил)-1H-1,2,4-триазол-1-ил]-1,6,6a,7,8,9,10,10a,10b,11,12,12a-додекагидро-1,6a,8,10a-тетраметил-4H-1,4a-пропано-2H-фенантро[1,2-c]пиран-7-карбоновую кислоту,

или его фармацевтически приемлемую соль; и

(b) второго терапевтического средства, которое представляет собой изавуконазол.

2. Фармацевтическая комбинация по п.1, где первое терапевтическое средство представляет собой соединение формулы (IIa):



(IIa)

которое представляет собой (1S,4aR,6aS,7R,8R,10aR,10bR,12aR,14R,15R)-15-[[2R)-2-амино-2,3,3-триметилбутил]окси]-8-[(1R)-1,2-диметилпропил]-14-[5-(4-пиридинил)-1H-1,2,4-триазол-1-ил]-1,6,6a,7,8,9,10,10a,10b,11,12,12a-додекагидро-1,6a,8,10a-тетраметил-4H-1,4a-пропано-2H-фенантро[1,2-c]пиран-7-карбоновую кислоту,

или его фармацевтически приемлемую соль.

3. Фармацевтическая комбинация по любому из пп.1 и 2, где первое терапевтическое средство и второе терапевтическое средство присутствуют в количествах, делающих фармацевтическую комбинацию эффективной для лечения инфекции *Aspergillus* у нуждающегося в этом субъекта.

4. Фармацевтическая комбинация по любому из пп.1 и 2, где первое терапевтическое средство и второе терапевтическое средство присутствуют в количествах, делающих фармацевтическую комбинацию эффективной для профилактики инфекции *Aspergillus* у нуждающегося в этом субъекта.

5. Фармацевтическая комбинация по любому из пп.1 и 2, где первое терапевтическое средство и второе терапевтическое средство присутствуют в количествах, делающих фармацевтическую комбинацию эффективной для лечения инвазивного аспергиллеза легких у нуждающегося в этом субъекта.

6. Фармацевтическая комбинация по любому из пп.1 и 2, где первое терапевтическое средство и второе терапевтическое средство присутствуют в количествах, делающих фармацевтическую комбинацию

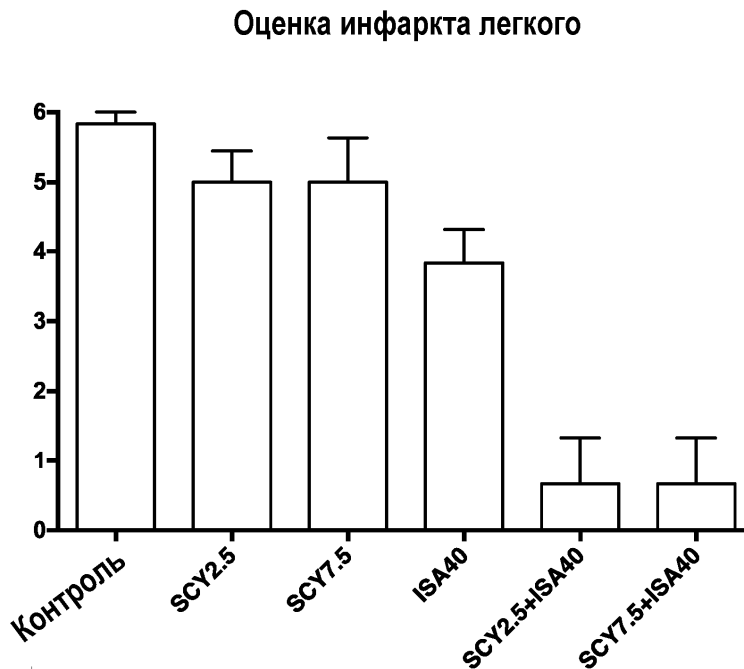
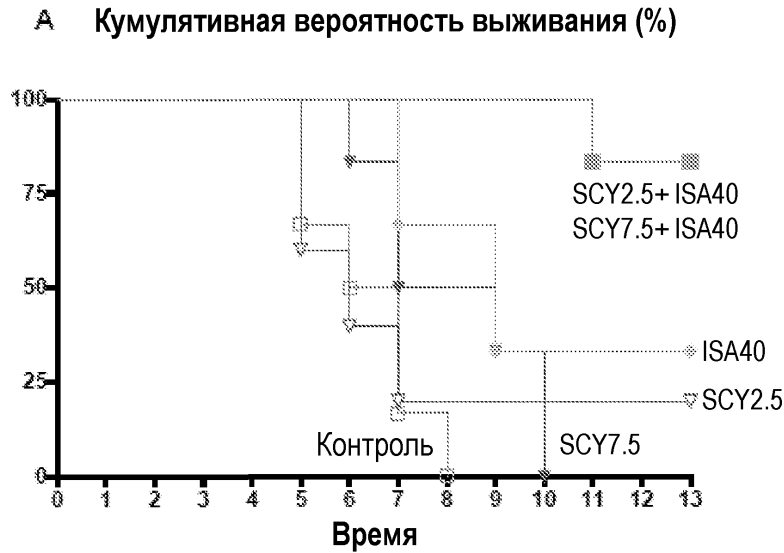
цию эффективной для профилактики инвазивного аспергиллеза легких у нуждающегося в этом субъекта.

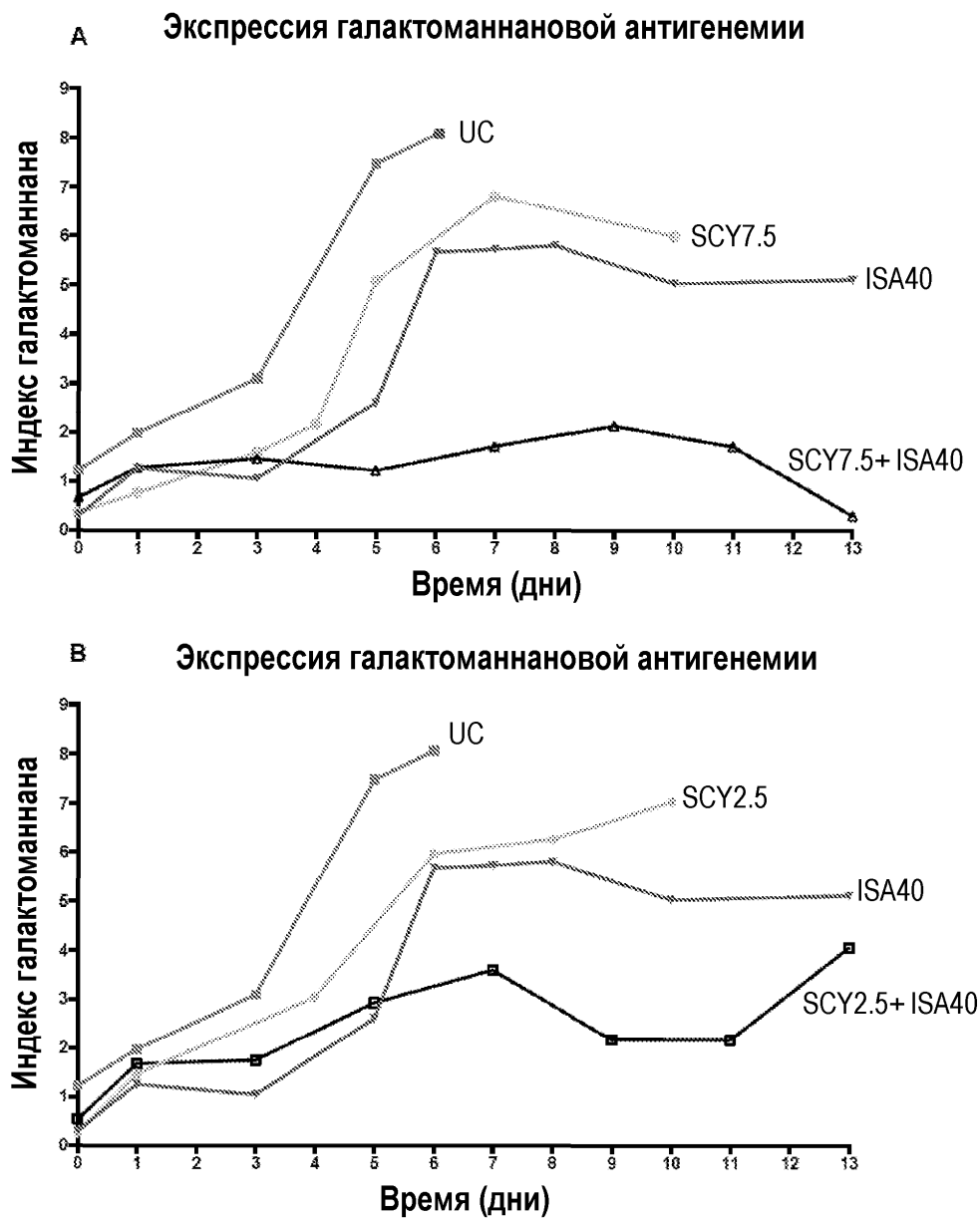
7. Способ лечения инвазивного аспергиллеза легких у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту фармацевтической комбинации по п.1.

8. Способ лечения инвазивного аспергиллеза легких у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту фармацевтической комбинации по п.2.

9. Способ по любому одному из пп.7 и 8, где первое терапевтическое средство вводят последовательно со вторым терапевтическим средством.

10. Способ по любому одному из пп.7 и 8, где первое терапевтическое средство вводят одновременно со вторым терапевтическим средством.





Фиг. 3



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2