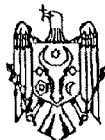




MD 4760 C8 2022.02.28

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4760** (13) **C8**
(51) Int.Cl: *A61K 31/7088* (2006.01)
A61K 31/522 (2006.01)
A61K 31/675 (2006.01)
A61P 31/20 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. depozit: a 2017 0014 (22) Data depozit: 2015.07.07 (31) Nr.: 62/022846; 62/091943 (32) Data: 2014.07.10; 2014.12.15 (33) Țara: US; US (41) Data publicării cererii: 2017.07.31, BOPI nr. 7/2017	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2021.07.31, BOPI nr. 7/2021 (85) 2017.02.08 (86) PCT/CA2015/050626, 2015.07.07 (87) WO 2016/004525 A1, 2016.01.14
(71) Solicitant: REPLICOR INC., CA (72) Inventator: VAILLANT Andrew, CA (73) Titular: REPLICOR INC., CA (74) Mandatar autorizat: GLAZUNOV Nicolae	

(54) Compoziții și metode de tratament al infecțiilor provocate de virusii hepatitei
B și hepatitei D

(57) Rezumat:

1

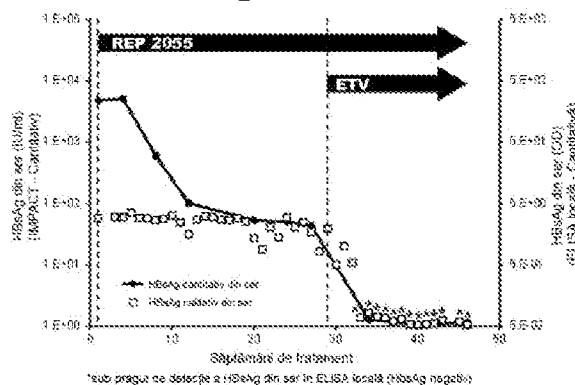
Invenția se referă la compoziții și metode de tratament al infecțiilor provocate de virusul hepatitei B sau de co-infecția cu virusul hepatitei B și virusul hepatitei D, care includ administrarea unui subiect ce are nevoie de un astfel de tratament al unui prim agent farmaceutic acceptabil, care conține un complex chelat al cel puțin unui polimer al acidului nucleic tiofosfat și al doilea agent farmaceutic acceptabil, care conține cel puțin un analog nucleozidic/nucleotidic, care inhibă polimerazele HVB.

Secvențe: 20

Revendicări: 38

Figuri: 3

2



(54) Compositions and methods for the treatment of hepatitis B and hepatitis D virus infections

(57) Abstract:

1
The invention relates to compositions and methods for treating hepatitis B virus infections or hepatitis B virus/hepatitis D virus co-infection, comprising administering to a subject in need of such treatment a first pharmaceutically acceptable agent which comprises a chelate complex of at least one phosphorothioated nucleic acid polymer and a

2
second pharmaceutically acceptable agent that comprises at least one nucleoside/nucleotide analog HBV polymerase inhibitor.

Sequences: 20

Claims: 38

Fig.: 3

(54) Композиции и методы лечения инфекций, вызванных вирусами гепатита В и гепатита D

(57) Реферат:

1
Изобретение относится к композициям и методам лечения инфекций, вызванных вирусом гепатита В или ко-инфекцией вирусом гепатита В и вирусом гепатита D, которые включают введение субъекту, нуждающемуся в подобном лечении, первого фармацевтически приемлемого средства, которое содержит хелатный комплекс по меньшей мере одного тиофосфатного полимера нуклеиновой кислоты, и второе

2
фармацевтически приемлемое средство, которое содержит по меньшей мере один нуклеозидный/нуклеотидный аналог, ингибирующий полимеразы вируса гепатита В.

Последовательности: 20

П. формулы: 38

Фиг.: 3

Descriere:**(Descrierea se publică în varianta redactată de solicitant)**

Invenția se referă la metode de tratament a unui subiect cu infecția virusului de hepatită B (HVB) sau HVB/co-infecția virusului de hepatită D (HVD), ce conține administrarea unei prime formulări farmaceutic acceptabile a unui acid nucleic polimer fosfotonat și a formulării secunde farmaceutic acceptabile analoage a nucleozidei/nucleotidei, care inhibă polimerazele HVB.

HVB afectează 400 milioane de indivizi la nivel mondial și cauzează estimativ 600,000 morți în fiecare an din cauza complicațiilor care rezultă din infecțiile HVB. În timp ce mai multe tratamente antivirale sunt aprobate pentru utilizare, nici unul din acestea nu este capabil de a obține un răspuns imun terapeutic eficient capabil de a oferi un control durabil al infecției cu excepția unei fracții mici de pacienți care urmează tratamentul.

Infecția HVB rezultă în producerea a două particule diferite: 1) virusul infecțios HVB în sine (sau particula Dane) care include o capsidă virală asamblată din proteina antigen a nucleului HVB (HBcAg) și este acoperită de antigenul de suprafață HVB (HBsAg) și 2) particule sub-virale (sau SVPs) care sunt particule asemănătoare cu lipoproteinele de densitate înaltă compuse din lipide, colesterol, esteri ai colesterolului și forme mici și medii ale antigenului de suprafață HVB (HBsAg) care nu sunt infecțioase. Pentru fiecare particulă virală produsă, 1,000...10,000 SVPs sunt eliberate în sânge. Ca atare SVPs (și proteina HBsAg care le transportă) reprezintă majoritatea absolută a proteinei virale în sânge. Celulele infectate HVB de asemenea secretă un produs proteolitic solubil al pre-nucleului proteinei pre-nucleu denumit e-antigenul HVB (HBeAg).

HVD folosește HBsAg pentru a forma structura sa virală (Taylor. Virology, 344, 2006, p. 71-76) și ca atare, infecția HVD poate decurge în subiecți doar concomitent cu infecția HVB. În timp ce incidența co-infecției HVD în purtătorii asimptomatici HVB și bolile cronice HVB-asociate este joasă în țările cu o incidență joasă a infecției HVB, este o complicație semnificativă în subiecții HVB-infecțiați în țările cu o incidență înaltă a infecției HVB și poate mări rata de progresie a bolilor de ficat în ciroza hepatică. Nevoia medicală nesatisfăcută în infecția HVB este chiar mai presantă în subiecții co-infecțiați HVB/HVD; nu este un agent specific aprobat care să țintească direct virusul HVD și răspunsul pacientului chiar la terapia combinatorie cu agentul aprobat pentru tratamentul HVB este mai sărac decât în pacienții cu monoinfecție HVB (Wedemeyer și al. Oral abstract 4, 49th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver, April 9-14, 2014, London, UK).

Tratamentele aprobate curent pentru HVB includ imunoterapii bazate pe interferon- α sau timozină- α 1 și suprimarea producerii virale prin inhibarea polimerazelor HVB de analogi nucleozidici/nucleotidici. Inhibitorii polimerazei HBVs sunt eficienți în reducerea producerii virionilor infecțioși dar nu au nici un efect în reducerea HBsAg sau doar reduc foarte puțin HBsAg cu un termen lung de tratament la un număr limitat de pacienți [1] și (Reijnders și al. J. Hepatol., 54, 2011, p. 449-454; Charuorn și al. Poster abstract 401, 48th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver, April 24-28, Amsterdam, The Netherlands, 2014). Efectul primar al inhibitorilor polimerazei HBVs este să blocheze transformarea mARN viral pre-genomic în ADN dublu catenar parțial, care este prezent în virionii infecțioși. Imunoterapia bazată pe interferon poate realiza o reducere a virusului infecțios și îndepărtarea HBsAg din sânge dar numai la un procent mic de subiecți tratați.

HBsAg din sange poate secreta anticorpii anti-HBsAg și permite particulelor virale infecțioase să scape detecția imună care este probabil unul din motivele de ce infecția HVB rămâne o stare cronică. În plus HBsAg, HBeAg și HBcAg toți au proprietăți imuno-inhibitorii precum s-a discutat mai jos și persistența acestor proteine virale în sângele pacienților înainte de administrarea oricărui din tratamentele curente valabile pentru HVB precum este descris mai jos probabil sunt un impact semnificativ în prevenirea pacienților de la realizarea controlului imunologic al infecției lor HVB.

Cu toate că trei proteine HVB primare (HBsAg, HBeAg și HBcAg) toate au proprietăți imuno-inhibitorii (vezi mai jos), HBsAg cuprinde majoritatea absolută a proteinei HVB în circulația subiecților infectați cu HVB și este probabil mediatorul primar al inhibiției răspunsului imun al gazdei la infecția HVB. În timp ce îndepărtarea HBeAg, apariția anti-HBe sau reducerile viremiei în ser nu sunt corelate cu dezvoltarea controlului susținut al infecției HVB în afara tratamentului, îndepărtarea HBsAg din serul sanvin (și apariția anticorpilor anti-HBsAg liberi) în infecția HVB este un indicator de pronostic excelent bine recunoscut al răspunsului antiviral în tratamentul care va conduce la controlul infecției HVB în afara tratamentului (cu toate că acest lucru se întâmplă la o fracție mică de pacienți ce primesc imunoterapie sau inhibitori ai

polimerazei HVBs). Prin urmare, în timp ce reducerea tuturor celor trei proteine HVB majoritare (HBsAg, HBeAg și HBcAg) poate rezulta în îndepărtarea optimală a efectului de inhibare, îndepărtarea HBsAg este esențială și îndepărtarea sa separată este probabil suficientă pentru a elimina cea mai mare parte a inhibiției funcției imune în subiecții cu infecția HVB.

5 O altă caracteristică esențială al infecției HVB cronice este stabilirea a unei surse stabile a informației genetice HVB în nucleul celulelor infectate denumite ADN circular covalent închis (cccDNA). cccDNA există în multiple copii în nucleul ca un epizom extracromozomal care funcționează ca șablonul transcripțional pentru producerea ARN de codificare al tuturor proteinelor virale și genomuri imature (mARN pre-genomic) pentru producerea virionilor noi.
10 După encapsidarea în citoplasmă, mARN imatur pre-genomic este convertit într-un genom ADN matur parțial dublu catenar de polimerazele HBV (care este co-encapsidat cu mARN-ul pregenomic), antrenând astfel genomul HVB matur competent să stabilească sau regenereze o sursă cccDNA în celule native sau infectate anterior. Sfârșitul procesului infecțios constă în livrarea acestui șablon HVB genomic parțial dublu catenar în nucleu și conversia sa în cccDNA.

15 cccDNA poate fi regenerat în nucleul celulelor infectate prin import nuclear a capsidelor HVB ce conțin genomuri HVB mature care regenerează numărul de copii cccDNA. Această regenerare a cccDNA nuclear este realizată prin două mecanisme: import nuclear direct al capsidelor asamblate din citoplasmă sau reinfecție ale hepatocitelor infectate anterior cu naveta ulterioară ale capsidelor internalizate în nucleu (Rabe și al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 100, 2003, p. 9849-9854). Inhibiția transcripțională sau eliminarea acestei surse de HVB genomic din nucleul este critică pentru stabilirea controlului pe termen lung a infecției HVB în urma tratamentului.

Tratamentul de lungă durată cu nucleozida/nucleotida inhibitorilor ai polimerazei HVBs poate reduce numărul de copii cccDNA în nucleul, în concordanță cu abilitatea inhibitorilor polimerazei HVBs de a bloca regenera un cccDNA prin import nuclear al capsidelor ce conțin genomuri HVB mature. Totuși, în timp ce numărul de copii cccDNA *per* hepatocit este redus, el
25 totuși rămâne transcripțional activ, prin urmare nivelele HBsAg rămân în mare măsură neafectate (Werle-Lapostolle și al. Gastroenterol., 126, 2004, p. 1750-1758; Wong și al. Clin. Gastroenterol. Hepatol., 11, 2013, p. 1004-1010; Wong și al. Poster abstract 1074, 49th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver, April 9-14, 2014, London, UK). cccDNA poate fi
30 transcripțional inactivat de procese imuno-mediate (Belloni și al. J. Clin. Inv., 122, 2012, p. 529-537) dar abilitatea răspunsului imun de a provoca răspunsurile citokinetice necesare pentru inactivarea cccDNA este probabil blocat de HBsAg persistent circulant așa cum este descris în [2] (care este încorporată aici prin referință în întregime) și este consistent cu ineficacitatea imunoterapiei în tratamentul infecției HVB.

35 Ca atare, există o necesitate clară medicală nesatisfăcută de un regim de tratament care poate provoca un control imunologic durabil al infecției HVB la un număr mare de pacienți ce primesc acest tratament.

Conform prezentei descrieri este oferită o compoziție ce conține un prim agent farmaceutic acceptabil ce cuprinde cel puțin un polimer al acidului nucleic fosforotonaționat și al doilea agent
40 farmaceutic acceptabil ce cuprinde cel puțin o nucleozidă/nucleotidă analog care inhibă polimeraza HVB pentru tratarea infecției HVB sau co-infecției HVB/HVD la un subiect.

De asemenea este dezvăluită o compoziție ce conține un prim agent farmaceutic acceptabil ce cuprinde un complex chelat al cel puțin unui polimer al acidului nucleic fosforotonaționat și al
45 doilea agent farmaceutic acceptabil ce cuprinde cel puțin o nucleozidă/nucleotidă analog care inhibă polimeraza HVB pentru tratarea infecției HVB sau co-infecției HVB / HVD la un subiect.

Suplimentar este dezvăluită utilizarea primului agent farmaceutic acceptabil ce cuprinde cel puțin un polimer al acidului nucleic fosforotonaționat și al doilea agent farmaceutic acceptabil ce
cuprinde cel puțin o nucleozidă/nucleotidă analog care inhibă polimeraza HVB pentru tratarea
50 infecției HVB sau co-infecției HVB/HVD la un subiect.

Este dezvăluită suplimentar utilizarea primului agent farmaceutic acceptabil ce cuprinde cel puțin un polimer al acidului nucleic fosforotonaționat și al doilea agent farmaceutic acceptabil ce
cuprinde cel puțin o nucleozidă/nucleotidă analog care inhibă polimeraza HVB în fabricarea unui
medicament pentru tratarea infecției HVB sau co-infecției HVB / HVD la un subiect.

Suplimentar este dezvăluită utilizarea primului agent farmaceutic acceptabil ce cuprinde un
55 complex chelat al cel puțin unui polimer al acidului nucleic fosforotonaționat și al doilea agent farmaceutic acceptabil ce cuprinde cel puțin o nucleozidă/nucleotidă analog care inhibă polimeraza HVB pentru tratarea infecției HVB sau co-infecției HVB / HVD la un subiect.

Este dezvăluită suplimentar utilizarea primului agent farmaceutic acceptabil ce cuprinde un complex chelat al cel puțin unui polimer al acidului nucleic fosforotonaționat și al doilea agent

farmaceutic acceptabil ce cuprinde cel puțin o nucleozidă/nucleotidă analog care inhibă polimeraza HVB în fabricarea unui medicament pentru tratarea infecției HVB sau co-infecției HVB/HVD la un subiect.

- 5 Intr-un alt exemplu, este dezvăluită o compoziție ce conține un prim agent farmaceutic acceptabil ce cuprinde un complex chelat al unui sau mai multor polimeri ai acizilor nucleici selectați din cele ce urmează:

- SEQ ID NR: 2;
 SEQ ID NR: 10;
 SEQ ID NO 13;
10 SEQ ID NR-le: 1, 3-9, 11, 12 și 14-20;
 o oligonucleotidă fosforotionată cu o lungime de 20-120 de nucleotide ce conține repetări ale secvenței AC;
 o oligonucleotidă fosforotionată cu o lungime de 20-120 de nucleotide ce conține repetări ale secvenței CA;
15 o oligonucleotidă fosforotionată cu o lungime de 20-120 de nucleotide ce conține repetări ale secvenței TG și
 o oligonucleotidă fosforotionată cu o lungime de 20-120 de nucleotide ce conține repetări ale secvenței GT;
 și al doilea agent farmaceutic acceptabil ce cuprinde una sau mai multe dintre cele ce
20 urmează:
 lamivudina;
 adefovir dipivoxil;
 entecavir;
 telbivudina;
25 tenofovir disoproxil fumarat;
 entricitabina;
 clevudina;
 besifovir;
 tenofovir alafenamid fumarat;
30 AGX-1009;
 elvucitabina;
 lagociclovir valactat;
 pradefovir mezilat;
 valtorcitabina; și
35 orice nucleozidă / nucleotidă analog care inhibă polimerazele HVB,
 pentru tratamentul infecției HVB sau co-infecției HVB/HVD.

Intr-un alt exemplu, este dezvăluită utilizarea primului agent farmaceutic acceptabil ce cuprinde un complex chelat al unui sau mai multor polimeri ai acizilor nucleici selectați din cele ce urmează:

- 40 SEQ ID NR: 2;
 SEQ ID NR: 10;
 SEQ ID NO 13;
 SEQ ID NR-le: 1, 3-9, 11, 12 și 14-20;
 o oligonucleotidă fosforotionată cu o lungime de 20-120 de nucleotide ce conține repetări
45 ale secvenței AC;
 o oligonucleotidă fosforotionată cu o lungime de 20-120 de nucleotide ce conține repetări ale secvenței CA;
 o oligonucleotidă fosforotionată cu o lungime de 20-120 de nucleotide ce conține repetări ale secvenței TG și
50 o oligonucleotidă fosforotionată cu o lungime de 20-120 de nucleotide ce conține repetări ale secvenței GT;
 și al doilea agent farmaceutic acceptabil ce cuprinde una sau mai multe din cele ce urmează:
55 lamivudina;
 adefovir dipivoxil;
 entecavir;
 telbivudina;
 tenofovir disoproxil fumarat;
 entricitabina;

- clevudina;
besifovir;
tenofovir alafenamid fumarat;
AGX-1009;
- 5 elvucitabina;
lagociclovir valactat;
pradefovir mezilat;
valtorcitabina; și
orice nucleozidă / nucleotidă analog care inhibă polimerazele HVB,
- 10 pentru tratamentul infecției HVB sau co-infecției HVB/HVD.
Intr-un alt exemplu, este dezvăluită utilizarea primului agent farmaceutic acceptabil ce cuprinde un complex chelat al unui sau mai multor polimeri ai acizilor nucleici selectați din cele ce urmează:
- 15 SEQ ID NR: 2;
SEQ ID NR: 10;
SEQ ID NO 13;
SEQ ID NR-le: 1, 3-9, 11, 12 și 14-20;
o oligonucleotidă fosforotionată cu o lungime de 20-120 de nucleotide ce conține repetări ale secvenței AC;
- 20 o oligonucleotidă fosforotionată cu o lungime de 20-120 de nucleotide ce conține repetări ale secvenței CA;
o oligonucleotidă fosforotionată cu o lungime de 20-120 de nucleotide ce conține repetări ale secvenței TG și
o oligonucleotidă fosforotionată cu o lungime de 20-120 de nucleotide ce conține repetări
- 25 ale secvenței GT;
și al doilea agent farmaceutic acceptabil ce cuprinde una sau mai multe din cele ce urmează:
lamivudina;
adefovir dipivoxil;
- 30 entecavir;
telbivudina;
tenofovir disoproxil fumarat;
entricitabina;
clevudina;
- 35 besifovir;
tenofovir alafenamid fumarat;
AGX-1009;
elvucitabina;
lagociclovir valactat;
- 40 pradefovir mezilat;
valtorcitabina; și
orice nucleozidă / nucleotidă analog care inhibă polimerazele HVB,
în fabricarea unui medicament pentru tratamentul infecției HVB sau co-infecției HVB/HVD.
- 45 Intr-un alt exemplu, polimerul acidului nucleic cuprinde o oligonucleotidă fosforotionată cu o lungime de 20-120 de nucleotide ce conține repetări ale secvenței AC.
Intr-un alt exemplu, polimerul acidului nucleic cuprinde o oligonucleotidă fosforotionată cu o lungime de 20-120 de nucleotide ce conține repetări ale secvenței CA.
Intr-un alt exemplu, polimerul acidului nucleic cuprinde o oligonucleotidă fosforotionată cu o lungime de 20-120 de nucleotide ce conține repetări ale secvenței TG.
- 50 Intr-un alt exemplu, polimerul acidului nucleic cuprinde o oligonucleotidă fosforotionată cu o lungime de 20-120 de nucleotide ce conține repetări ale secvenței GT.
Intr-un alt exemplu, polimerul acidului nucleic fosforotionat suplimentar conține cel puțin o modificare a 2' ribozei.
- 55 Intr-un alt exemplu, polimerul acidului nucleic fosforotionat suplimentar conține toate ribozele având o modificare 2'.
Intr-un alt exemplu, polimerul acidului nucleic fosforotionat suplimentar conține cel puțin o modificare a 2' O metil ribozei.

Intr-un alt exemplu, polimerul acidului nucleic fosforotionat suplimentar conține toate ribozele având modificarea 2' O metil.

Intr-un alt exemplu, polimerul acidului nucleic fosforotionat suplimentar conține cel puțin o 5' metilcitozină.

5 Intr-un alt exemplu, polimerul acidului nucleic fosforotionat suplimentar conține toate citozinele prezente ca 5' metilcitozina.

Intr-un alt exemplu, polimerul acidului nucleic fosforotionat suplimentar conține cel puțin o modificare a 2' ribozei și cel puțin o 5' metilcitozină.

10 Intr-un alt exemplu, polimerul acidului nucleic fosforotionat suplimentar conține toate ribozele având modificarea 2' O metil și toate citozinele prezente ca 5' metilcitozina.

Intr-un alt exemplu, polimerul acidului nucleic este selectat din grupul ce constă din SEQ ID NR-le: 1-20.

Intr-un alt exemplu, polimerul acidului nucleic este preparat ca un complex oligonucleotidă chelat ce conține o oligonucleotidă selectată din grupul ce constă din SEQ ID NR-le: 1-20.

15 Intr-un alt exemplu, polimerul acidului nucleic este o oligonucleotidă ce constă din SEQ ID NR: 2.

Intr-un alt exemplu, polimerul acidului nucleic este preparat ca un complex oligonucleotidă chelat ce conține SEQ ID NR: 2.

20 Intr-un alt exemplu, polimerul acidului nucleic este o oligonucleotidă ce constă din SEQ ID NR: 10.

Intr-un alt exemplu, polimerul acidului nucleic este preparat ca un complex oligonucleotidă chelat ce conține SEQ ID NR: 10.

Intr-un alt exemplu, polimerul acidului nucleic este o oligonucleotidă ce constă din SEQ ID NR: 13.

25 Intr-un alt exemplu, polimerul acidului nucleic este preparat ca un complex oligonucleotidă chelat ce conține SEQ ID NR: 13.

Intr-un alt exemplu, complexul chelat este un complex chelat de calciu.

Intr-un alt exemplu, complexul chelat este un complex chelat de magneziu.

30 Intr-un exemplu suplimentar, complexul chelat este un complex chelat de calciu / magneziu.

Intr-un alt exemplu suplimentar, primul și al doilea agent farmaceutic acceptabili sunt formulați cu aceeași compoziție farmaceutică.

Intr-un alt exemplu suplimentar, primul și al doilea agenți sunt formulați cu compoziții farmaceutice separate.

35 Intr-un alt exemplu suplimentar, primul și al doilea agenți sunt formulați pentru o administrare simultană.

Intr-un alt exemplu suplimentar, primul și al doilea agenți sunt formulați pentru administrare printr-o cale diferită.

40 Intr-un alt exemplu suplimentar, primul și al doilea agenți sunt formulați pentru administrare folosind una sau mai multe dintre următoarele: ingestia orală, inhalare de aerosol, injecție subcutanată, injecție intravenoasă și infuzie intravenoasă.

Intr-un alt exemplu suplimentar, polimerul acidului nucleic este cel puțin unul dintre:

SEQ ID NR: 2;

SEQ ID NR: 10;

45 SEQ ID NR: 13;

SEQ ID NR-le: 1, 3-9, 11, 12 și 14-20;

o oligonucleotidă fosforotionată cu o lungime de 20-120 de nucleotide ce conține repetări ale secvenței AC;

50 o oligonucleotidă fosforotionată cu o lungime de 20-120 de nucleotide ce conține repetări ale secvenței CA;

o oligonucleotidă fosforotionată cu o lungime de 20-120 de nucleotide ce conține repetări ale secvenței TG și

o oligonucleotidă fosforotionată cu o lungime de 20-120 de nucleotide ce conține repetări ale secvenței GT.

55 Intr-un alt exemplu suplimentar, următorii polimeri ai acizilor nucleici pot fi suplimentar formulați ca un complex oligonucleotidă chelat:

SEQ ID NR: 2;

SEQ ID NR: 10;

SEQ ID NO 13;

- SEQ ID NR-le: 1, 3-9, 11, 12 și 14-20;
 o oligonucleotidă fosforotionată cu o lungime de 20-120 de nucleotide ce conține repetări ale secvenței AC;
 o oligonucleotidă fosforotionată cu o lungime de 20-120 de nucleotide ce conține repetări ale secvenței CA;
 o oligonucleotidă fosforotionată cu o lungime de 20-120 de nucleotide ce conține repetări ale secvenței TG; și
 o oligonucleotidă fosforotionată cu o lungime de 20-120 de nucleotide ce conține repetări ale secvenței GT.
- Intr-un alt exemplu, nucleozida/nucleotida analog care inhibă polimeraza HVB cuprinde una sau mai multe din cele ce urmează:
- lamivudina;
 - adefovir dipivoxil;
 - entecavir;
 - telbivudina;
 - tenofovir disoproxil fumarat;
 - entricitabina;
 - clevudina;
 - besifovir;
 - tenofovir alafenamid fumarat;
 - AGX-1009;
 - elvucitabina;
 - lagociclovir valactat;
 - pradefovir mezilat;
 - valtorcitabina; și
 - orice nucleozidă / nucleotidă analog care inhibă polimerazele HVB.
- Scurtă descriere a figurilor
- Fig. 1 ilustrează efectul sinergic al terapiei combinatorii cu PAN REP 2055 (SEQ ID NR: 2) și entecavir (ETV) privind reducerea nivelurilor de HBsAg în ser.
- Fig. 2A ilustrează activitatea antivirală a PAN administrat la rațele de Pekin infectate ca compleși chelat de calciu cu HVBR măsurat prin monitorizarea HBsAgR din ser la sfârșitul tratamentului cu ELISA.
- Fig. 2B ilustrează activitatea antivirală a PAN administrat pentru a infecta rațele de Pekin ca complex chelat de calciu cu HVBR evaluat prin monitorizarea HVBR ADN hepatic la sfârșitul tratamentului cu PCR cantitativ.
- Fig. 3A ilustrează nivelele de HBVR ADN în serul rațelor tratate 28 zile cu ser fiziologic normal în următoarele momente de timp: A) pre-tratament, B) când tratamentul este pe jumătate complet, C) la sfârșitul tratamentului, D) o lună după tratament și E) două luni după tratament. Limita mai de jos a cuantificării (LLOQ) este $3,1 \times 10^4$ VGE/ml. Valorile < LLOQ au fost setate la 3×10^3 VGE/ml. VGE = echivalenți ai genomului viral.
- Fig. 3B ilustrează nivelele de HBVR ADN în serul rațelor tratate timp de 28 zile cu tenofovir disoproxil fumarat (TDF) la: A) pre-tratament, B) când tratamentul este pe jumătate complet, C) la sfârșitul tratamentului, D) o lună după tratament și E) două luni după tratament. Limita mai de jos a cuantificării (LLOQ) este $3,1 \times 10^4$ VGE/ml. Valorile < LLOQ au fost setate la 3×10^3 VGE/ml. VGE = echivalenți ai genomului viral.
- Fig. 3C ilustrează nivelele de HBVR ADN în serul rațelor tratate timp de 28 zile cu REP 2139-Ca la: A) pre-tratament, B) când tratamentul este pe jumătate complet, C) la sfârșitul tratamentului, D) o lună după tratament și E) două luni după tratament. Limita mai de jos a cuantificării (LLOQ) este $3,1 \times 10^4$ VGE/ml. Valorile < LLOQ au fost setate la 3×10^3 VGE/ml. VGE = echivalenți ai genomului viral.
- Fig. 3D ilustrează nivelele de HBVR ADN în serul rațelor tratate timp de 28 zile cu REP 2139-Ca și TDF la: A) pre-tratament, B) când tratamentul este pe jumătate complet, C) la sfârșitul tratamentului, D) o lună după tratament și E) două luni după tratament. Limita mai de jos a cuantificării (LLOQ) este $3,1 \times 10^4$ VGE/ml. Valorile < LLOQ au fost setate la 3×10^3 VGE/ml. VGE = echivalenți ai genomului viral.
- Fig. 3E ilustrează nivelele de HBVR ADN în serul rațelor tratate timp de 28 zile cu REP 2139-Ca, TDF și entecavir (ETV) at: A) pre-tratament, B) când tratamentul este pe jumătate complet, C) la sfârșitul tratamentului, D) o lună după tratament și E) două luni după tratament.

Limita mai de jos a cuantificării (LLOQ) este $3,1 \times 10^4$ VGE/ml. Valorile $< \text{LLOQ}$ au fost setate la 3×10^3 VGE/ml. VGE = echivalenți ai genomului viral.

Descrierea detaliată

Aici este dezvoltată o terapie combinatorie împotriva infecției HVB care constă în administrarea unui prim agent farmaceutic acceptabil capabil să elimine HBsAg din sânge și al doilea agent farmaceutic acceptabil care inhibă polimerazele HVB. Un asemenea tratament combinat permite refacerea funcției imune a gazdei (prin îndepărtarea HBsAg din ser) care conduce la inactivarea transcripțională imun-mediată a cccDNA și sau reducerea numărului de copii cccDNA în hepatocitele infectate în timp ce simultan blochează reprovizionarea cccDNA prin importul nuclear al capsidelor ce conțin genomi HVB maturi sau producerii ale virusului infecțios (prin inhibarea polimerazelor HVB). Efectele sinergice combinate ale acestor doi agenți pot accelera răspunsul antiviral la terapie și/sau eliminarea cccDNA din celulele infectate, prin urmare scurtând timpul terapiei pentru a obține suprimarea susținută a infecției tratate. Important, aceste efecte pot fi atinse în absența imunoterapiei. Acest tratament combinat va fi eficient în cazul unei mono-infecții HVB și co-infecții HVB/HVD.

HBsAg joacă un rol cheie în infecția HVB și co-infecția HVB/HVD. Pe lângă rolul său ca un component structural esențial pentru formarea virionului, HBsAg este de asemenea eliberat în cantități mari în sângele subiecților infectați în formă de particule subvirale (PSV-e), cărora le lipsește capsida virală și genomul și care par să funcționeze în principal pentru a livra HBsAg în sânge. PSV sunt secretate din celulele infectate în exces de 1,000...10,000 mai mare decât secreția virusului lucru care permite PSV-lor să sechestreze eficient anticorpii HBsAg (anti-HBs) astfel încât virusul HVB sau HVD în sânge poate evita recunoașterea prin intermediul imunității adaptive. Multe studii au sugerat de asemenea că HBsAg poate de asemenea funcționa pentru a bloca direct activarea răspunsurilor imune adaptive și înăscute față de infecția HVB (Cheng și al. *Journal of hepatology*, 43, 4 2005, p. 65-471; Op den Brouw și al. *Immunology*, 126, 2009, p. 280-289; Vanlandschoot and al. *The Journal of general virology*, 83, 2002, p. 1281-1289; Wu și al. *Hepatology*, 49, 2009, p. 1132-1140; Xu și al. *Molecular immunology*, 46, 2009, p. 2640-2646). Prezența acestei funcționalități în infecția HBV umană și impactul acesteia asupra activității agenților imuno-terapeutici și aplicabilității suplimentare ale acestor efecte antivirale în co-infecția HVB/HVD a fost descrisă anterior în US 2014/0065102 A1, care este încorporată aici prin referință în întregime. Cu toate că HBeAg și HBcAg s-a dovedit a avea proprietăți imuno-inhibitorii (Kanda și al. *J. Inf. Dis.*, 206, 2012, p. 415-420; Lang și al. *J. Hepatol.*, 55, 2011, p. 762-769; Gruffaz și al. *J. Hepatol.*, 58 (supp1), 2013, p. s155, Abstract 378), cel mai probabil pot avea impact minim datorită proporției foarte mici de HBeAg și HBcAg în relație cu HBsAg în sânge.

Nucleozidele/nucleotidele analog care inhibă polimeraza HVB (NRTI's) sunt o clasă bine cunoscută de agenți antivirali ale căror activitate împotriva infecției HVB are loc prin același mecanism de acțiune: această clasă de compuși acționează ca terminatoare imediate sau întârziare de lanțuri prin competiția cu substraturile naturale ale nucleotidei în timpul alungirii lanțului ADN (Menendez-Arias și al. *Curr. Op. Virol.* 8, 2015, p. 1-9). Această clasă de compuși poate păstra structura fundamentală a nucleului nucleotidei/nucleozidei ce constă dintr-o bază azotată și zahăr sau poate fi nucleotidă aciclică sau îi poate lipsi inelul zaharic sau pseudo-zaharic sau poate avea un grup fosfonat care înlocuiește α -fosfatul și poate avea multe alte modificări suplimentare prezente precum este descris în (Michailidis și al. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 44, 2012, p. 1060-1071 și De Clercq și al. *Virusing* 2, 2010, p. 1279-1305).

Rațe infectate cu virusul HVB la rațe (HBVR) sunt un model acceptat al infecției HVB și sunt utilizate în evoluția a câteva HVB NRTIs utilizate în prezent pentru a trata pacienți umani (Schultz și al. *Adv Virus Res*, 63, 2004, p. 1-70; Foster și al. *J. Virol.*, 79, 2005, p. 5819-5832; Nicoll et al. *Antimicrob Agents Chemother.*, 42, 1998, p. 3130-3135). Polimeri ai acizilor nucleici (PAN) care sunt fosforotonați s-au dovedit a avea activitate antivirală la rațele infectate cu HBVR (Noordeen și al. *Anti- Microb. Agents Chemother.* 57, 2013, p. 5291- 5298 și p. 5299 – 5306) care nu este derivată din orice mecanisme imunostimulatorii directe. În plus, intervenția terapeutică cu PAN REP 2055 (SEQ ID NR:2) în infecția DHVB *in vivo* stabilită anterior, REP 2055 a condus la lichidarea serului de HBsAg la rațe (HBsAgR) care s-a realizat prin inactivarea transcripțională a cccDNA și reducerea numărului de copii cccDNA (Noordeen și al. Abstract 88 HEPDART meeting Dec 6 – 9, 2009, HI, USA). Inactivarea și eliminarea cccDNA este cauzată prin îndepărtarea represiunii mediate prin HBsAgR a funcției imune a gazdei, care poate apoi inactiva și lichida cccDNA din celulele infectate prin mecanisme imun-mediate recunoscute (Levrero și al. *J. Hepatol.*, 51, 2009, p. 581-592; Belloni și al. *J. Clin. Inv.*, 122, 2012, p. 529-537).

PAN înlătură eficient HBsAg din sângele pacienților umani și sunt descrise în US 2014/0065102. Într-un model al infecției HVB preclinic acceptat (rațe de Pekin infectate cu HVB la rațe), tratamentul PAN a rezultat în eliminarea serului HBsAg din rațe (HBsAgR) și restabilirea funcției imune în absența de HBsAgR din ser a reușit să inactiveze transcripțional și elimine cccDNA din hepatocitele infectate (Noordeen și al. Abstract 88, HEPDART meeting Dec 6-10, 2009, HI, USA). Prin urmare, îndepărtarea HBsAg din serul pacienților infectați cu HVB se așteaptă a avea același efect asupra inactivării cccDNA în hepatocitele umane infectate *in situ*.

Prin urmare, este descris aici o cale eficientă pentru stabilirea mai rapidă a controlului viremiei serului sau pentru stabilirea unui control durabil a activității cccDNA și/sau eliminarea acestora din nucleul hepatocitelor infectate cu HVB constă dintr-o abordare nouă combinată prin care HBsAg este redusă sau eliminată din sânge prin utilizarea unei formulări de fosforotioat PAN farmaceutic acceptabile și reprovizionare cccDNA și producerea virusului infecțios este blocată prin a doua formulare de nucleotidă/nucleozidă analog farmaceutic acceptabil care inhibă polimerazele HVB. Această abordare combinată are următoarele beneficii importante și inovative:

1) aceasta combină abilitatea unei funcții imune îmbunătățite a gazdei (cauzată prin îndepărtarea HBsAg din ser) de a inactiva transcripțional și sau reduce numărul de copii cccDNA în celulele cu blocadă a reprovizionării cccDNA (prin prevenirea capsidelor ce conțin genomi maturi de a pătrunde în nucleu (prin inhibarea activității polimerazei HVB) sau producerea virionilor infecțioși (prin prevenirea transformării ARN-ului pregenomic în ADN dublu catenar parțial în capsida HVB;

2) aceasta are un efect sinergic asupra reducerii duratei tratamentului necesar pentru a înlătura, elimina sau a stabili suspensia transcripțională a cccDNA sau controlul viremiei serului din hepatocitele infectate în ficat datorită efectelor suprapuse ale celor doi agent farmaceutic acceptabili numiți; și

3) aceasta nu necesită utilizarea unei imunoterapii (precum se precizează că este necesară în mod special în US 2014/0065102) pentru a obține controlul susținut al infecției HVB după tratament care ar fi o îmbunătățire terapeutică importantă, având în vedere tolerabilitatea redusă a imunoterapiei la mulți pacienți.

Efectele antiviral îmbunătățite cu metodele descrise mai sus vor avea același beneficiu terapeutic la pacienții cu mono-infecție HVB și co-infecție HVB/HVD întrucât infecția HVD nu poate exista în absența infecției HVB precum este descris mai jos.

Prin urmare, în absența oricărui regim de tratament curent care poate fie elimina sau stabili un control durabil al activității cccDNA fără utilizarea imunoterapiei la o mare parte a pacienților, este dezvăluit pentru prima dată un tratament combinat eficient împotriva infecției HVB și co-infecției HVB/HVD care în mod simultan reduce sau lichidează HBsAg din sânge și care blochează reprovizionarea cccDNA în nucleul celulelor infectate cu HVB. Aceste efecte pot fi atinse prin utilizarea unei formulări de PAN fosforotioat farmaceutic acceptabile în combinație cu o nucleozidă/nucleotidă analog care inhibă polimeraza HVB farmaceutic acceptabilă.

Această nouă abordare prin combinație este eficientă în absența imunoterapiei, care are importantul avantaj de îmbunătățire a tolerabilității tratamentului și reducere a incidenței efectelor hematologice și a altor efecte secundare care apar în cazul imunoterapiei.

Termenul oligonucleotidă (ON) se referă la un oligomer sau polimer al acidului ribonucleic (ARN) și/sau acidului deoxiribonucleic (ADN). Acest termen include ON-ele compuse din nucleobaze modificate (inclusiv 5'metilcitozină și 4'tiouracil), zaharuri și legături covalente internucleozidă (structura de bază) cât și ca ON-ele care au porțiuni care apar în mod ne-natural care funcționează în mod similar. Asemenea ON-e modificate sau substituite pot fi considerate de preferat în raport cu formele native datorită proprietăților dorite cum ar fi, de exemplu, imuno-reactivitate redusă, asimilare celulară sporită, afinitate ridicată pentru ținta acid nucleic (în contextul ON-elor anti-sens, și ARN-uri și shARN-uri) și / sau stabilitate ridicată pentru degradarea nuclează-mediată. ON-ele pot de asemenea fi dublu-catenare. ON-ele de asemenea includ molecule mono-catenare cum ar fi oligonucleotida anti-sens, Spiegelmerii și aptamerii și miARN-uri, la fel ca moleculele dublu-catenare cum ar fi ARN-uri cu interferență mică (siARN-uri) sau ARN-uri (shARN-uri) mici asemenea firului de păr.

ON-ele pot include diverse modificări, de ex., modificări de stabilizare, și prin urmare pot include cel puțin o modificare a legăturii fosfodiester și/sau pe zahăr, și/sau pe bază. De exemplu, ON poate include, fără restricție, una sau mai multe modificări, sau poate fi modificată complet astfel încât să conțină toate legăturile sau zaharuri sau baze cu modificările menționate. Legăturile modificate pot include legături fosforotioate și legături fosforoditioate. În timp ce legăturile modificate sunt utile, ON-ele pot include legături fosfodiester. Modificări utile suplimentare

- includ, fără restricții, modificări pe poziția 2 a zahărului inclusiv modificări 2'-O-alkil cum ar fi modificări 2'-O-metil, 2' O-metoxietil (2' MOE), modificări 2'-amino, modificări 2'-halo cum ar fi 2'-fluoro; analogi nucleotidici aciclici. Alte modificări 2' sunt bine cunoscute în domeniu și pot fi utilizate precum acizi nucleici blocați. În particular, ON are legături modificate în întregime sau are fiecare legătură modificată, de ex., fosforotioat; are un capac 3' - și/sau 5'; include o legătură terminală 3'-5'; ON este sau include un concatemer ce constă din două sau mai multe secvențe ON conectate printr-un agent de legare. Modificările bazei pot include 5'metilarea bazei citozină (5' metilcitozină sau în contextul unei nucleotide, 5' metilcitolină) și/sau 4'tioatarea bazei uracil (4'tiouracil sau în contextul unei nucleotide, 4'tiouridină). Diferite legături modificate chimic compatibile pot fi combinate unde condițiile sintezei sunt compatibile chimic cum ar fi a avea o oligonucleotidă cu legături fosforotioat, o modificare 2' riboză (cum ar fi 2'O-metilarea) și o bază modificată (precum 5'metilcitozina). ON poate ulterior fi modificată complet cu toate aceste diverse modificări (de ex. fiecare legătură fosforotioat, fiecare riboză 2' modificată și fiecare bază care este modificată).
- Așa cum este cuprins aici, termenul "polimer al acidului nucleic" sau PAN este orice ON dublu-catenară care nu conține funcționalitate specifică unei secvențe, fie pentru a hibridiza cu o țintă de acid nucleic sau a adopta o structură secundară specifică unei secvențe care rezultă în legarea de o proteină specifică. Activitatea biochimică a PAN nu este dependentă de recunoașterea receptorului tocilar al ON-elor, hibridizarea cu o țintă de acid nucleic sau interacțiunea aptamERICĂ care necesită o structură secundară/terțiară specifică a ON derivată dintr-o ordine specifică a nucleotidelor prezente. PAN pot include modificări ale bazei și sau ale legăturii și sau ale zahărului precum este descris mai jos. PAN necesită ca fosforotioarea să aibă activitate antivirală. Compușii PAN antivirali exemplari sunt enumerați în Tabelul 1:

25

Exemple de PAN care pot fi utili în descrierea curentă

Tabelul 1

Tipul de Acid nucleic	Secvența (5' – 3')	Modificări
ADN	(dAdC) ₂₀ (SEQ ID NR: 2)	Toate legăturile PS
ADN	(dCdA) ₂₀ (SEQ ID NR: 1)	Toate legăturile PS
ADN	(dA-5'MedC) ₂₀ (SEQ ID NR: 3)	Toate legăturile PS
ADN	(5'MedC-dA) ₂₀ (SEQ ID NR: 4)	Toate legăturile PS
ARN	(AC) ₂₀ (SEQ ID NR: 5)	Toate legăturile PS Toate ribozele cu modificare 2'OMe
ARN	(CA) ₂₀ (SEQ ID NR: 6)	Toate legăturile PS Toate ribozele cu modificare 2'OMe
ADN	(dTdG) ₂₀ (SEQ ID NR: 7)	Toate legăturile PS
ADN	(dGdT) ₂₀ (SEQ ID NR: 8)	Toate legăturile PS
ARN	(5'MeC-A) ₂₀ (SEQ ID NR: 9)	Toate legăturile PS Toate ribozele cu modificare 2'OMe
ARN	(A- 5'MeC) ₂₀ (SEQ ID NR: 10)	Toate legăturile PS Toate ribozele cu modificare 2'OMe
ARN / ADN	(A-5'MedC) ₂₀ (SEQ ID NR: 11)	Toate legăturile PS Toate ribozele pe riboadenozină sunt 2'OMe modificate
ARN	(A-5'MeC) ₂₀ (SEQ ID NR: 12)	Toate legăturile PS Toate ribozele cu modificare 2'OMe cu excepția riboadenozinele pe pozițiile 13 și 27 (care sunt 2'H)

ARN	(A-5'MeC) ₂₀ (SEQ ID NR: 13)	Toate legăturile PS Toate ribozele cu modificare 2'OMe cu excepția riboadenozinele pe pozițiile 11, 21 și 31 (care sunt 2'H)
ARN	(A-5'MeC) ₂₀ (SEQ ID NR: 14)	Toate legăturile PS Toate ribozele 5'MeC sunt 2'OMe modificate
ARN / ADN	(dA-5'MeC) ₂₀ (SEQ ID NR: 15)	Toate legăturile PS Toate ribozele 5'MeC sunt 2'OMe modificate
ARN / ADN	(5'MedC-A) ₂₀ (SEQ ID NR: 16)	Toate legăturile PS Toate ribozele A sunt 2'OMe modificate
ARN	(5'MeC-A) ₂₀ (SEQ ID NR: 17)	Toate legăturile PS Toate ribozele cu modificare 2'OMe cu excepția riboadenozinele pe pozițiile 14 și 28 (care sunt 2'H)
ARN	(5'MeC-A) ₂₀ (SEQ ID NR: 18)	Toate legăturile PS Toate ribozele cu modificare 2'OMe cu excepția riboadenozinelor pe pozițiile 10, 20 și 30 (care sunt 2'H)
ARN	(5'MeC-A) ₂₀ (SEQ ID NR: 19)	Toate legăturile PS Toate ribozele 5'MeC sunt 2'OMe modificate
ARN / ADN	(5'MeC-dA) ₂₀ (SEQ ID NR: 20)	Toate legăturile PS Toate ribozele 5'MeC sunt 2'OMe modificate

dA = deoxiadenozină, A = adenzină, dC = deoxicitidină, C = citidină, dT = deoxitimidină, dG = deoxiguanozină, PS = fosforotioat, 2'OMe = 2' O metil, citidină 5'MeC = 5'metilcitozină-modificată, deoxicitidină 5'MedC = 5'metilcitozină-modificată

- 5 În prezenta descriere, termenul "complex ON chelat" se referă la două sau mai multe ON-e legate intermolecular de un cation metalic divalent sau multivalent și poate avea loc în cazul ON-elor mono-catenare sau dublu-catenare. Complecșii ON chealați neutralizează proprietățile de chealare inerente ale ON-elor care pot contribui la efectele secundare asociate cu administrarea acestor compuși. Administrarea complecșilor ON chealați este o metodă în administrare a unei ON
- 10 la un subiect unde efectele secundare ce țin de administrare asociate cu ON-ele ne-chelat (care sunt ON-ele administrate ca săruri de sodiu așa cum este utilizat pe larg în domeniu) sunt atenuate precum este descris în US 8,513,211 și 8,716,259, care sunt încorporate aici prin referință în întregime. Aceste efecte secundare pot include tremurare, febră și frisoane cu infuzie intravenoasă sau durată, inflamație și dureri în zona injecției administrate subcutanat. Administrarea
- 15 complecșilor ON chealați nu intervine în activitatea biochimică a ON-elor când sunt utilizați în mod normal ca săruri de sodiu. Prin urmare orice PAN descris aici poate fi preparat opțional ca un complex ON chelat fără a afecta activitate biochimică a acestora.

- Complecșii ON chealați pot conține diverși cationi metalici multivalenți inclusiv calciu, magneziu, cobalt, fier, mangan, bariu, nichel, cupru, zinc, cadmiu, mercur și plumb. Este
- 20 demonstrat suplimentar că chelarea acestor ioni metalici multivalenți rezultă în formarea complecșilor ON chealați compuși din două sau mai multe ON-e legate prin cationi metalici și are loc cu ON-ele mai mari de 6 nucleotide lungime, și în prezența ON-elor fie cu legături fosfodiester sau fosforotioat. ON-ele pot avea opțional fiecare câte o legătură fosforotioat. Chelarea de asemenea are loc cu ON-ele ce conțin 2' modificări (cum ar fi 2' O metil) pe riboză sau ce conțin
- 25 baze modificate așa ca 5'metilcitozina sau 4-tiouracil. Aceste 2' modificări pot fi prezente pe una sau mai multe sau toate ribozele și bazele modificate pot fi prezente pe una sau mai multe baze sau fi universal prezente pe fiecare bază (adică, toate citozinele sunt prezente ca 5'metilcitozină). Adicional, complecșii ON chealați pot conține ON-e care conțin multiple modificări precum fiecare legătură fosforotioat, fiecare riboză 2' modificată și fiecare bază modificată. Modificările ON

compatibile cu formulările complexelor ON chelați sunt definite suplimentar mai sus. În plus, chelarea cationilor metalici nu este dependentă de secvența de nucleotide prezentă dar în schimb se bazează pe caracteristicile fizico-chimice comune tuturor ON-elor.

5 În timp ce formarea complexelor ON chelați poate fi atinsă cu orice cation metalic divalent, complexii ON chelați care se intenționează a fi folosiți pentru utilizarea ca medicamente ar trebui să conțină de preferat doar calciu și sau magneziu dar pot de asemenea conține fier, mangan, cupru sau zinc în cantități detectabile și nu trebuie să includă cobalt, bariu, nichel, cadmiu, mercur, plumb sau orice alt metal divalent care nu este menționat aici.

10 Așa cum este descris în US 2014/0065192, îndepărtarea HBsAg din sângele pacienților infectați prin PAN fosforotonaț rezultă în restabilirea parțială a răspunsului imun care în schimb înlătură e-antigenul HVB (eAgHB) din sânge și rezultă în reducerea substanțială a nivelurilor de virus în sânge în timpul tratamentului dar aceste efecte antivirale nu sunt menținute la majoritatea pacienților după ce tratamentul este încheiat. În timp ce această restabilire parțială a răspunsului imun (în absența HBsAg și altor antigeni virali) poate conduce la stabilirea controlului imunologic durabil al infecției HVB după ce tratament este încheiat la o mică parte dintre pacienți, este necesară stabilirea controlului imunologic al infecției la o parte chiar mai mare dintre pacienți. O îmbunătățire la partea de pacienți care ating controlului imunologic durabil după tratament poate fi realizată prin folosirea PAN fosforotonaț în combinație cu alți agenți antiviral pentru a îmbunătăți viteza și potența răspunsului antiviral la tratament. Va fi de dorit evitarea utilizării imunoterapiei ca atare ca tratament bazat pe interferon sau alte imunoterapii intrucat acestea sunt adesea asociate cu efecte secundare care fac terapia mult mai dificil de tolerat pentru pacienți.

25 Termenul “îndepărtarea HBsAg din sânge” așa cum este utilizat aici înseamnă orice reducere statistică semnificativă a concentrației HBsAg în sânge în raport cu concentrațiile de HBsAg în sânge înainte de tratament așa cum este măsurat de testul HBsAg cantitativ al Abbott Architect™ sau alt mod de măsurare al HBsAg din ser acceptat din punct de vedere chimic.

Regimuri de dozare exemplare eficiente pentru PAN fosforotonaț le urmează pe cele utilizate de obicei pentru alte ON-e fosforotonaț (cum ar fi oligonucleotidele anti-sens) precum este descris în US 2014/0065102; utilizarea de rutină a administrării parenterale săptămânale a 100-500 mg de compus este bine definită în domeniu pentru a avea ca rezultat atingerea nivelurilor terapeutice active ale acestor compuși în ficat precum este descris PAN în Exemplul I mai jos și pentru o ON fosforotonaț anti-sens cauzând degradarea mARN-ului specific ficatului (pentru o poliproteină B100) precum este descris în (Akdim și al. Journal of American College of Cardiology, 55, 2010, p. 1611-1618).

35 Prin urmare, conform dezvăluirilor prezentate aici, este utilă tratarea unui subiect cu infecție HVB sau co-infecție HVB/HVD cu o formulare acceptabilă de fosforotonaț al PAN în combinație cu o nucleozidă/nucleotidă de inhibiție a polimerazei HVB farmaceutic acceptabilă.

Este de asemenea utilă administrarea ambilor agenți farmaceutic acceptabili în aceeași compoziție farmaceutică sau administrarea ambilor agenți farmaceutic acceptabili în compoziții farmaceutice separate în același moment de timp sau în momente de timp diferite.

40 Este utilă administrarea agenților farmaceutic acceptabili prin aceeași sau diferite căi de administrare.

Pentru a oferi cel mai bun răspuns antiviral posibil la un subiect, poate fi necesar de a utiliza mai mult decât un inhibitor ai polimerazei HVB pentru a bloca la maxim polimerazele HVB și prin urmare a avea cel mai mare efect maxim asupra blocării reprovizionării cccDNA. Prin urmare unul sau mai mulți inhibitori ai polimerazei HVBs pot fi selectați din nucleozidele analog ce urmează:

lamivudina;
adefovîr dipivoxil;
entecavîr;
50 telbivudina;
tenofovîr disoproxil fumarat;
entricitabina;
clevudina;
besifovîr;
55 tenofovîr alafenamid fumarat;
AGX-1009;
elvucitabina;
lagociclovîr valactat;
pradefovîr mezilat;

valtorcitabina; și

orice nucleozidă / nucleotidă analog care inhibă polimerazele HVB.

Compozițiile descrise aici pot fi administrate prin orice căi potrivite, de exemplu, oral, cum ar fi în formă de comprimate, capsule, granule sau pudre; sublingual; bucal; parenteral, cum ar fi
 5 injectii subcutanate, intravenoase, sau tehnici de perfuzie (de ex., ca soluții sau suspensii sterile injectabile apoase sau non-apoase); prin inhalare; topic, cum ar fi în formă de cremă sau unguent; sau rectal cum ar fi în formă de supozitoare sau clismă; în formulări unitare de dozare ce conțin vehicoli sau diluanți non-toxici, farmaceutic acceptabili. Prezentele compoziții pot, de exemplu, fi
 10 administrate în forme potrivite pentru eliberarea imediată sau eliberarea extinsă. Eliberarea imediată sau eliberarea extinsă poate fi realizată prin utilizare compozițiilor farmaceutice, sau, în special în cazul eliberării extinse, prin utilizarea dispozitivelor precum implante subcutanate sau pompe osmotice. Prin urmare, compozițiile menționate mai sus pot fi adaptate pentru administrarea prin oricare dintre căile cele ce urmează: ingestia orală, inhalare, injecție subcutanată, injecție intravenoasă sau infuzie, sau topic.

15 Prezența descriere va fi mult mai ușor înțeleasă prin referire la următorul exemplu.

Exemplul I

Efectul terapiei combinatorii NAP/ETV asupra concentrației plasmatice HBsAg.

O formulare farmaceutic acceptabilă NAP REP 2055 (SEQ ID NO: 2) a fost administrată la un pacient cu infecție HIV cronică prin perfuzia IV, o dată pe săptămână, 400 mg. Răspunsul
 20 HBsAg din ser la acest pacient a fost monitorizat în timp real în fiecare săptămână folosind ELISA calitativ calificat la fața locului. Această metodă ELISA este foarte sensibilă la nivele joase de HBsAg dar nu poate cuantifica cu precizie orice concentrație semnificativă de HBsAg în sânge. Cu toate că nu s-a observat o reducere detectabilă a HBsAg în ser folosind acest test HBsAg pe durata monoterapiei REP 2055 (Fig. 1, pătrate), acest pacient a prezentat o foarte ușoară scădere (~ 1 log)
 25 al concentrației virema în plasma (ser HVB ADN), indicând faptul că un gen al răspunsului antiviral a avut loc. Prin urmare, după 29 săptămâni de monoterapie REP 2055, acest pacient a primit terapie de inhibare a polimerazei HVB care în plus la terapie REP 2055 existentă care constă din 0,5 mg de entecavir luat oral fiecare zi.

Reduceri imediate a HBsAg în ser au fost detectate prin testarea calitativă în două
 30 săptămâni de la începutul combinării REP 2055/ETV și HBsAg din ser a devenit nedetectabil în ELISA calitativă în 4 săptămâni după începutul tratamentului combinat (Fig. 1, pătrate). Acest control sinergic a HBsAg din ser cu tratamentul combinat REP 2055/ETV a fost menținut timp de multe săptămâni de tratament.

Pentru a confirma activitatea sinergică a terapiei combinate REP 2055 / ETV privind
 35 suprimarea HBsAg, probele de ser de la acest pacient au fost reanalizate folosind platforma IMPACT pentru a cuantifica cu precizie nivelele de HBsAg în ser așa cum este descris în (Neit și al. Antiviral Ther., 19, 2014, p. 259-267). Aceasta analizează cantitativă a arătat o reducere inițială ~ 2 a HBsAg din ser produs cu monoterapia REP 2055 (Fig. 1 cercuri), care nu a fost detectabil prin ELISA cantitativă și care a fost probabil cauza căderii observate ~ 1 log în viremia produsă de
 40 monoterapia REP 2055 descrisă mai sus. Important, reducerea HBsAg în ser la acest pacient a ajuns la un platou unde concentrația semnificativă a HBsAg în ser a fost prezentă stabil începând de la 10 săptămâni de tratament REP 2055 până la începerea terapiei combinatorii REP 2055/ETV la a 29 săptămână de tratament. Cu debutul tratamentului combinatoriu REP 2055/ETV, analiza cantitativă HBsAg din ser a demonstrat o reducere aproape identică și rapidă a HBsAg în ser așa
 45 cum a fost observată cu testul calitativ la fața locului, cu reduceri suplimentare depășind 1,5 lochi care au fost de asemenea realizată în 4 săptămâni după începutul tratamentului combinatoriu REP 2055/ETV.

Persistența nivelelor joase a HBsAg din ser în prezența monoterapiei REP 2055 este o
 indicație că cccDNA era încă prezent în ficatul acestui pacient care a fost transcripțional activ.
 50 Eliberarea foarte rapidă suplimentară a HBsAg din ser cu adăugarea ETV la terapia REP 2055 existentă este o indicație că un un efect sinergic asupra controlului transcripțional cccDNA și sau eliminarea a avut loc. Important, dezvoltarea acestui control suplimentar a cccDNA a decurs mult mai rapid decât s-a observat la inhibitorii polimerazei HVBs folosiți în monoterapie, necesită numai 4 săptămâni pentru a fi realizați. Prin urmare, aceste observații sunt o demonstrație al
 55 efectului antiviral sinergic nou al reducerii HBsAg din ser (în acest caz realizat folosind NAP REP 2055) combinat cu un inhibitor al polimerazei HVB (în acest caz entecavir).

Exemplul II

Efectele antivirale ale diferitor NAPs în rațele Pekin infectate cu DHVB

Variați NAPs ce conțin diferite modificări ale acidului nucleic au fost testați pe rațe de Pekin infectate DHVB pentru a stabili activitatea lor antivirală. Acești NAPs sunt REP 2055 (SEQ ID NO: 2), REP 2139 (SEQ ID NO: 10), REP 2163 (SEQ ID NO: 11) și REP 2165 (SEQ ID NO: 13). Tabelul 2 oferă o descriere chimică a acestor NAPs.

5

Descrierea NAPs folosiți în Exemplul II

Tabelul 2

NAP	Secvența	Modificări prezente ale oligonucleotidei
REP 2055 (SEQ ID NO: 2)	(dAdC) ₂₀	Fiecare legătură este fosforotionată
REP 2139 (SEQ ID NO: 10)	(A, 5' MeC) ₂₀	Fiecare legătură este fosforotionată Fiecare riboză este 2'O metilată
REP 2163 (SEQ ID NO: 11)	(A, 5' MedC) ₂₀	Fiecare legătură este fosforotionată Doar ribozele din adenzină sunt 2'O metilate
REP 2165 (SEQ ID NO: 13)	(A, 5' MeC) ₂₀	Fiecare legătură este fosforotionată Fiecare riboză este 2'O metilată cu excepția adenozinelor din pozițiile 11, 21 și 31 unde ribozele sunt 2'OH.

dA = deoxiriboadenzina

dC = deoxiribocitidina

A = riboadenzina

5' MeC = ribo-5' metilcitidina

5' MedC = deoxiribo-5' metilcitidina

10

15

20

Rătuștele de Pekin de trei zile au fost infectate cu 2×10^{11} echivalenți ai genomului viral (VGE)/ml DHVB. Tratamentul NAP a fost început 11 zile mai târziu după ce infecția a fost stabilită. NAPs au fost administrați prin injecție intraperitoneală cu 10 mg/kg de NAPs (format ca complex chelat de calciu) 3 ori/săptămână pentru trei săptămâni urmată de analiza efectului antiviral la sfârșitul tratamentului. Un grup de control a fost tratat cu soluție salină normală prin aceeași rută de administrare și cu același regim de dozare. Activitate antivirală a fost evaluată prin monitorizarea DHBsAg din ser prin ELISA (Fig. 2A) și DHVB ADN hepatic prin PCR cantitativ (Fig. 2B).

25

Toți NAPs rezultați din reducerile DHBsAg din ser și DHVB ADN hepatic, demonstrează că diferiți NAPs ce conțin diverse modificări oligonucleotidice vor avea efect antiviral comparabil. La rândul său aceasta indică că activitatea antivirală sinergică observat la utilizarea unui NAP specific și a unui sau mai mulți analog al nucleozidei bazat pe inhibitori ai polimerazei HVBs (așa cum s-a observat cu REP 2055 și entecavir în exemplul I de mai sus) va decurge cu orice alt NAP fosforotionat și de asemenea cu orice NAP fosforotionat menționat format ca un complex chelat (așa cum este descris în US 8,513,211 și 8,716,259).

Exemplul III

30

Efectele antivirale ale NAPs în combinație cu TDF și ETV în rațele de Pekin infectate DHVB.

35

Efectul antiviral al tratamentului combinat cu complexul chelat de calciu al REP 2139 (REP 2139-Ca) și TDF sau REP 2139-Ca și TDF și ETV în rațele de Pekin infectate DHVB a fost examinat prin evaluarea schimbărilor în nivelele de DHVB ADN în ser și hepatic pe durata și după tratament prin PCR cantitativ. Infecția la rațe terminată așa cum este descris în exemplul II cu excepția tratamentul a fost început o lună după infecție. Regimurile de tratament au fost următoarele:

1) Soluția salină normală administrată prin injecție IP 3 ori pe săptămână timp de 4 săptămâni

2) TDF, administrat 15 mg/zi prin gavaj oral timp de 28 zile

40

3) REP 2139-Ca, administrat 10 mg/kg prin injecție IP, 3 ori pe săptămână timp de 4 săptămâni.

4) REP 2139-Ca și TDF (dozat ca mai sus)

5) REP 2139-Ca și TDF (dozat ca mai sus) și ETV administrat 1 mg/zi prin gavaj oral timp de 28 zile.

DHVB ADN din ser a fost evaluat pre-tratament (timp punct A), la ziua 14 de tratament (timp punct B), la sfârșitul tratamentului (timp punct C) și una și două luni după ce tratamentul a fost întrerupt (control, timp punct D și E).

În grupul tratat cu soluție salină normală, nu a fost observat nici un control DHVB ADN pe parcursul tratamentului, cu toate că DHVB ADN devine controlat spontan la 3 rate în acest grup pe parcursul controlului (Fig. 3A). În grupul tratat cu TDF, DHVB ADN în ser a fost redus la toate ratele dar controlul nu a fost realizat la toate ratele până la sfârșitul tratamentului. DHVB ADN revenit la toate ratele în acest grup în timpul controlului (Fig. 3B). În grupul tratat cu REP 2139-Ca, nu s-au observat schimbări în DHVB ADN la două rate pe tot parcursul studiului, DHVB ADN a fost controlat la sfârșitul tratamentului doar la două rate și au devenit controlate spontan la două rate suplimentar în timpul controlului (Fig. 3C). Când REP 2139-Ca a fost combinat cu TDF controlul DHVB ADN a decurs în toate dar o rată la jumătatea tratamentului și a fost în general mai rapid decât controlul realizat în grupele tratate fie cu REP 2139-Ca sau TDF singur. Când REP 2139-Ca a fost combinat cu TDF și ETV, DHVB a fost controlat la toate ratele la jumătatea tratamentului (Fig. 3E). Proporția de rate care au menținut controlul DHVB ADN din ser în timpul controlului a fost mai mare cu REP 2139-Ca și TDF combinat (sau TDF și ETV) decât cu TDF sau REP 2139-Ca singur (Fig. 3D și E).

Aceste observații ne învață că răspunsul antiviral în timpul tratamentului în infecția HVB poate fi îmbunătățit sinergic prin combinarea REP 2139-Ca și TDF sau TDF și ETV și poate conduce la un răspuns virusologic îmbunătățit susținut comparat cu cel realizat cu REP 2139-Ca sau TDF singur. Activitatea sinergică văzută în Exemplul de mai sus poate fi așteptat să decurgă cu orice NAP activ împotriva HVB așa cum este descris aici și cu orice analog nucleotidic/nucleozidic bazat pe inhibitor al polimerazei HVB așa cum este descris aici. Suplimentar, NAPs folosiți în combinație cu mai mult decât o nucleozidă/nucleotidă inhibitor al polimerazei HVB pot de asemenea fi folosiți cu efect antiviral sinergic productive similar.

Efectele sinergice al tratamentului combinat NAP/TDF/ETV conduce la viteza îmbunătățită al răspunsului antiviral, demonstrând potențialul pentru regimuri de tratament mai scurte capabil să atingă răspuns virusologic susținut după tratament. Acest potențial ar putea de asemenea fi realizat cu orice combinație al NAP și analogului nucleotidei/nucleozidei a inhibitorului polimerazei HVB tratament descris aici.

Prin urmare, aceste observații ne învață că orice formulare NAP farmaceutic acceptabil fosforotonaț care reduce sau elimină HBsAg din sânge (așa cum este descris în US 2014/0065102 și US 8,008,269, 8,008,270 și 8,067,385) ar putea fi combinată cu orice nucleozidă/nucleotidă inhibitor al polimerazei HVB cum este menționat de mai sus și este așteptat să atingă un efect sinergic asupra vitezei cu care controlul de viremia în ser poate fi realizată și sau inactivarea transcripțională și sau eliminarea HVB cccDNA. Efectele sinergice observate de asemenea ne învață că dozele mai joase ale agentului farmaceutic acceptabil menționat ar putea fi combinat și încă atinge o activitate sinergică cu un efect antiviral util.

Având în vedere efectele sinergice observate de mai sus cu un NAP fosforotonaț folosit în combinație cu o nucleozidă/nucleotidă inhibitor al polimerazei HVB, un efect sinergic superior poate de asemenea fi realizat cu unul sau mai mulți NAPs fosforotonați folosiți în combinație cu una sau mai multe nucleozide/nucleotide inhibitori ai polimerazei HVBs precum este descris mai jos.

Descrierea de mai sus este destinată să fie exemplară doar, și un specialist din domeniu va recunoaște că schimbările pot fi realizate în exemplele de realizare descrise fără a se îndepărta de domeniul de aplicare a invenției precum este definit în revendicările atașate. Alte modificări suplimentare care intră sub incidența domeniului de aplicare a prezentei invenții, precum este definit în revendicările atașate, vor fi evidente pentru specialiștii din domeniu, în lumina unei reexaminări a acestei divulgări, fără a se îndepărta de domeniul de aplicare a invenției precum este definit în revendicările atașate.

SECVENȚE

<110> REPLICOR INC.

<120> METODE DE TRATAMENT A INFECȚIILOR VIRUSULUI DE HEPATITA B
ȘI HEPATITA D

<130> 05016051-40PCT

<150> 62/022,846

<151> 2014-07-10

<160> 20

<170> FastSEQ pentru Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 40

<212> ADN

<213> Secvență Artificială

<220>

<223> Fosforotionat complet

<400> 1

cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca
40

<210> 2

<211> 40

<212> ADN

<213> Secvență Artificială

<220>

<223> REP 2055, Fosforotionat complet

<400> 2

acacacacac acacacacac acacacacac acacacacac
40

<210> 3

<211> 40

<212> ADN

<213> Secvență Artificială

<220>

<223> REP 2148, Fosforotionat complet, C = 5'
metilcitidina

<400> 3

acacacacac acacacacac acacacacac acacacacac
40

<210> 4

<211> 40

<212> ADN

<213> Secvență Artificială

<220>

MD 4760 C8 2022.02.28

18

<223> Fosforotionat complet, C = 5' metilcitidina

<400> 4

cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca
40

<210> 5

<211> 40

<212> ARN

<213> Secvență Artificială

<220>

<223> REP 2153, Fosforotionat complet, 2' O metilriboza complet
modificată

<400> 5

acacacacac acacacacac acacacacac acacacacac
40

<210> 6

<211> 40

<212> ARN

<213> Secvență Artificială

<220>

<223> Fosforotionat complet, 2' O metilriboza complet
modificată

<400> 6

cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca
40

<210> 7

<211> 40

<212> ADN

<213> Secvență Artificială

<220>

<223> REP 2033, Fosforotionat complet

<400> 7

tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg
40

<210> 8

<211> 40

<212> ADN

<213> Secvență Artificială

<220>

<223> Fosforotionat complet

<400> 8

gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt
40

<210> 9

<211> 40

<212> ARN

<213> Secvență Artificială

<220>
 <223> Fosforotionat complet, 2' O metilriboza complet
 modificată,
 fiecare citozină 5' metilată

<400> 9
 cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca
 40

<210> 10
 <211> 40
 <212> ARN
 <213> Secvență Artificială

<220>
 <223> REP 2139, Fosforotionat complet, 2' O
 metilriboză complet modificată, fiecare citozină 5'
 metilată

<400> 10
 acacacacac acacacacac acacacacac acacacacac
 40

<210> 11
 <211> 40
 <212> ADN
 <213> Secvență Artificială

<220>
 <223> REP 2163, Fosforotionat complet, fiecare citozină 5'
 metilată

<220>
 <221> misc_trăsătură
 <222> 1,3,5,7,9,11,13,15,17,19,21,23,25,27,29,31,33,35,
 37,39
 <223> modificarea 2' O metilribozei

<400> 11
 acacacacac acacacacac acacacacac acacacacac
 40

<210> 12
 <211> 40
 <212> ARN
 <213> Secvență Artificială

<220>
 <223> REP 2164, Fosforotionat complet, fiecare citozină 5'
 metilată

<220>
 <221> misc_trăsătură
 <222> 1-12, 14-26, 28-40
 <223> modificarea 2' O metilribozei

<400> 12

MD 4760 C8 2022.02.28

20

acacacacac acacacacac acacacacac acacacacac
40

<210> 13
<211> 40
<212> ARN
<213> Secvență Artificială

<220>
<223> REP 2165, Fosforotionat complet, fiecare citozină 5'
metilată

<220>
<221> misc_trăsătură
<222> 1-10, 12-20, 22-30, 32-40
<223> modificarea 2' O metilribozei

<400> 13
acacacacac acacacacac acacacacac acacacacac
40

<210> 14
<211> 40
<212> ARN
<213> Secvență Artificială

<220>
<223> REP 2166, fosfotionat complet, fiecare citozină
5' metilată și 2'O metilriboza modificată

<400> 14
acacacacac acacacacac acacacacac acacacacac
40

<210> 15
<211> 40
<212> ADN
<213> Secvență Artificială

<220>
<223> REP 2167, Fosforotionat complet, fiecare citozină 5'
metilată

<220>
<221> misc_trăsătură
<222> 2,4,6,8,10,12,14,16,18,20,22,24,26,28,30,32,34
36,38,40
<223> modificarea 2' O metiribozei

<400> 15
acacacacac acacacacac acacacacac acacacacac
40

<210> 16
<211> 40
<212> ADN
<213> Secvență Artificială

<220>

MD 4760 C8 2022.02.28

21

<223> Fosforotionat complet, fiecare citozină 5' metilată

<220>

<221> misc_trăsătură

<222> 2,4,6,8,10,12,14,16,18,20,22,24,26,28,30,32,34
36,38,40

<223> modificarea 2' O metilribozei

<400> 16

cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca
40

<210> 17

<211> 40

<212> ARN

<213> Secvență Artificială

<220>

<223> Fosforotionat complet, fiecare citozină 5' metilată

<220>

<221> misc_trăsătură

<222> 1-13, 15-27, 29-40

<223> modificarea 2' O metilribozei

<400> 17

cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca
40

<210> 18

<211> 40

<212> ARN

<213> Secvență Artificială

<220>

<223> Fosforotionat complet, fiecare citozină 5' metilată

<220>

<221> misc_trăsătură

<222> 1-9, 11-29, 21-29, 31-40

<223> modificarea 2' O metilribozei

<400> 18

cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca
40

<210> 19

<211> 40

<212> ARN

<213> Secvență Artificială

<220>

<223> Fosforotionat complet, fiecare citozină
5' metilată și 2'O metilriboza modificată

<400> 19

cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca
40

<210> 20
 <211> 40
 <212> ADN
 <213> Secvență Artificială

 <220>
 <223> Fosforotionat complet, fiecare citozină 5' metilată

 <220>
 <221> misc trăsătură
 <222> 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35,
 37, 39
 <223> modificarea 2' O metilribozei

 <400> 20
 cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. Fung et al. Am. J. Gastroenterol. no 106, 2011, p. 1766-1773
2. US 2014065102 A1 2014.03.06

(57) Revendicări:

1. Compoziție, care conține un prim agent farmaceutic acceptabil, care conține un complex chelat al cel puțin unui polimer al acidului nucleic tiofosfat și al doilea agent farmaceutic acceptabil, care conține cel puțin un analog nucleozidic/nucleotidic inhibitor al polimerazei HVB, pentru tratamentul infecției HVB sau co-infecției HVB/HVD la un subiect în lipsa imunoterapiei.

2. Compoziție, care conține un prim agent farmaceutic acceptabil, care conține un complex chelat al unui sau mai multor polimeri ai acizilor nucleici, selectați din variantele ce urmează:

secvența SEQ ID NR: 2;

secvența SEQ ID NR: 10;

secvența SEQ ID NR: 13;

secvența SEQ ID NR: 1, 3-9, 11, 12 și 14-20;

un oligonucleotid tiofosfat cu o lungime de 20...120 de nucleotide, care conține repetări ale secvenței AC;

un oligonucleotid tiofosfat cu o lungime de 20...120 de nucleotide, care conține repetări ale secvenței CA;

un oligonucleotid tiofosfat cu o lungime de 20...120 de nucleotide, care conține repetări ale secvenței TG;

un oligonucleotid tiofosfat cu o lungime de 20...120 de nucleotide, care conține repetări ale secvenței GT; și

al doilea agent farmaceutic acceptabil, care conține una sau mai multe dintre substanțele ce urmează:

lamivudină;

adefovir dipivoxil;

entecavir;

telbivudină;

tenofovir disoproxil fumarat;

emtricitabină;

clevudină;

besifovir;

tenofovir alafenamidă fumarat;

AGX-1009;

elvucitabină;
 lagociclovir valactat;
 pradefovir mezilat;
 valtorcitabină; și

orice analog nucleozidic/nucleotidic, care inhibă polimerazele HVB, pentru tratamentul infecției HVB sau co-infecției HVB/HVD în lipsa imunoterapiei.

3. Compoziție, conform revendicării 1 sau 2, unde polimerul acidului nucleic conține suplimentar cel puțin o modificare a ribozei în poziția 2'.

4. Compoziție, conform oricărei din revendicările 1-3, unde polimerul acidului nucleic conține suplimentar riboze, toate având o modificare în poziția 2'.

5. Compoziție, conform oricărei din revendicările 1-4, unde polimerul acidului nucleic conține suplimentar cel puțin o modificare a 2'-O-metil ribozei.

6. Compoziție, conform oricărei din revendicările 1-5, unde polimerul acidului nucleic conține suplimentar riboze, toate având modificarea 2'-O-metil ribozei.

7. Compoziție, conform oricărei din revendicările 1-6, unde polimerul acidului nucleic conține suplimentar cel puțin o 5'-metil-citozină.

8. Compoziție, conform oricărei din revendicările 1-7, unde polimerul acidului nucleic conține suplimentar citozine, toate prezentate ca 5'-metilcitozină.

9. Compoziție, conform oricărei din revendicările 1-8, unde polimerul acidului nucleic conține suplimentar cel puțin o modificare a 2'-O-metil ribozei și cel puțin o 5'-metilcitozină.

10. Compoziție, conform oricărei din revendicările 1-9, unde polimerul acidului nucleic conține suplimentar riboze, toate având modificarea 2'-O-metil ribozei și citozine, toate prezentate ca 5'-metilcitozină.

11. Compoziție, conform oricărei din revendicările 1-10, unde complexul chelat este un complex chelat cu calciu.

12. Compoziție, conform oricărei din revendicările 1-10, unde complexul chelat este un complex chelat cu magneziu.

13. Compoziție, conform oricărei din revendicările 1-10, unde complexul chelat este un complex chelat cu calciu/magneziu.

14. Compoziție, conform oricărei din revendicările 1-13, unde primul și al doilea agent farmaceutic acceptabil menționați fac parte dintr-o singură compoziție farmaceutică.

15. Compoziție, conform oricărei din revendicările 1-13, unde primul și al doilea agent farmaceutic acceptabil menționați fac parte din compoziții farmaceutice diferite.

16. Compoziție, conform oricărei din revendicările 1-13, unde primul și al doilea agent farmaceutic acceptabil menționați sunt administrați simultan.

17. Compoziție, conform oricărei din revendicările 1-13, unde primul și al doilea agent farmaceutic acceptabil menționați sunt administrați într-un mod diferit.

18. Compoziție, conform oricărei din revendicările 1-17, unde primul și al doilea agent farmaceutic acceptabil menționați sunt administrați folosind una sau mai multe din următoarele modalități: ingestia orală, inhalarea aerosolurilor, injecție subcutanată, injecție intravenoasă și infuzie intravenoasă.

19. Prim agent farmaceutic acceptabil, care conține un complex chelat al cel puțin unui polimer al acidului nucleic tiofosfat și al doilea agent farmaceutic acceptabil, care conține cel puțin un analog nucleozidic/nucleotidic inhibitor al polimerazei HVB, pentru utilizare în tratamentul infecției HVB sau co-infecției HVB/HVD la un subiect în lipsa imunoterapiei.

20. Prim agent farmaceutic acceptabil, care include un complex chelat al cel puțin unui polimer al acidului nucleic tiofosfat și al doilea agent farmaceutic acceptabil, care include cel puțin un analog nucleozidic/nucleotidic inhibitor al polimerazei HVB, pentru utilizare în obținerea unui medicament pentru tratamentul infecției HVB sau co-infecției HVB/HVD la un subiect în lipsa imunoterapiei.

21. Prim agent farmaceutic acceptabil, care conține un complex chelat al unui sau mai mulți polimeri ai acizilor nucleici, selectați din variantele ce urmează:

secvența SEQ ID NR: 2;

secvența SEQ ID NR: 10;

secvența SEQ ID NR: 13;

secvența SEQ ID NR: 1, 3-9, 11, 12 și 14-20;

un oligonucleotid tiofosfat cu o lungime de 20...120 de nucleotide, care conține repetări ale secvenței AC;

un oligonucleotid tiofosfat cu o lungime de 20...120 de nucleotide, care conține repetări ale secvenței CA;

un oligonucleotid tiofosfat cu o lungime de 20...120 de nucleotide, care conține repetări ale secvenței TG;

un oligonucleotid tiofosfat cu o lungime de 20...120 de nucleotide, care conține repetări ale secvenței GT; și

al doilea agent farmaceutic acceptabil, care conține una sau mai multe din substanțele ce urmează:

lamivudină;

adefovir dipivoxil;

entecavir;

telbivudină;

tenofovir disoproxil fumarat;

emtricitabină;

clevudină;

besifovir;

tenofovir alafenamidă fumarat;

AGX-1009;

elvucitabină;

lagociclovir valactat;

pradefovir mezilat;

valtorcitabină; și

orice analog nucleozidic/nucleotidic, care inhibă polimerazele HVB, pentru utilizare în tratamentul infecției HVB sau co-infecției HVB/HVD în lipsa imunoterapiei.

22. Prim agent farmaceutic acceptabil, care conține un complex chelat al unui sau mai multor polimeri ai acizilor nucleici selectați din variantele ce urmează:

secvența SEQ ID NR: 2;

secvența SEQ ID NR: 10;

secvența SEQ ID NR: 13;

secvența SEQ ID NR: 1, 3-9, 11, 12 și 14-20;

un oligonucleotid tiofosfat cu o lungime de 20...120 de nucleotide, care conține repetări ale secvenței AC;

un oligonucleotid tiofosfat cu o lungime de 20...120 de nucleotide, care conține repetări ale secvenței CA;

un oligonucleotid tiofosfat cu o lungime de 20...120 de nucleotide, care conține repetări ale secvenței TG;

un oligonucleotid tiofosfat cu o lungime de 20...120 de nucleotide, care conține repetări ale secvenței GT; și

al doilea agent farmaceutic acceptabil, care conține una sau mai multe din substanțele ce urmează:

lamivudină;

adefovir dipivoxil;

entecavir;

telbivudină;

tenofovir disoproxil fumarat;

emtricitabină;

clevudină;

besifovir;

tenofovir alafenamidă fumarat;

AGX-1009;

elvucitabină;

lagociclovir valactat;

pradefovir mezilat;

valtorcitabină; și

orice analog nucleozidic/nucleotidic, care inhibă polimerazele HVB, pentru utilizare în obținerea unui medicament pentru tratamentul infecției HVB sau co-infecției HVB/HVD în lipsa imunoterapiei.

23. Prim agent farmaceutic acceptabil și al doilea agent farmaceutic acceptabil, conform oricărei din revendicările 19-22, pentru utilizare, unde polimerul acidului nucleic conține suplimentar cel puțin o modificare a ribozei în poziția 2'.

24. Prim agent farmaceutic acceptabil și al doilea agent farmaceutic acceptabil, conform oricărei din revendicările 19-23, pentru utilizare, unde polimerul acidului nucleic conține suplimentar riboze, toate având o modificare în poziția 2'.

25. Prim agent farmaceutic acceptabil și al doilea agent farmaceutic acceptabil, conform oricărei din revendicările 19-24, pentru utilizare, unde polimerul acidului nucleic conține suplimentar cel puțin o modificare a 2'-O-metil ribozei.

26. Prim agent farmaceutic acceptabil și al doilea agent farmaceutic acceptabil, conform oricărei din revendicările 19-25, pentru utilizare, unde polimerul acidului nucleic suplimentar conține riboze, toate având modificarea 2'-O-metil.

27. Prim agent farmaceutic acceptabil și al doilea agent farmaceutic acceptabil, conform oricărei din revendicările 19-26, pentru utilizare, unde polimerul acidului nucleic conține suplimentar cel puțin o 5'-metilcitozină.

28. Prim agent farmaceutic acceptabil și al doilea agent farmaceutic acceptabil, conform oricărei din revendicările 19-27, pentru utilizare, unde polimerul acidului nucleic conține suplimentar citozine, toate prezente ca 5'-metilcitozină.

29. Prim agent farmaceutic acceptabil și al doilea agent farmaceutic acceptabil, conform oricărei din revendicările 19-28, pentru utilizare, unde polimerul acidului nucleic conține suplimentar cel puțin o modificare a 2'-O-metil ribozei și cel puțin o 5'-metilcitozină.

30. Prim agent farmaceutic acceptabil și al doilea agent farmaceutic acceptabil, conform oricărei din revendicările 19-29, pentru utilizare, unde polimerul acidului nucleic conține suplimentar riboze, toate având modificarea 2'-O-metil și citozine, toate prezente ca 5'-metilcitozină.

31. Prim agent farmaceutic acceptabil și al doilea agent farmaceutic acceptabil, conform oricărei din revendicările 19-30, pentru utilizare, unde complexul chelat este un complex chelat cu calciu.

32. Prim agent farmaceutic acceptabil și al doilea agent farmaceutic acceptabil, conform oricărei din revendicările 19-30, pentru utilizare, unde complexul chelat este un complex chelat cu magneziu.

33. Prim agent farmaceutic acceptabil și al doilea agent farmaceutic acceptabil, conform oricărei din revendicările 19-30, pentru utilizare, unde complexul chelat este un complex chelat cu calciu/magneziu.

34. Prim agent farmaceutic acceptabil și al doilea agent farmaceutic acceptabil, conform oricărei din revendicările 19-33, pentru utilizare, unde primul și al doilea agent farmaceutic acceptabil menționați fac parte din aceeași compoziție farmaceutică.

35. Prim agent farmaceutic acceptabil și al doilea agent farmaceutic acceptabil, conform oricărei din revendicările 19-33, pentru utilizare, unde primul și al doilea agenți farmaceutic acceptabili menționați fac parte din compoziții farmaceutice diferite.

36. Prim agent farmaceutic acceptabil și al doilea agent farmaceutic acceptabil, conform oricărei din revendicările 19-33, pentru utilizare, unde primul și al doilea agenți farmaceutic acceptabili menționați fac parte din compoziția pentru administrare simultană.

37. Prim agent farmaceutic acceptabil și al doilea agent farmaceutic acceptabil, conform oricărei din revendicările 19-33, pentru utilizare, unde primul și al doilea agenți farmaceutic acceptabili menționați fac parte din compoziția pentru administrare în moduri diferite.

38. Prim agent farmaceutic acceptabil și al doilea agent farmaceutic acceptabil, conform oricărei din revendicările 19-37, pentru utilizare, unde primul și al doilea agenți farmaceutic acceptabili menționați fac parte din compoziția pentru administrare folosind una sau mai multe din următoarele metode: ingestia orală, inhalarea aerosolurilor, injecție subcutanată, injecție intravenoasă și infuzie intravenoasă.

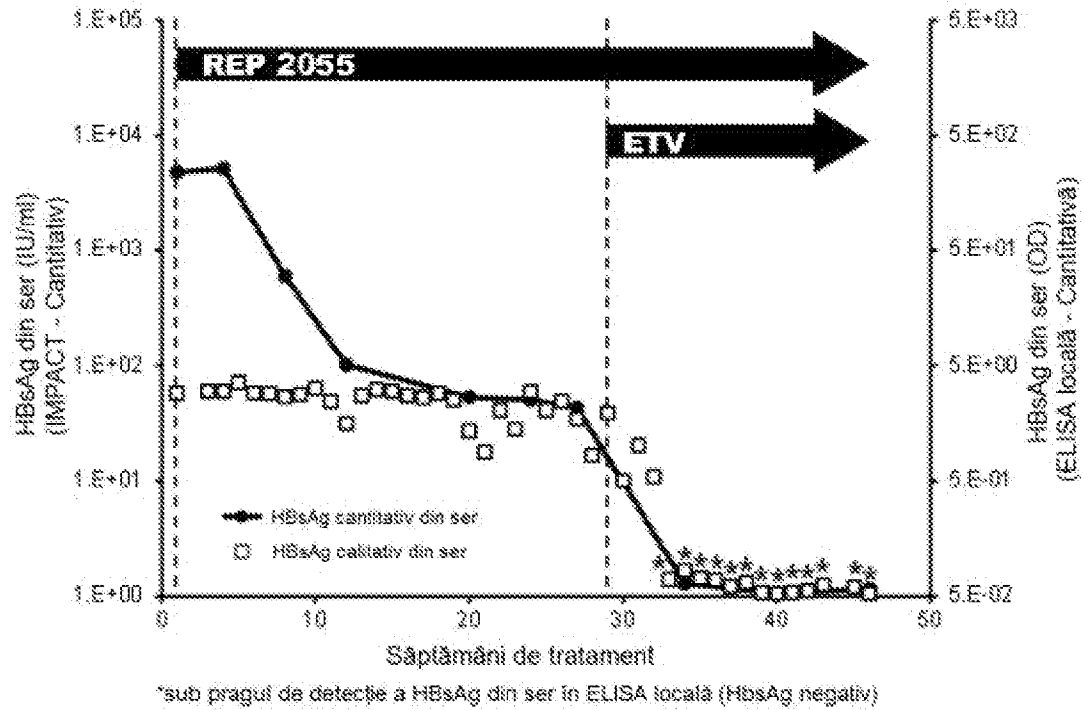


Fig. 1

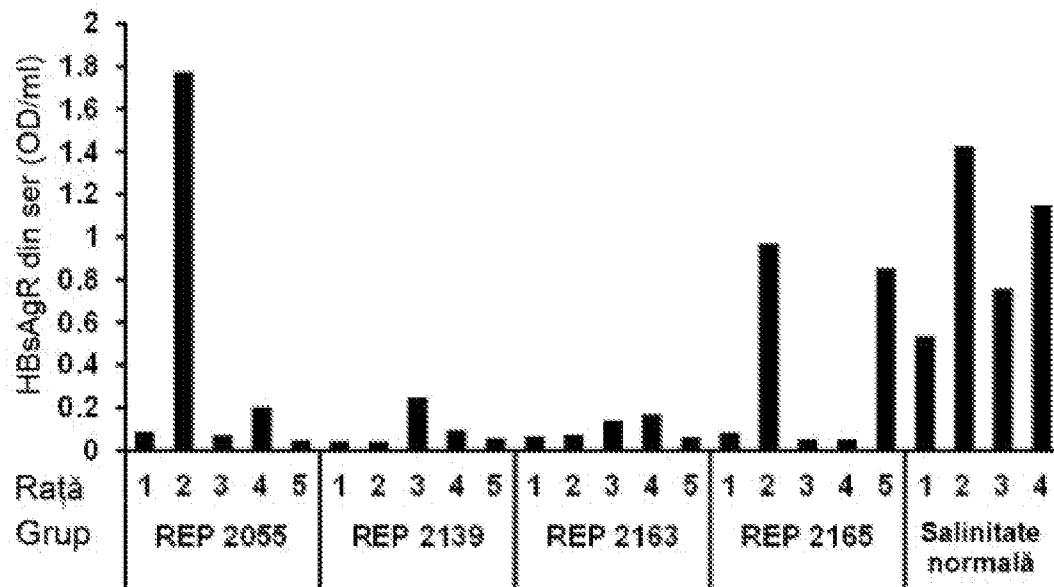


Fig. 2 A

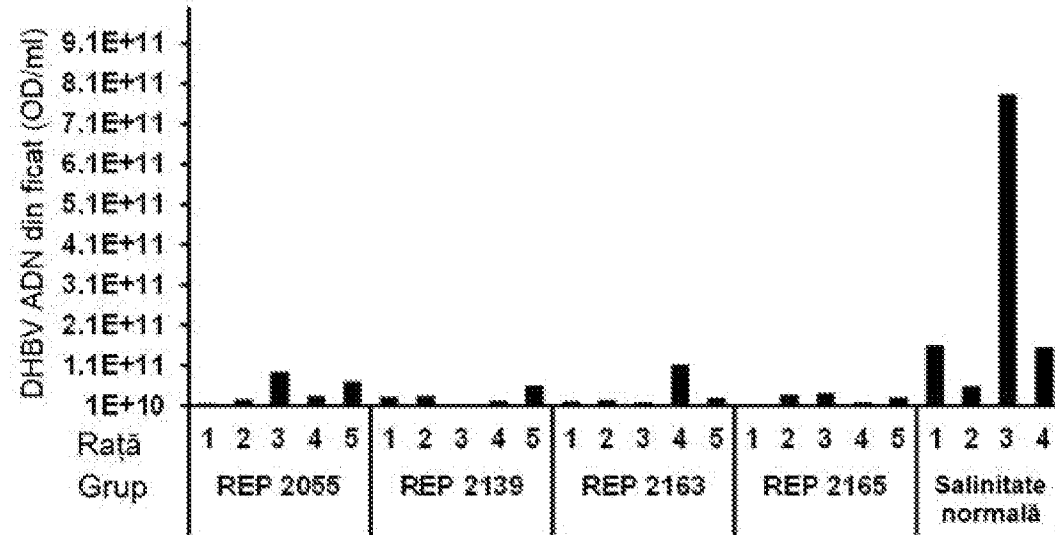


Fig. 2 B

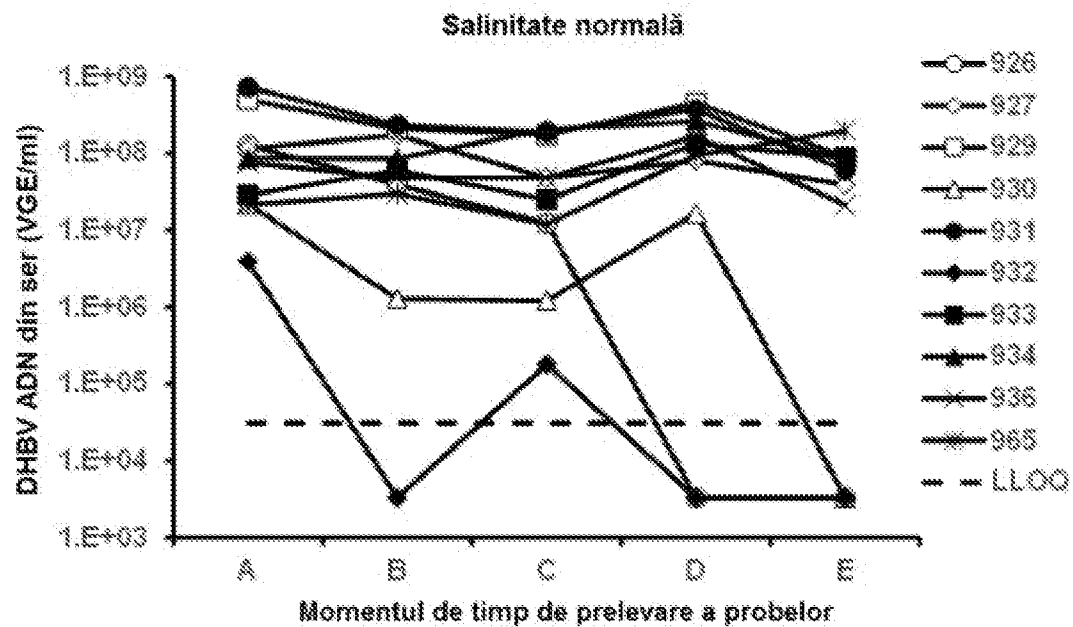


Fig. 3 A

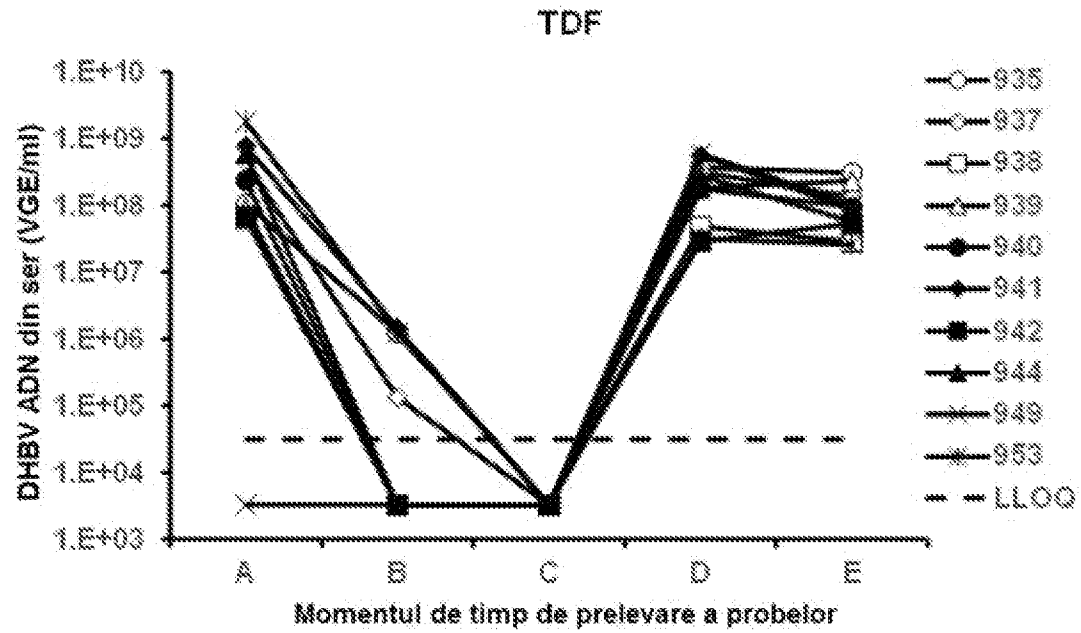


Fig. 3 B

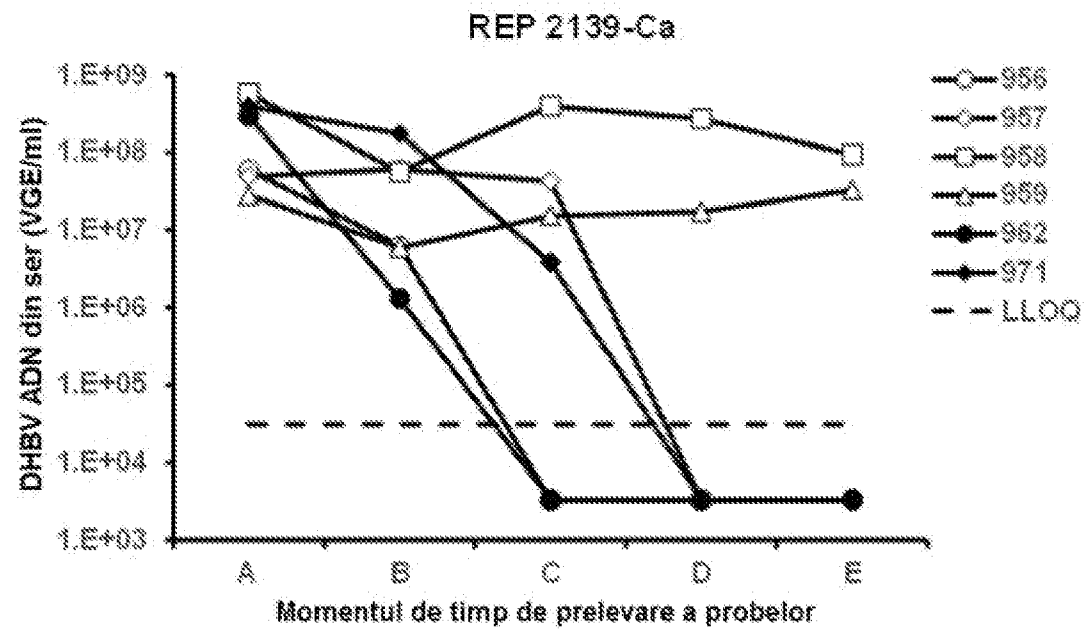


Fig. 3 C

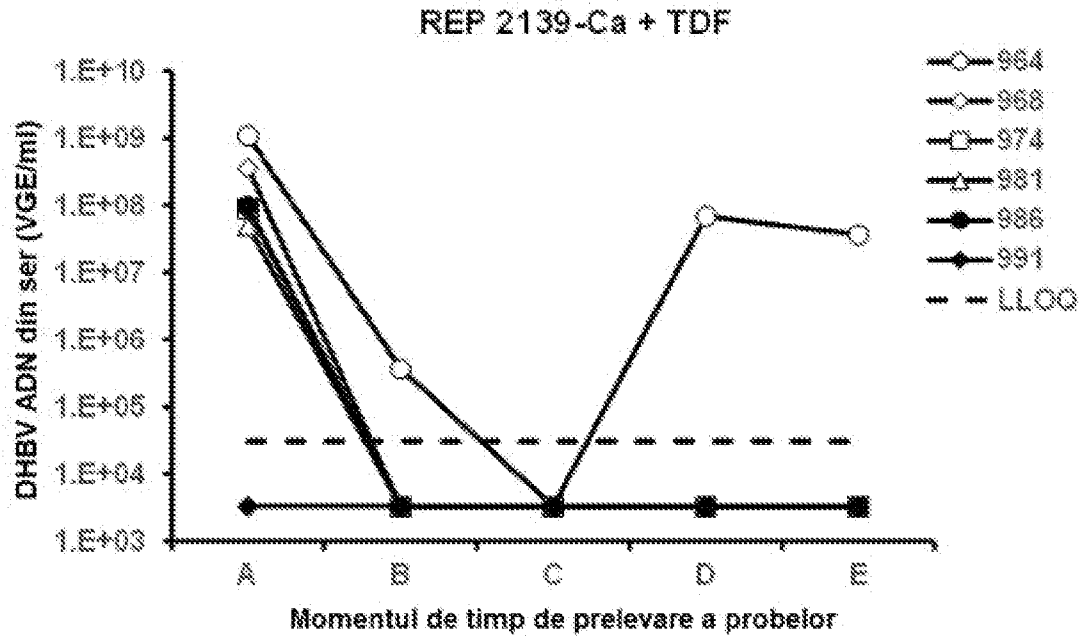


Fig. 3 D

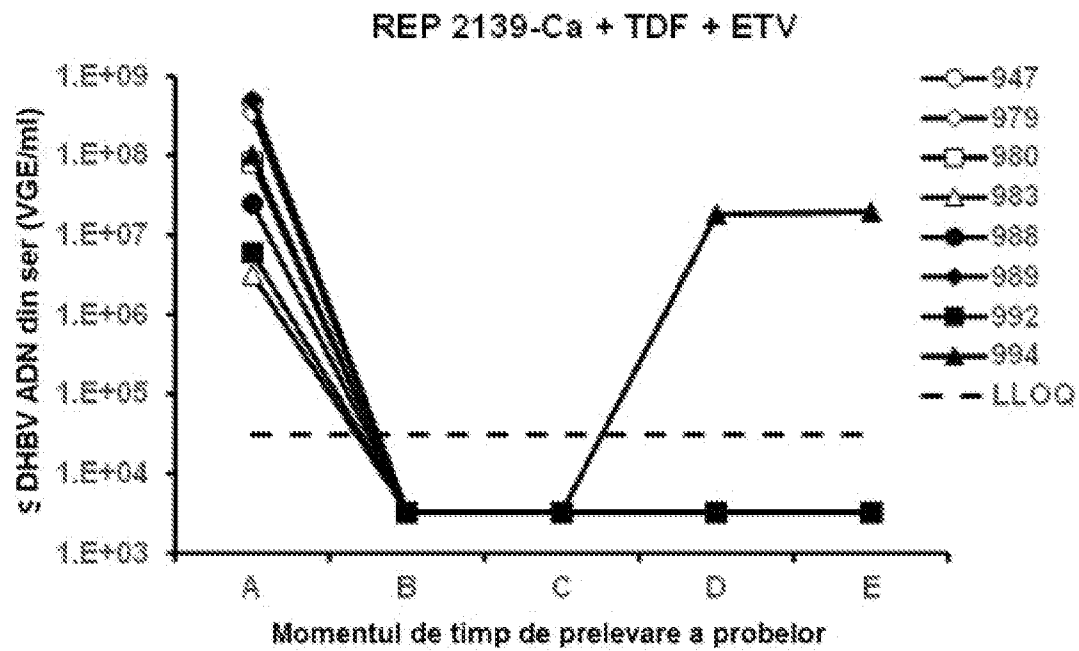


Fig. 3 E

RAPORT DE DOCUMENTARE

I. Datele de identificare a cererii

(21) Nr. depozit: a 2017 0014
2014.07.14; 2014.12.15

(32) Data de prioritate recunoscută:

(22) Data depozit: 2015.07.07 Raport de documentare internațională: ☒ da

(85) Data deschiderii fazei naționale: 2017.02.08

(86) Cerere internațională: PCT/CA2015/050626, 2015.07.07

(87) Publicarea cererii internaționale: WO 2016/004525 A1, 2016.01.14

(71) Solicitant: **REPLICOR INC., CA**

(54) **Titlul: Metode de tratament al infecțiilor provocate de virusii hepatitei B și hepatitei D**

II. Clasificarea obiectului invenției:

(51) **Int.Cl:** **A61K 31/7088** (2006.01)
A61K 31/522 (2006.01)
A61K 31/675 (2006.01)
A61P 31/20 (2006.01)

III. Colecții și Baze de date de brevete cercetate (denumirea, termeni caracteristici, ecuații de căutare reprezentative)

MD - Intern « Documentare Invenții » (inclusiv cereri nepublicate; trunchiere automată stanga/dreapta): **Int.Cl:** **A61K 31/7088** (2006.01)

A61K 31/522 (2006.01)
A61K 31/675 (2006.01)
A61P 31/20 (2006.01)

hepatita B, hepatita D, inhibitor de polimerază HVB, lamivudină, adefovir dipivoxil, entecavir, telbivudină, tenofovir disoproxil fumarate, entricitabină, clevudină, besefovir, tenofovir alafenamid fumarat, AGX-1009, elvucitabină, lagociclovir valactat, pradefovir mezilat, valtorcitabină

"Worldwide" (Espacenet): Int.Cl: **A61K 31/7088** (2006.01)

A61K 31/522 (2006.01)
A61K 31/675 (2006.01)
A61P 31/20 (2006.01)

hepatitis B, hepatitis D, HBV polymerase inhibitor, lamivudine, adefovir dipivoxil, entecavir, telbivudine, tenofovir disoproxil fumarate, entricitabine, clevudine, besifovir, tenofovir alafenamide fumarate, AGX-1009, elvucitabine, lagociclovir valactate, pradefovir mezylate, valtorcitabine

EA, CIS (Eapatis): Int.Cl: **A61K 31/7088** (2006.01)

A61K 31/522 (2006.01)
A61K 31/675 (2006.01)
A61P 31/20 (2006.01)

гепатит В, гепатит D, ингибитор ВГВ-полимеразы, ламивудин, адефовир дипивоксил, энтекавир, тельбивудин, тенофовир дисопроксилфумарат, энтрицитабин, клевудин, безефовир, тенофовир алафенамид фумарат, AGX-1009, элвуситабин, лагоцикловир валактат, прадефовир мезилат, вальторцитабин

SU (certificate de autor): Int.Cl: **A61K 31/7088** (2006.01)

A61K 31/522 (2006.01)
A61K 31/675 (2006.01)
A61P 31/20 (2006.01)

гепатит В, гепатит D, ингибитор ВГВ-полимеразы, ламивудин, адефовир дипивоксил, энтекавир, тельбивудин, тенофовир дисопроксилфумарат, энтрицитабин, клевудин,

безефовир, тенофовир алафенамид фумарат, AGX-1009, элвучитабин, лагоцикловир
 валактат, прадефовир мезилат, вальторцитабин

Patsearch – Int.Cl: A61K 31/7088 (2006.01)

A61K 31/522 (2006.01)

A61K 31/675 (2006.01)

A61P 31/20 (2006.01)

hepatitis B, hepatitis D, HVB polymerase inhibitor, lamivudine, adefovir dipivoxil, entecavir,
 telbivudine, tenofovir disoproxil fumarate, entricitabine, clevudine, besefovir, tenofovir alafenamid
 fumarate, AGX-1009, valvucabine, elvucitavate, valvocate, elvucitavate

IV. Baze de date și colecții de literatură nonbrevet cercetate

<http://ardi.wipo.int/content/en/journals.php>

V. Documente considerate a fi relevante

Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A,D	Fung et al. Am. J. Gastroenterol. no 106, 2011, p. 1766-1773	1-38
A,D, C	US 2014065102 A1 2014.03.06	1-38
X	WO 2013/170386 A1 2013.11.21	1-38
X	WO 2014/032176 A1 2014.03.06	1-38

* categoriile speciale ale documentelor citate:

A – document care definește stadiul anterior general	T – document publicat după data depozitului sau a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a pune în evidență principiul sau teoria pe care se bazează invenția
X – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă când documentul este luat în considerație de unul singur	E – document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta dată
Y – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă când documentul este asociat cu unul sau mai multe documente de aceeași categorie	D – document menționat în descrierea cererii de brevet
O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expoziție sau la orice alte mijloace de divulgare	C – document considerat ca cea mai apropiată soluție
	& – document, care face parte din aceeași familie de brevete
P - document publicat înainte de data de depozit, dar după data priorității invocate	L – document citat cu alte scopuri

Data finalizării documentării 2020.03.10

Examinator GROSU Petru