

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2017114964, 01.10.2015

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

02.10.2014 US 62/059,056;

24.02.2015 US 62/120,149

(43) Дата публикации заявки: 07.11.2018 Бюл. № 31

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: 02.05.2017

(86) Заявка РСТ:

US 2015/053569 (01.10.2015)

(87) Публикация заявки РСТ:

WO 2016/054421 (07.04.2016)

Адрес для переписки:

129090, Москва, ул. Б. Спасская, 25, стр. 3, ООО

"Юридическая фирма Городисский и Партнеры"

(71) Заявитель(и):

**ПРОТИВА БАЙОТЕРАПЬЮТИКС, ИНК.
(СА)**

(72) Автор(ы):

**КРОСС Дженнифер Л. (СА),
ДИЛЛОН Аммен П. (СА),
ЛИ Эми С.Х. (СА),
МАКЛАХЛАН Йен (СА),
СНИД Николас М. (СА),
ТХИ Эмили П. (СА)**(54) **КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ДЛЯ ПОДАВЛЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА ВИРУСА ГЕПАТИТА В**

(57) Формула изобретения

1. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты, выбранная из группы, состоящей из: SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:27 и SEQ ID NO:29.

2. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты, выбранная из группы, состоящей из: SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28 и SEQ ID NO:30.

3. Выделенная, двухцепочечная молекула миРНК, выбранная из группы, состоящей из: 1m (SEQ ID NO:1 и 2), 2m (SEQ ID NO:3 и 4), 3m (SEQ ID NO:5 и 6), 4m (SEQ ID NO:7 и 8), 5m (SEQ ID NO:9 и 10), 6m (SEQ ID NO:11 и 12), 7m (SEQ ID NO:13 и 14), 8m (SEQ ID NO:15 и 16), 9m (SEQ ID NO:17 и 18), 10m (SEQ ID NO:19 и 20), 11m (SEQ ID NO:21 и 22), 12m (SEQ ID NO:23 и 24), 13m (SEQ ID NO:25 и 26), 14m (SEQ ID NO:27 и 28) и 15m (SEQ ID NO:29 и 30).

4. Композиция, содержащая выделенную, двухцепочечную молекулу миРНК по п. 3.

5. Композиция по п. 4, содержащая две различные двухцепочечные молекулы миРНК, выбранные из группы, состоящей из: 1m (SEQ ID NO:1 и 2), 2m (SEQ ID NO:3 и 4), 3m (SEQ ID NO:5 и 6), 4m (SEQ ID NO:7 и 8), 5m (SEQ ID NO:9 и 10), 6m (SEQ ID NO:11 и 12), 7m (SEQ ID NO:13 и 14), 8m (SEQ ID NO:15 и 16), 9m (SEQ ID NO:17 и 18), 10m (SEQ ID NO:19 и 20), 11m (SEQ ID NO:21 и 22), 12m (SEQ ID NO:23 и 24), 13m (SEQ ID NO:25 и 26), 14m (SEQ ID NO:27 и 28) и 15m (SEQ ID NO:29 и 30).

6. Композиция по п. 5, отличающаяся тем, что комбинацию двух различных двухцепочечных молекул миРНК выбирают из любой из комбинаций, описанных в Примере 2.

7. Композиция по п. 4, содержащая три различные двухцепочечные молекулы миРНК, выбранный из группы, состоящей из 1m (SEQ ID NO:1 и 2), 2m (SEQ ID NO:3 и 4), 3m (SEQ ID NO:5 и 6), 4m (SEQ ID NO:7 и 8), 5m (SEQ ID NO:9 и 10), 6m (SEQ ID NO:11 и 12), 7m (SEQ ID NO:13 и 14), 8m (SEQ ID NO:15 и 16), 9m (SEQ ID NO:17 и 18), 10m (SEQ ID NO:19 и 20), 11m (SEQ ID NO:21 и 22), 12m (SEQ ID NO:23 и 24), 13m (SEQ ID NO:25 и 26), 14m (SEQ ID NO:27 и 28) и 15m (SEQ ID NO:29 и 30).

8. Композиция по п. 7, отличающаяся тем, что комбинацию трех различных двухцепочечных молекул миРНК выбирают из любой из комбинаций, описанных в Примере 3.

9. Композиция по любому из пп. 4-8, отличающаяся тем, что композиция представляет собой фармацевтическую композицию, которая содержит фармацевтически приемлемый носитель.

10. Композиция по любому из пп. 4-9, отличающаяся тем, что миРНК подавляет экспрессию гена вируса гепатита В.

11. Содержащая нуклеиновую кислоту липидная частица, содержащая:

(а) одну или более выделенных, двухцепочечных молекул миРНК, выбранных из выделенных, двухцепочечных молекул миРНК по п. 3;

(б) катионный липид; и

(в) некатионный липид.

12. Содержащая нуклеиновую кислоту липидная частица по п. 11, отличающаяся тем, что катионный липид выбирают из группы, состоящей из: 1,2-дилинолеилокси-N,N-диметиламинопропана (DLinDMA), 1,2-дилиноленилокси-N,N-диметиламинопропана (DLenDMA), 1,2-ди-γ-линоленилокси-N, N-диметиламинопропана (γ-DLenDMA; соединение (15)), 3-((6Z,9Z,28Z,31Z)-гептатриакконт-6,9,28,31-тетраен-19-илокси)-N,N-диметилпропан-1-амин (DLin-MP-DMA; соединение (8)), (6Z,9Z,28Z,31Z)-гептатриакконт-6,9,28,31-тетраен-19-ил-4-(диметиламино)бутаноата (соединение (7)), (6Z,16Z)-12-((Z)-дек-4-енил)докоза-6,16-диен-11-ил 5-(диметиламино)пентаноата (соединение (13)), их соли или их смеси.

13. Содержащая нуклеиновую кислоту липидная частица по любому из пп. 11-12, отличающаяся тем, что некатионный липид представляет собой холестерин или его производное.

14. Содержащая нуклеиновую кислоту липидная частица по любому из пп. 11-12, отличающаяся тем, что некатионный липид представляет собой фосфолипид.

15. Содержащая нуклеиновую кислоту липидная частица по любому из пп. 11-12, отличающаяся тем, что некатионный липид представляет собой смесь фосфолипида и холестерина, или его производного.

16. Содержащая нуклеиновую кислоту липидная частица по п. 14 или 15, отличающаяся тем, что фосфолипид выбран из группы, состоящей из: дипальмитоилфосфатидилхолина (DPPC), дистеароилфосфатидилхолин (DSPC), и их смеси.

17. Содержащая нуклеиновую кислоту липидная частица по п. 16, отличающаяся

тем, что фосфолипид представляет собой DPPC.

18. Содержащая нуклеиновую кислоту липидная частица по п. 16, отличающаяся тем, что фосфолипид представляет собой DSPC.

19. Содержащая нуклеиновую кислоту липидная частица по любому из пп. 11-18, дополнительно содержащая конъюгированный липид, который ингибирует агрегацию частиц.

20. Содержащая нуклеиновую кислоту липидная частица по п. 19, отличающаяся тем, что конъюгированный липид, который ингибирует агрегацию частиц, представляет собой конъюгат полиэтиленгликоль (ПЭГ)-липид.

21. Содержащая нуклеиновую кислоту липидная частица по п. 20, отличающаяся тем, что ПЭГ-липидный конъюгат выбирают из группы, состоящей из: конъюгата ПЭГ-диацилглицерин (ПЭГ-DAG), конъюгата ПЭГ-диалкилоксипропил (ПЭГ-DAA), конъюгата ПЭГ-фосфолипид, конъюгата ПЭГ-церамид (ПЭГ-Cer), и их смеси.

22. Содержащая нуклеиновую кислоту липидная частица по п. 21, отличающаяся тем, что конъюгат ПЭГ-липид представляет собой конъюгат ПЭГ-DAA.

23. Содержащая нуклеиновую кислоту липидная частица по п. 22, отличающаяся тем, что конъюгат ПЭГ-DAA выбран из группы, состоящей из: конъюгата ПЭГ-дидецилоксипропил (C_{10}), конъюгата ПЭГ-дилаурилоксипропил (C_{12}), конъюгата ПЭГ-димиристилоксипропил (C_{14}), конъюгата ПЭГ-дипальмитилоксипропил (C_{16}), конъюгата ПЭГ-дистеарилоксипропил (C_{18}), и их смеси.

24. Содержащая нуклеиновую кислоту липидная частица по любому из пп. 11-23, отличающаяся тем, что миРНК полностью инкапсулирована в частице.

25. Содержащая нуклеиновую кислоту липидная частица по любому из пп. 11-24, отличающаяся тем, что частица имеет общее массовое соотношение липид:миРНК от около 5:1 до около 15:1.

26. Содержащая нуклеиновую кислоту липидная частица по любому из пп. 11-25, отличающаяся тем, что частица имеет медианный диаметр от около 30 нм до около 150 нм.

27. Содержащая нуклеиновую кислоту липидная частица по любому из пп. 11-26, отличающаяся тем, что частица имеет электронно-плотное ядро.

28. Содержащая нуклеиновую кислоту липидная частица по любому из пп. 11-27, отличающаяся тем, что катионный липид составляет от около 48 моль % до около 62 моль % от совокупного количества липидов, присутствующего в частице.

29. Содержащая нуклеиновую кислоту липидная частица по любому из пп. 15-28, содержащая фосфолипид и холестерин, или производное холестерина, причем фосфолипид составляет от около 7 моль % до около 17 моль % от совокупного количества липидов, присутствующего в частице, а холестерин или его производное составляет от около 25 моль % до около 40 моль % от совокупного количества липидов, присутствующего в частице.

30. Содержащая нуклеиновую кислоту липидная частица по любому из пп. 19-29, отличающаяся тем, что конъюгированный липид, который ингибирует агрегацию частиц, составляет от около 0,5 моль % до около 3 моль % от совокупного количества липидов, присутствующего в частице.

31. Содержащая нуклеиновую кислоту липидная частица по любому из пп. 28-30, отличающаяся тем, что липиды готовят как описано в любом из составов А, Б, В, Г, Д, Е, Ж, З, И, Й, К, Л, М, Н, О, П, Р, С, Т, У, Ф, Х, Ц, Ч или Ш.

32. Содержащая нуклеиновую кислоту липидная частица по любому из пп. 11-31, содержащая две различные двухцепочечные молекулы миРНК, выбранные из группы, состоящей из: 1m (SEQ ID NO:1 и 2), 2m (SEQ ID NO:3 и 4), 3m (SEQ ID NO:5 и 6), 4m

(SEQ ID NO:7 и 8), 5m (SEQ ID NO:9 и 10), 6m (SEQ ID NO:11 и 12), 7m (SEQ ID NO:13 и 14), 8m (SEQ ID NO:15 и 16), 9m (SEQ ID NO:17 и 18), 10m (SEQ ID NO:19 и 20), 11m (SEQ ID NO:21 и 22), 12m (SEQ ID NO:23 и 24), 13m (SEQ ID NO:25 и 26), 14m (SEQ ID NO:27 и 28) и 15m (SEQ ID NO:29 и 30).

33. Содержащая нуклеиновую кислоту липидная частица по п. 32, отличающаяся тем, что комбинацию двух различных двухцепочечных молекул миРНК выбирают из любой из комбинаций, описанных в Примере 2.

34. Содержащая нуклеиновую кислоту липидная частица по любому из пп. 11-31, содержащая три различные двухцепочечные молекулы миРНК, выбранные из группы, состоящей из: 1m (SEQ ID NO:1 и 2), 2m (SEQ ID NO:3 и 4), 3m (SEQ ID NO:5 и 6), 4m (SEQ ID NO:7 и 8), 5m (SEQ ID NO:9 и 10), 6m (SEQ ID NO:11 и 12), 7m (SEQ ID NO:13 и 14), 8m (SEQ ID NO:15 и 16), 9m (SEQ ID NO:17 и 18), 10m (SEQ ID NO:19 и 20), 11m (SEQ ID NO:21 и 22), 12m (SEQ ID NO:23 и 24), 13m (SEQ ID NO:25 и 26), 14m (SEQ ID NO:27 и 28) и 15m (SEQ ID NO:29 и 30).

35. Содержащая нуклеиновую кислоту липидная частица по п. 34, отличающаяся тем, что комбинацию трех различных двухцепочечных молекул миРНК выбирают из любой из комбинаций, описанных в Примере 3.

36. Фармацевтическая композиция, которая содержит содержащую нуклеиновую кислоту липидную частицу по любому из пп. 11-35 и фармацевтически приемлемый носитель.

37. Способ подавления экспрессии гена вируса гепатита В в клетке, включающий этап приведения в контакт клетки, содержащей экспрессированный ген вируса гепатита В, с содержащей нуклеиновую кислоту липидной частицей по любому из пп. 11-35, или фармацевтической композицией по п. 36, в условиях, при которых миРНК проникает в клетку и подавляет экспрессию гена вируса гепатита В внутри клетки.

38. Способ по п. 37, отличающийся тем, что клетка представляет собой клетку млекопитающего.

39. Способ по п. 38, отличающийся тем, что включает приведение клетки в контакт через системный путь введения частицы млекопитающему.

40. Способ по п. 38 или 39, отличающийся тем, что млекопитающее является человеком.

41. Способ по п. 40, отличающийся тем, что человек был диагностирован с заболеванием печени, вызванном инфекцией вирусом гепатита В или инфекцией вирусом гепатита В/вирусом гепатита D.

42. Способ по любому из пп. 38-41, отличающийся тем, что подавление экспрессии гена вируса гепатита В уменьшает нагрузку вирусными частицами гепатита В и/или гепатита D у млекопитающего, по меньшей мере на около 50% по отношению к нагрузке вирусными частицами гепатита В и/или гепатита D в случае отсутствия содержащей нуклеиновую кислоту липидной частицы.

43. Содержащая нуклеиновую кислоту липидная частица по любому из пп. 11-35 или фармацевтическая композиция по п. 36 для применения в подавлении экспрессии гена вируса гепатита В в клетке млекопитающего (например, человека).

44. Применение содержащей нуклеиновую кислоту липидной частицы по любому из пп. 11-35 или фармацевтической композиции по п. 36 для приготовления лекарственного средства для подавления экспрессии гена вируса гепатита В в клетке млекопитающего (например, человека).

45. Способ облегчения одного или более симптомов, ассоциированных с инфекцией вирусом гепатита В и/или вирусом гепатита D у млекопитающего, включающий этап введения млекопитающему терапевтически эффективного количества содержащей нуклеиновую кислоту липидной частицы по любому из пп. 11-35 или фармацевтической

композиции по п. 36.

46. Способ по п. 45, отличающийся тем, что частицу вводят через системный путь.

47. Способ по любому из пп. 45-46, отличающийся тем, что миРНК содержащей нуклеиновую кислоту липидной частицы ингибирует экспрессию гена вируса гепатита В у млекопитающего.

48. Способ по любому из пп. 45-47, отличающийся тем, млекопитающее представляет собой человека.

49. Способ по п. 48, отличающийся тем, что человек имеет заболевание печени.

50. Содержащая нуклеиновую кислоту липидная частица по любому из пп. 11-35 или фармацевтическая композиция по п. 36 для применения в облегчении одного и более симптомов, связанных с инфекцией вирусом гепатита В и/или вирусом гепатита D у млекопитающего (например, человека).

51. Применение содержащей нуклеиновую кислоту липидной частицы по любому из пп. 11-35 или фармацевтической композиции по п. 36 для приготовления лекарственного средства для облегчения одного и более симптомов, связанных с инфекцией вирусом гепатита В и/или вирусом гепатита D у млекопитающего (например, человека).

52. Способ лечения инфекции вирусом гепатита В и/или вирусом гепатита D у млекопитающего, включающий этап введения млекопитающему терапевтически эффективного количества содержащей нуклеиновую кислоту липидной частицы по любому из пп. 11-35 или фармацевтической композиции по п. 36.

53. Содержащая нуклеиновую кислоту липидная частица по любому из пп. 11-35 или фармацевтическая композиция по п. 36 для применения в лечении инфекции вирусом гепатита В и/или вирусом гепатита D у млекопитающего (например, человека).

54. Применение содержащей нуклеиновую кислоту липидной частицы по любому из пп. 11-35 или фармацевтической композиции по п. 36 для приготовления лекарственного средства для лечения инфекции вирусом гепатита В и/или вирусом гепатита D у млекопитающего (например, человека).

55. Содержащая нуклеиновую кислоту липидная частица по любому из пп. 11-35 или фармацевтическая композиция по п. 36 для применения в лечебной терапии.

56. Способ подавления экспрессии гена вируса гепатита В в клетке, включающий этап приведения в контакт клетки, содержащей экспрессированный ген вируса гепатита В, с композицией по любому из пп. 4-10 в условиях, при которых миРНК проникает в клетку и подавляет экспрессию гена вируса гепатита В внутри клетки.

57. Способ по п. 56, отличающийся тем, что клетка представляет собой клетку млекопитающего.

58. Способ по п. 57, отличающийся тем, что включает приведение в контакт клетки через системный путь введения композиции млекопитающему.

59. Способ по п. 57 или 58, отличающийся тем, что млекопитающее представляет собой человека.

60. Способ по п. 59, отличающийся тем, что человек был диагностирован с заболеванием печени, вызванном инфекцией вирусом гепатита В или инфекцией вирусом гепатита В/вирусом гепатита D.

61. Способ по любому из пп. 57-60, отличающийся тем, что подавление экспрессии гена вируса гепатита В уменьшает нагрузку вирусных частиц гепатита В и/или гепатита D у млекопитающего, по меньшей мере на около 50% по отношению к нагрузке вирусных частиц гепатита В и/или гепатита D в случае отсутствия содержащей нуклеиновую кислоту липидной частицы.

62. Композиция по любому из пп. 4-10 для применения в подавлении экспрессии гена вируса гепатита В в клетке млекопитающего (например, человека).

63. Применение композиции по любому из пп. 4-10 для приготовления лекарственного

средства для подавления экспрессии гена вируса гепатита В в клетке млекопитающего (например, человека).

64. Способ облегчения одного или более симптомов, ассоциированных с инфекцией вирусом гепатита В и/или вирусом гепатита D у млекопитающего, включающий этап введения млекопитающему терапевтически эффективного количества композиции по любому из пп. 4-10.

65. Способ по п. 64, отличающийся тем, что композицию вводят через системный путь.

66. Способ по любому из пп. 64-65, отличающийся тем, что миРНК композиции ингибирует экспрессию гена вируса гепатита В у млекопитающего.

67. Способ по любому из пп. 64-66, отличающийся тем, млекопитающее представляет собой человека.

68. Способ по п. 67, отличающийся тем, что человек имеет заболевание печени.

69. Композиция по любому из пп. 4-10 для применения в облегчении одного или более симптомов, связанных с инфекцией вирусом гепатита В и/или вирусом гепатита D у млекопитающего (например, человека).

70. Применение композиции по любому из пп. 4-10 для приготовления лекарственного средства для облегчения одного или более симптомов, связанных с инфекцией вирусом гепатита В и/или вирусом гепатита D у млекопитающего (например, человека).

71. Способ лечения инфекции вирусом гепатита В и/или вирусом гепатита D у млекопитающего, включающий этап введения млекопитающему терапевтически эффективного количества композиции по любому из пп. 4-10.

72. Композиция по любому из пп. 4-10 для применения в лечении инфекции вирусом гепатита В и/или вирусом гепатита D у млекопитающего (например, человека).

73. Применение композиции по любому из пп. 4-10 для приготовления лекарственного средства для лечения инфекции вирусом гепатита В и/или вирусом гепатита D у млекопитающего (например, человека).

74. Композиция по любому из пп. 4-10 для применения в лечебной терапии.

75. Способ для ингибирования репликации вируса гепатита D, и/или облегчения одного или более симптомов инфекции вирусом гепатита D у млекопитающего (например, человека), включающий этап введения терапевтически эффективного количества композиции по любому из пп. 4-10, содержащей нуклеиновую кислоту липидной частицы по любому из пп. 11-35 или фармацевтической композиции по п. 36 млекопитающему, причем содержащая нуклеиновую кислоту липидная частица или композиция ингибирует синтез поверхностного антигена вируса гепатита В.

76. Композиция по любому из пп. 4-10, содержащая нуклеиновую кислоту липидная частица по любому из пп. 11-35 или фармацевтическая композиция по п. 36 для применения в ингибировании репликации вируса гепатита D, и/или облегчения одного или более симптомов инфекции вирусом гепатита D у млекопитающего (например, человека), причем содержащая нуклеиновую кислоту липидная частица или композиция ингибирует синтез поверхностного антигена вируса гепатита В.

77. Применение композиции по любому из пп. 4-10, содержащей нуклеиновую кислоту липидной частицы по любому из пп. 11-35 или фармацевтической композиции по п. 36 для приготовления лекарственного препарата для ингибирования репликации вируса гепатита D, и/или облегчения одного или более симптомов инфекции вирусом гепатита D у млекопитающего (например, человека), причем содержащая нуклеиновую кислоту липидная частица или композиция ингибирует синтез поверхностного антигена вируса гепатита В.