



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0040236

(51)⁷ A61K 47/60; A61K 31/7088; A61K 31/7115; A61K 31/712; A61P 31/14; A61K 38/17; A61K 38/21; A61K 39/42; A61K 31/519; A61K 31/713

(13) B

(21) 1-2015-00862

(22) 17/05/2013

(86) PCT/CA2013/050377 17/05/2013

(87) WO2014/032176 06/03/2014

(30) 61/695,040 30/08/2012 US; 61/703,816 21/09/2012 US

(45) 25/06/2024 435

(43) 25/06/2015 327A

(73) REPLICOR INC. (CA)

Suite D-101, 6100 Royalmount Avenue, Montréal, Québec H4P 2R2, Canada

(72) BAZINET Michel (CA); VAILLANT Andrew (CA).

(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) CHẾ PHẨM ĐỂ ĐIỀU TRỊ BỆNH NHIỄM VIRUT VIÊM GAN B HOẶC ĐỒNG NHIỄM VIRUT VIÊM GAN B/VIÊM GAN D

(57) Sáng chế đề xuất chế phẩm để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D chứa tác nhân được dụng thứ nhất loại bỏ kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B ra khỏi máu và tác nhân được dụng thứ hai kích thích chức năng miễn dịch để cung cấp cho đối tượng cần điều trị như vậy.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập tới chế phẩm để sử dụng cho phương pháp điều trị cho đối tượng nhiễm bệnh virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D chứa tác nhân được dùng thứ nhất loại bỏ kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B ra khỏi máu và tác nhân trị liệu miễn dịch được dùng thứ hai kích thích chức năng miễn dịch.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Virus viêm gan B (HBV) đã tấn công 400 triệu cá thể trên toàn thế giới và ước tính khoảng 600000 ca tử vong mỗi năm do các biến chứng phát sinh từ bệnh nhiễm HBV. Mặc dù một vài phương pháp điều trị kháng virus đã được phê chuẩn để sử dụng, song không một phương pháp nào trong số này có khả năng tạo ra một đáp ứng miễn dịch có hiệu quả trị liệu có khả năng tạo ra sự kiểm soát lâu dài sự nhiễm khuẩn trừ một phần nhỏ bệnh nhân đang được điều trị. Do đó, tồn tại nhu cầu y học chưa được đáp ứng rõ rệt về một phác đồ điều trị có khả năng tạo ra sự kiểm soát miễn dịch dài lâu sự nhiễm HBV trên một tỷ lệ lớn bệnh nhân tiếp nhận điều trị này.

Sự nhiễm HBV dẫn tới sự sản xuất hai loại hạt khác nhau: 1) bản thân hạt virus HBV (hoặc hạt Dane) bao gồm một capsid virus được lắp ráp từ protein kháng nguyên lõi HBV (HBcAg) và được bao bởi kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B (HBsAg) và có khả năng gây tái nhiễm các tế bào và 2) các hạt dưới virus (hoặc SVP) là các hạt tương tự lipoprotein mật độ cao gồm các lipid, cholesterol, các cholesterol este và các dạng trung bình và nhỏ của kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B (HBsAg) không bị lây nhiễm. Với mỗi hạt virus được sản xuất, 1000-10000 SVP được giải phóng vào trong máu. Do đó, các SVP (và protein HBsAg mà chúng mang) đại diện cho đa số protein virus trong máu. Các tế bào bị nhiễm

HBV cũng tiết ra một sản phẩm phân hủy protein hòa tan của tiền nhân còn được gọi là kháng nguyên e HBV (HBeAg).

Virut viêm gan D (HDV) sử dụng HBsAg để tạo ra cấu trúc virut của nó (Taylor, 2006, *Virology*, 344: 71-76) và do đó, sự nhiễm HDV chỉ có thể xảy ra ở các đối tượng nhiễm HBV đồng phát. Mặc dù tỷ lệ mắc phải chứng đồng nhiễm HDV ở người mang HBV không có triệu chứng và có bệnh gan liên quan tới HBV mạn tính là thấp ở những nước có tỷ lệ nhiễm HBV thấp, song nó là một biến chứng đáng kể ở các đối tượng nhiễm HBV ở những nước có tỷ lệ nhiễm HBV cao và có thể làm tăng tốc độ tiến triển bệnh gan thành bệnh viêm gan cấp. Do đó, nhu cầu y học chưa được đáp ứng rõ ràng về bệnh nhiễm HBV thậm chí là cấp bách hơn nữa ở các đối tượng đồng nhiễm HBV/HDV.

Các phương pháp tiêu chuẩn hiện hành để điều trị HBV bao gồm các trị liệu miễn dịch trên cơ sở interferon- hoặc thymosin $\alpha 1$ và ngăn chặn sự sản xuất virut bởi việc ức chế polymeraza HBV. Các chất ức chế polymeraza HBV có hiệu quả trong việc làm giảm sự sản xuất virut nhưng lại ít hoặc không có tác dụng trong việc làm giảm nhanh HBsAg hoặc có thể làm giảm chậm HBsAg với việc điều trị lâu dài ở một số bệnh nhân hạn chế (như trường hợp đối với tenofovir disoproxil fumarat). Việc trị liệu miễn dịch trên cơ sở interferon có thể đạt được cả hai mục tiêu làm giảm sự sản xuất virut lẫn loại bỏ som HBsAg ra khỏi máu nhưng chỉ hiệu quả với một tỷ lệ phần trăm nhỏ trong số các đối tượng được điều trị. Các vai trò được chấp nhận chung của HBsAg trong máu là để cô lập các kháng thể kháng HBsAg và cho phép các hạt virut lây nhiễm không bị phát hiện miễn dịch mà đó có thể là một trong những lý do tại sao nhiễm HBV là một căn bệnh mạn tính. Ngoài ra, tất cả các HBsAg, HBeAg và HBcAg đều có đặc tính ức chế miễn dịch như được mô tả ở dưới và sự bền bỉ của các protein virut này trong máu của bệnh nhân sau khi áp dụng phương pháp điều trị hiện thời bất kỳ đối với HBV như được mô tả ở trên là rất có thể có một tác động đáng kể trong việc ngăn cản các bệnh nhân không đạt được sự kiểm soát miễn dịch của bệnh nhiễm HBV của chúng.

Mặc dù cả ba protein HBV cơ bản (HBsAg, HBeAg và HBcAg) đều có các đặc tính ức chế miễn dịch (xem ở dưới), song HBsAg chiếm đa số trong các protein HBV trong vòng tuần hoàn của các đối tượng bị nhiễm HBV. Ngoài ra, mặc dù việc loại bỏ (thông qua quá trình chuyển đổi huyết thanh) HBeAg hoặc làm giảm nồng độ virus trong huyết thanh là không tương quan với sự phát triển việc kiểm soát kéo dài việc điều trị hết hẳn nhiễm HBV, song việc loại bỏ HBsAg huyết thanh ra khỏi máu (và sự chuyển đổi huyết thanh) trong bệnh nhiễm HBV là một chỉ báo tiên lượng đã được thừa nhận về đáp ứng kháng virus trong điều trị sẽ dẫn đến sự kiểm soát việc điều trị hết hẳn bệnh nhiễm HBV (mặc dù điều này chỉ xảy ra ở một tỷ lệ nhỏ các bệnh nhân tiếp nhận trị liệu miễn dịch). Do vậy, mặc dù việc giảm cả ba protein HBV cơ bản (HBsAg, HBeAg và HBcAg) có thể dẫn tới việc loại bỏ tối ưu của tác dụng ức chế, song việc loại bỏ một mình HBsAg có khả năng là đủ và chính nó loại bỏ phần lớn sự ức chế virus của chức năng miễn dịch ở các đối tượng bị nhiễm HBV.

Do đó, khi chưa có được phác đồ điều trị hiện thời bất kỳ có thể phục hồi sự kiểm soát miễn dịch HBV ở một tỷ lệ lớn các bệnh nhân, thì vẫn có nhu cầu nhằm đưa ra các phương pháp điều trị hiệu quả để điều trị bệnh nhiễm HBV và đồng nhiễm HBV/HDV có thể phục hồi sự kiểm soát miễn dịch ở phần lớn các bệnh nhân.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế mô tả phương pháp điều trị bệnh nhiễm HBV hoặc đồng nhiễm HBV/HDV ở đối tượng cần điều trị như vậy, phương pháp này bao gồm việc cung cấp tác nhân được dụng thứ nhất loại bỏ HBsAg ra khỏi máu của vật chủ bị nhiễm HBV và tác nhân trị liệu miễn dịch được dụng thứ hai kích thích chức năng miễn dịch.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh nhiễm HBV hoặc đồng nhiễm HBV/HDV ở đối tượng cần điều trị như vậy, phương pháp này bao gồm việc cung cấp tác nhân được dụng thứ nhất ức chế sự giải phóng HBsAg từ các tế

bào bị nhiễm bệnh và tác nhân trị liệu miễn dịch được dụng thứ hai kích thích chức năng miễn dịch.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh nhiễm HBV hoặc đồng nhiễm HBV/HDV ở đối tượng cần điều trị như vậy, phương pháp này bao gồm việc cung cấp một phác đồ dùng liều hiệu quả của tác nhân được dụng thứ nhất ức chế sự giải phóng HBV các hạt dưới virut từ các tế bào bị nhiễm bệnh và phác đồ dùng liều hiệu quả của tác nhân trị liệu miễn dịch được dụng thứ hai kích thích chức năng miễn dịch.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh nhiễm HBV hoặc đồng nhiễm HBV/HDV ở đối tượng cần điều trị như vậy, phương pháp này bao gồm việc cung cấp tác nhân được dụng thứ nhất ức chế sự tạo thành của các hạt dưới virut HBV trong các tế bào bị nhiễm bệnh và tác nhân trị liệu miễn dịch được dụng thứ hai kích thích chức năng miễn dịch.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh nhiễm HBV hoặc đồng nhiễm HBV/HDV ở đối tượng cần điều trị như vậy, phương pháp này bao gồm việc cung cấp tác nhân được dụng thứ nhất ức chế sự tổng hợp hoặc hạ thấp nồng độ trong tế bào của HBsAg trong các tế bào bị nhiễm bệnh và tác nhân trị liệu miễn dịch được dụng thứ hai kích thích chức năng miễn dịch.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh nhiễm HBV hoặc đồng nhiễm HBV/HDV ở đối tượng cần điều trị như vậy, phương pháp này bao gồm việc cung cấp các tác nhân được dụng thứ nhất và thứ hai như được mô tả ở trên ở dạng kết hợp trong một dược phẩm đơn hoặc trong hai dược phẩm khác nhau được cung cấp qua cùng một đường dùng thuốc.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh nhiễm HBV hoặc đồng nhiễm HBV/HDV ở đối tượng cần điều trị như vậy, phương pháp này bao gồm việc cung cấp các tác nhân được dụng thứ nhất và thứ hai như được mô tả ở trên đồng thời ở một người bệnh, được cung cấp qua cùng một đường dùng thuốc hoặc qua các đường dùng thuốc khác nhau.

Sáng chế tiếp theo mô tả việc sử dụng tác nhân được dụng thứ nhất loại bỏ kháng nguyên bề mặt virut viêm gan B ra khỏi máu kết hợp với tác nhân trị liệu

miễn dịch được dụng thứ hai kích thích chức năng miễn dịch để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm vi rút viêm gan B/viêm gan D.

Sáng chế cũng mô tả việc sử dụng tác nhân được dụng thứ nhất ức chế sự giải phóng HBsAg từ các tế bào bị nhiễm bệnh và tác nhân trị liệu miễn dịch được dụng thứ hai kích thích chức năng miễn dịch để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm vi rút viêm gan B/viêm gan D.

Sáng chế cũng mô tả việc sử dụng tác nhân được dụng thứ nhất ức chế sự giải phóng HBV các hạt dưới virus từ các tế bào bị nhiễm bệnh và tác nhân trị liệu miễn dịch được dụng thứ hai kích thích chức năng miễn dịch để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm vi rút viêm gan B/viêm gan D.

Sáng chế cũng mô tả việc sử dụng tác nhân được dụng thứ nhất ức chế sự tạo thành của các hạt dưới virus HBV trong các tế bào bị nhiễm bệnh và tác nhân trị liệu miễn dịch được dụng thứ hai kích thích chức năng miễn dịch để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm vi rút viêm gan B/viêm gan D.

Sáng chế cũng mô tả việc sử dụng tác nhân được dụng thứ nhất ức chế sự tổng hợp hoặc hạ thấp nồng độ trong tế bào của HBsAg trong các tế bào bị nhiễm bệnh và tác nhân trị liệu miễn dịch được dụng thứ hai kích thích chức năng miễn dịch để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm vi rút viêm gan B/viêm gan D.

Sáng chế cũng mô tả việc sử dụng tác nhân được dụng thứ nhất loại bỏ kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B ra khỏi máu kết hợp với tác nhân trị liệu miễn dịch được dụng thứ hai kích thích chức năng miễn dịch để bảo chế thuốc điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm vi rút viêm gan B/viêm gan D.

Sáng chế tiếp theo đề xuất chế phẩm để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm vi rút viêm gan B/viêm gan D, chế phẩm này bao gồm liều dùng có hiệu quả của tác nhân được dụng thứ nhất loại bỏ kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B ra khỏi máu và phác đồ dùng liều hiệu quả của tác nhân trị liệu miễn dịch được dụng thứ hai kích thích chức năng miễn dịch.

Theo một phương án, tác nhân loại bỏ kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B ra khỏi máu ức chế sự tạo thành của các hạt dưới virus HBV.

Theo một phương án khác, tác nhân loại bỏ kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B ra khỏi máu ức chế sự vận chuyển nội bào của các hạt dưới virus HBV.

Theo một phương án khác, tác nhân loại bỏ kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B ra khỏi máu ức chế sự giải phóng của các hạt dưới virus HBV vào máu.

Theo một phương án khác, tác nhân loại bỏ kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B ra khỏi máu ức chế sự giải phóng kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B từ tế bào bị nhiễm bệnh.

Theo một phương án khác, tác nhân loại bỏ kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B ra khỏi máu ức chế sự tổng hợp HBsAg và hoặc protein virus khác.

Theo một phương án khác, tác nhân loại bỏ kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B ra khỏi máu ức chế sự tổng hợp hoặc chức năng của apolipoprotein H.

Theo một phương án khác, tác nhân loại bỏ kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B ra khỏi máu là một phân tử nhỏ.

Theo một phương án khác, tác nhân loại bỏ kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B ra khỏi máu là một polyme axit nucleic bao gồm oligonucleotit đã phosphorothioat hóa có chiều dài 20-120 nucleotit bao gồm các đoạn lặp của trình tự AC.

Theo một phương án khác, tác nhân loại bỏ kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B ra khỏi máu là polyme axit nucleic bao gồm oligonucleotit đã phosphorothioat hóa có chiều dài 20-120 nucleotit bao gồm các đoạn lặp của trình tự CA.

Theo một phương án khác, tác nhân loại bỏ kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B ra khỏi máu là một polyme axit nucleic bao gồm oligonucleotit đã phosphorothioat hóa có chiều dài 20-120 nucleotit bao gồm các đoạn lặp của trình tự TG.

Theo một phương án khác, tác nhân loại bỏ kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B ra khỏi máu là một polyme axit nucleic bao gồm oligonucleotit đã phosphorothioat hóa có chiều dài 20-120 nucleotit bao gồm các đoạn lặp của trình tự GT.

Theo một phương án khác, polyme axit nucleic còn chứa ít nhất một cải biến 2' riboza.

Theo một phương án khác, polyme axit nucleic còn bao gồm tất cả các riboza có cải biến 2'.

Theo một phương án khác, polyme axit nucleic còn chứa ít nhất một cải biến 2' O methyl riboza.

Theo một phương án khác, polyme axit nucleic còn bao gồm tất cả các riboza có cải biến 2' O methyl.

Theo một phương án khác, polyme axit nucleic còn chứa ít nhất một 5'methylxytosin.

Theo một phương án khác, polyme axit nucleic còn bao gồm tất cả các xytosin trình bày dưới dạng 5'methylxytosin.

Theo một phương án khác, polyme axit nucleic còn chứa ít nhất một cải biến 2' riboza và ít nhất một 5' methylxytosin.

Theo một phương án khác, polyme axit nucleic còn bao gồm tất cả các riboza có cải biến 2' O methyl và tất cả các xytosin trình bày dưới dạng 5'methylxytosin.

Theo một phương án khác, tác nhân loại bỏ kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B ra khỏi máu là một oligonucleotit được chọn từ nhóm các SEQ ID NO: 1-10.

Theo một phương án khác, tác nhân loại bỏ kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B ra khỏi máu là một phức chất oligonucleotit chelat bao gồm oligonucleotit được chọn từ nhóm các SEQ ID NO: 1-10.

Theo một phương án khác, tác nhân loại bỏ kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B ra khỏi máu là một oligonucleotit gồm SEQ ID NO: 2.

Theo một phương án khác, tác nhân loại bỏ kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B ra khỏi máu là một phức chất oligonucleotit chelat bao gồm SEQ ID NO: 2.

Theo một phương án khác, tác nhân loại bỏ kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B ra khỏi máu là một oligonucleotit gồm SEQ ID NO: 3.

Theo một phương án khác, tác nhân loại bỏ kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B ra khỏi máu là một phức chất oligonucleotit chelat bao gồm oligonucleotit được chọn từ nhóm gồm SEQ ID NO: 3.

Theo một phương án khác, tác nhân loại bỏ kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B ra khỏi máu là một oligonucleotit gồm SEQ ID NO: 10.

Theo một phương án khác, tác nhân loại bỏ kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B ra khỏi máu là một phức chất oligonucleotit chelat bao gồm oligonucleotit được chọn từ nhóm gồm SEQ ID NO: 10.

Theo một phương án khác, tác nhân loại bỏ kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B ra khỏi máu là một oligonucleotit đối nghĩa nhằm đích là phần bất kỳ của mARN HBV bất kỳ.

Theo một phương án khác, tác nhân loại bỏ kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B ra khỏi máu là một oligonucleotit đối nghĩa nhằm đích là phần bất kỳ của mARN apolipoprotein H của người.

Theo một phương án khác, tác nhân loại bỏ kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B ra khỏi máu là một siARN nhằm đích là phần bất kỳ của mARN HBV bất kỳ.

Theo một phương án khác, tác nhân loại bỏ kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B ra khỏi máu là một siARN nhằm đích là phần bất kỳ của mARN apolipoprotein H của người.

Theo một phương án khác, tác nhân loại bỏ kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B ra khỏi máu là một shARN nhằm đích là phần bất kỳ của mARN HBV bất kỳ hoặc mARN apolipoprotein H của người.

Theo một phương án khác, polyme axit nucleic, oligonucleotit đối nghĩa hoặc siARN còn được bào chế dưới dạng một phức chất oligonucleotit chelat.

Theo một phương án khác, tác nhân loại bỏ kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B ra khỏi máu là một aptamer oligonucleotit hoặc Spiegelmer nhằm đích kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B.

Theo một phương án khác, tác nhân loại bỏ kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B ra khỏi máu là một aptamer oligonucleotit hoặc Spiegelmer nhằm đích apolipoprotein H.

Theo một phương án khác, tác nhân loại bỏ kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B ra khỏi máu là một kháng thể hoặc đoạn kháng thể nhận diện kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B.

Theo một phương án khác, tác nhân trị liệu miễn dịch kích thích chức năng miễn dịch bao gồm một hoặc nhiều hợp chất được chọn từ nhóm gồm:

Thymosin $\alpha 1$;

α -interferon bất kỳ hoặc các dẫn xuất đã pegyl hóa của chúng;

β -interferon bất kỳ hoặc các dẫn xuất đã pegyl hóa của chúng;

γ -interferon bất kỳ hoặc các dẫn xuất đã pegyl hóa của chúng;

λ -interferon bất kỳ hoặc các dẫn xuất đã pegyl hóa của chúng;

Interferon α -2a hoặc α -2b hoặc α -N3;

Interferon β -1a hoặc β -1b;

Interferon γ -1b;

Interferon λ 1 hoặc λ 2 hoặc λ 3

Interferon α -2a hoặc α -2b hoặc λ 1 hoặc λ 2 đã pegyl hóa;

Xytokin kháng virus bất kỳ hoặc các dẫn xuất đã pegyl hóa của chúng;

Thymic protein A;

Polypeptit bất kỳ thể hiện hoạt tính kháng virus hoặc hoạt tính kích thích miễn dịch;

Oligonucleotit kích thích miễn dịch không CpG bao gồm IMO-2055 hoặc IMO-2125;

Chất chủ vận thụ thể dạng Toll phân tử nhỏ (TLR) bao gồm GS-9620 hoặc ANA-773; và

Hocmon kích thích miễn dịch hoặc kháng virus bất kỳ bao gồm DHEA hoặc các chất chuyển hóa của nó.

Theo một phương án khác, tác nhân trị liệu miễn dịch kích thích chức năng miễn dịch chứa một hoặc nhiều hợp chất được chọn từ nhóm gồm:

Oligonucleotit kích thích miễn dịch bao gồm IMO-2055 hoặc IMO-2125;

Chất chủ vận thụ thể dạng Toll phân tử nhỏ (TLR) bao gồm GS-9620 hoặc ANA-773; và

Hocmon kích thích miễn dịch hoặc kháng virus bất kỳ bao gồm DHEA hoặc các chất chuyển hóa của nó.

Theo một phương án tiếp theo, các tác nhân được dụng thứ nhất và thứ hai được bào chế trong cùng một dược phẩm.

Theo một phương án tiếp theo, các tác nhân thứ nhất và thứ hai được bào chế trong các dược phẩm tách biệt.

Theo một phương án tiếp theo, các tác nhân thứ nhất và thứ hai được bào chế để cung cấp đồng thời.

Theo một phương án tiếp theo, các tác nhân thứ nhất và thứ hai được bào chế để cung cấp qua các đường dùng thuốc khác nhau.

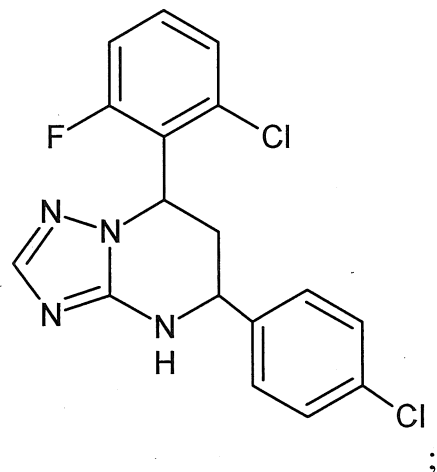
Theo một phương án tiếp theo, các tác nhân thứ nhất và thứ hai được bào chế để cung cấp bằng cách sử dụng một hoặc nhiều đường cung cấp sau: tiêu hóa qua đường miệng, hít khí dung, tiêm dưới da, tiêm trong cơ, tiêm trong màng bụng, tiêm tĩnh mạch và truyền tĩnh mạch.

Theo một phương án tiếp theo, tác nhân loại bỏ HBsAg ra khỏi máu bao gồm một hoặc nhiều phân tử được chọn từ nhóm gồm:

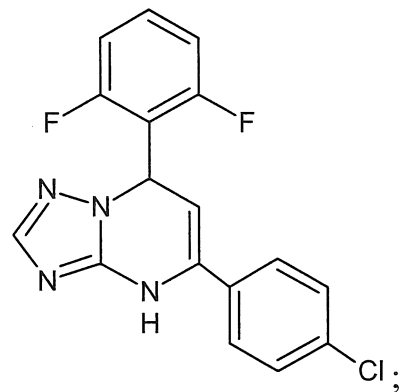
Kháng thể hoặc đoạn kháng thể gắn kết với kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B;

Các dẫn xuất triazolopyrimidin dưới đây:

7-(2-cloro-6-florophenyl)-5-(4-clorophenyl)-
4,5,6,7-tetrahydro[1,2,4]triazolo[1,5-
a]pyrimidin



5-(4-clorophenyl)-7-(2,6-điflorophenyl)-4,7-
đihydro[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyrimidin



Oligonucleotit được chọn trong số sau:

SEQ ID NO: 2;

SEQ ID NO: 3;

SEQ ID NO: 10;

Các SEQ ID NO: 1 và 4-9;

Polyme axit nucleic được chọn trong số sau:

Oligonucleotit đã phosphorothioat hóa có chiều dài 20-120 nucleotit bao gồm các đoạn lặp của trình tự AC;

Oligonucleotit đã phosphorothioat hóa có chiều dài 20-120 nucleotit bao gồm các đoạn lặp của trình tự CA;

Oligonucleotit đã phosphorothioat hóa có chiều dài 20-120 nucleotit bao gồm các đoạn lặp của trình tự TG và

Oligonucleotit đã phosphorothioat hóa có chiều dài 20-120 nucleotit bao gồm các đoạn lặp của trình tự GT;

Oligonucleotit đối nghĩa nhằm đích là phần bất kỳ của mARN HBV bất kỳ;
 Oligonucleotit đối nghĩa nhằm đích là phần bất kỳ của mARN apolipoprotein H của người;
 siARN nhằm đích là phần bất kỳ của mARN HBV bất kỳ;
 siARN nhằm đích là phần bất kỳ của mARN apolipoprotein H của người;
 shARN nhằm đích là phần bất kỳ của mARN HBV bất kỳ;
 shARN nhằm đích là phần bất kỳ của mARN apolipoprotein H của người;
 Spiegelmer hoặc aptamer nhằm đích kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B và
 Spiegelmer hoặc aptamer nhằm đích apolipoprotein H của người;

và tác nhân trị liệu thứ hai bao gồm một hoặc nhiều phân tử từ nhóm gồm:

Thymosin $\alpha 1$;

α -interferon bất kỳ hoặc các dẫn xuất đã pegyl hóa của chúng;

β -interferon bất kỳ hoặc các dẫn xuất đã pegyl hóa của chúng;

γ -interferon bất kỳ hoặc các dẫn xuất đã pegyl hóa của chúng;

λ -interferon bất kỳ hoặc các dẫn xuất đã pegyl hóa của chúng;

Interferon α -2a hoặc α -2b hoặc α -N3;

Interferon β -1a hoặc β -1b;

Interferon γ -1b;

Interferon $\lambda 1$ hoặc $\lambda 2$ hoặc $\lambda 3$

interferon α -2a hoặc α -2b hoặc $\lambda 1$ hoặc $\lambda 2$ đã pegyl hóa;

Xytokin kháng virus bất kỳ hoặc các dẫn xuất đã pegyl hóa của chúng;

Thymic protein A;

Polypeptit bất kỳ thể hiện hoạt tính kháng virus hoặc hoạt tính kích thích miễn dịch;

Oligonucleotit kích thích miễn dịch bao gồm IMO-2055 hoặc IMO-2125;

Chất chủ vận thụ thể dạng Toll phân tử nhỏ (TLR) bao gồm GS-9620 hoặc ANA-773; và

Hormon kích thích miễn dịch hoặc kháng virus bất kỳ bao gồm DHEA hoặc các chất chuyển hóa của nó.

Theo một phương án tiếp theo, oligonucleotit dưới đây có thể được bào chế tiếp dưới dạng một phức chất oligonucleotit chelat:

SEQ ID NO: 2;

SEQ ID NO: 3;

SEQ ID NO 10;

các SEQ ID NO: 1 và 4-9;

Polyme axit nucleic được chọn trong số sau:

Oligonucleotit đã phosphorothioat hóa có chiều dài 20-120 nucleotit bao gồm các đoạn lặp của trình tự AC;

Oligonucleotit đã phosphorothioat hóa có chiều dài 20-120 nucleotit bao gồm các đoạn lặp của trình tự CA;

Oligonucleotit đã phosphorothioat hóa có chiều dài 20-120 nucleotit bao gồm các đoạn lặp của trình tự TG; và

Oligonucleotit đã phosphorothioat hóa có chiều dài 20-120 nucleotit bao gồm các đoạn lặp của trình tự GT;

Oligonucleotit đối nghĩa nhằm đích là phần bất kỳ của mARN HBV bất kỳ;

Oligonucleotit đối nghĩa nhằm đích là phần bất kỳ của mARN apolipoprotein H của người;

siARN nhằm đích là phần bất kỳ của mARN HBV bất kỳ; và

siARN nhằm đích là phần bất kỳ của mARN apolipoprotein H của người.

Theo một phương án khác, việc sử dụng hoặc phương pháp điều trị được mô tả ở trên còn bao gồm việc cung cấp hoặc sử dụng đồng thời tác nhân được dụng thứ ba được chọn trong số sau:

tenofovir disoproxil fumarat;

entecavir;

telbuvudin;

adefovir dipivoxil; và

lamivudin.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc việc sử dụng dưới đây để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm vi rút viêm gan B/viêm gan

D, phương pháp hoặc việc sử dụng này bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân cần điều trị như vậy tác nhân được dụng thứ nhất gồm SEQ ID NO: 2 và tác nhân được dụng thứ hai là interferon α -2a đã pegyl hóa.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc việc sử dụng dưới đây để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, phương pháp hoặc việc sử dụng này bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân cần điều trị như vậy tác nhân được dụng thứ nhất gồm phức chất oligonucleotit chelat gồm SEQ ID No: 2 và tác nhân được dụng thứ hai là interferon α -2a đã pegyl hóa.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc việc sử dụng dưới đây để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, phương pháp hoặc việc sử dụng này bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân cần điều trị như vậy tác nhân được dụng thứ nhất gồm SEQ ID NO: 3 và tác nhân được dụng thứ hai là interferon α -2a đã pegyl hóa.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc việc sử dụng dưới đây để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, phương pháp hoặc việc sử dụng này bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân cần điều trị như vậy tác nhân được dụng thứ nhất gồm phức chất oligonucleotit chelat gồm SEQ ID No: 3 và tác nhân được dụng thứ hai là interferon α -2a đã pegyl hóa.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc việc sử dụng dưới đây để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, phương pháp hoặc việc sử dụng này bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân cần điều trị như vậy tác nhân được dụng thứ nhất gồm SEQ ID NO: 10 và tác nhân được dụng thứ hai là interferon α -2a đã pegyl hóa.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc việc sử dụng dưới đây để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, phương pháp hoặc việc sử dụng này bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân cần điều trị như vậy tác nhân được dụng thứ nhất gồm phức chất oligonucleotit chelat gồm SEQ ID No: 10 và tác nhân được dụng thứ hai là interferon α -2a đã pegyl hóa.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc việc sử dụng dưới đây để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, phương pháp hoặc việc sử dụng này bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân cần điều trị như vậy tác nhân được dụng thứ nhất gồm SEQ ID NO: 2 và tác nhân được dụng thứ hai là thymosin $\alpha 1$.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc việc sử dụng dưới đây để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, phương pháp hoặc việc sử dụng này bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân cần điều trị như vậy tác nhân được dụng thứ nhất gồm phức chất oligonucleotit chelat gồm SEQ ID No: 2 và tác nhân được dụng thứ hai là thymosin $\alpha 1$.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc việc sử dụng dưới đây để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, phương pháp hoặc việc sử dụng này bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân cần điều trị như vậy tác nhân được dụng thứ nhất gồm SEQ ID NO: 3 và tác nhân được dụng thứ hai là thymosin $\alpha 1$.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc việc sử dụng dưới đây để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, phương pháp hoặc việc sử dụng này bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân cần điều trị như vậy tác nhân được dụng thứ nhất gồm phức chất oligonucleotit chelat gồm SEQ ID No: 3 và tác nhân được dụng thứ hai là thymosin $\alpha 1$.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc việc sử dụng dưới đây để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, phương pháp hoặc việc sử dụng này bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân cần điều trị như vậy tác nhân được dụng thứ nhất gồm SEQ ID NO: 10 và tác nhân được dụng thứ hai là thymosin $\alpha 1$.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc việc sử dụng dưới đây để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, phương pháp hoặc việc sử dụng này bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân cần điều trị như vậy tác nhân được dụng thứ nhất gồm phức chất oligonucleotit chelat gồm SEQ ID No: 10 và tác nhân được dụng thứ hai là thymosin $\alpha 1$.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc việc sử dụng dưới đây để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, phương pháp hoặc việc sử dụng này bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân cần điều trị như vậy tác nhân được dùng thứ nhất gồm SEQ ID NO: 2 và tác nhân được dùng thứ hai là interferon α -2b.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc việc sử dụng dưới đây để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, phương pháp hoặc việc sử dụng này bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân cần điều trị như vậy tác nhân được dùng thứ nhất gồm phức chất oligonucleotit chelat gồm SEQ ID No: 2 và tác nhân được dùng thứ hai là interferon α -2b.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc việc sử dụng dưới đây để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, phương pháp hoặc việc sử dụng này bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân cần điều trị như vậy tác nhân được dùng thứ nhất gồm SEQ ID NO: 3 và tác nhân được dùng thứ hai là interferon α -2b.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc việc sử dụng dưới đây để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, phương pháp hoặc việc sử dụng này bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân cần điều trị như vậy tác nhân được dùng thứ nhất gồm phức chất oligonucleotit chelat gồm SEQ ID No: 3 và tác nhân được dùng thứ hai là interferon α -2b.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc việc sử dụng dưới đây để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, phương pháp hoặc việc sử dụng này bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân cần điều trị như vậy tác nhân được dùng thứ nhất gồm SEQ ID NO: 10 và tác nhân được dùng thứ hai là interferon α -2b.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc việc sử dụng dưới đây để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, phương pháp hoặc việc sử dụng này bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân cần điều trị như vậy tác nhân được dùng thứ nhất gồm phức chất oligonucleotit chelat gồm SEQ ID No: 10 và tác nhân được dùng thứ hai là interferon α -2b.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc việc sử dụng dưới đây để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, phương pháp hoặc việc sử dụng này bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân cần điều trị như vậy tác nhân được dụng thứ nhất gồm SEQ ID NO: 2 và tác nhân được dụng thứ hai là interferon $\lambda 1$ đã pegyl hóa.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc việc sử dụng dưới đây để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, phương pháp hoặc việc sử dụng này bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân cần điều trị như vậy tác nhân được dụng thứ nhất gồm phức chất oligonucleotit chelat gồm SEQ ID No: 2 và tác nhân được dụng thứ hai là interferon $\lambda 1$ đã pegyl hóa.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc việc sử dụng dưới đây để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, phương pháp hoặc việc sử dụng này bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân cần điều trị như vậy tác nhân được dụng thứ nhất gồm SEQ ID NO: 3 và tác nhân được dụng thứ hai là interferon $\lambda 1$ đã pegyl hóa.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc việc sử dụng dưới đây để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, phương pháp hoặc việc sử dụng này bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân cần điều trị như vậy tác nhân được dụng thứ nhất gồm phức chất oligonucleotit chelat gồm SEQ ID No: 3 và tác nhân được dụng thứ hai là interferon $\lambda 1$ đã pegyl hóa.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc việc sử dụng dưới đây để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, phương pháp hoặc việc sử dụng này bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân cần điều trị như vậy tác nhân được dụng thứ nhất gồm SEQ ID NO: 10 và tác nhân được dụng thứ hai là interferon $\lambda 1$ đã pegyl hóa.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc việc sử dụng dưới đây để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, phương pháp hoặc việc sử dụng này bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân cần điều trị như vậy tác nhân được dụng thứ nhất gồm phức chất oligonucleotit chelat gồm SEQ ID No: 10 và tác nhân được dụng thứ hai là interferon $\lambda 1$ đã pegyl hóa.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc việc sử dụng dưới đây để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm vi rút viêm gan B/viêm gan D, phương pháp hoặc việc sử dụng này bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân cần điều trị như vậy tác nhân được dụng thứ nhất gồm SEQ ID NO: 2 và tác nhân được dụng thứ hai là GS-9620.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc việc sử dụng dưới đây để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm vi rút viêm gan B/viêm gan D, phương pháp hoặc việc sử dụng này bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân cần điều trị như vậy tác nhân được dụng thứ nhất gồm phức chất oligonucleotit chelat gồm SEQ ID No: 2 và tác nhân được dụng thứ hai là GS-9620.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc việc sử dụng dưới đây để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm vi rút viêm gan B/viêm gan D, phương pháp hoặc việc sử dụng này bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân cần điều trị như vậy tác nhân được dụng thứ nhất gồm SEQ ID NO: 3 và tác nhân được dụng thứ hai là GS-9620.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc việc sử dụng dưới đây để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm vi rút viêm gan B/viêm gan D, phương pháp hoặc việc sử dụng này bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân cần điều trị như vậy tác nhân được dụng thứ nhất gồm phức chất oligonucleotit chelat gồm SEQ ID No: 3 và tác nhân được dụng thứ hai là GS-9620.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc việc sử dụng dưới đây để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm vi rút viêm gan B/viêm gan D, phương pháp hoặc việc sử dụng này bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân cần điều trị như vậy tác nhân được dụng thứ nhất gồm SEQ ID NO: 10 và tác nhân được dụng thứ hai là GS-9620.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc việc sử dụng dưới đây để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm vi rút viêm gan B/viêm gan D, phương pháp hoặc việc sử dụng này bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân cần điều trị như vậy tác nhân được dụng thứ nhất gồm phức chất oligonucleotit chelat gồm SEQ ID No: 10 và tác nhân được dụng thứ hai là GS-9620.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 minh họa hai dẫn xuất triazolopyrimidin có khả năng phong bế sự giải phóng HBsAg từ các dòng tế bào HepG2.2.15 sản xuất HBV như được mô tả trong ấn phẩm: Yu et al., 2011, J. Med. Chem. 54: 5660-5670. Fig.1A mô tả hợp chất nghiên cứu 1a (PBHBV-001) và Fig.1B mô tả hợp chất nghiên cứu 3c (PBHBV-2-15) như được nhận diện ở đây.

Mô tả chi tiết sáng chế

HBsAg đóng một vai trò quan trọng trong các bệnh nhiễm HBV và đồng nhiễm HBV/HDV. Ngoài vai trò của nó là một thành phần cấu trúc chủ yếu cho sự hình thành virion, HBsAg cũng được giải phóng với lượng lớn vào trong máu của các đối tượng bị nhiễm bệnh ở dạng các hạt dưới virus (SVP), chúng thiếu hệ gen và vỏ capsid virus và dường như có chức năng chủ yếu là để phân phối HBsAg vào máu. Việc các SVP được tiết ra từ các tế bào bị nhiễm bệnh với lượng nhiều hơn 1000-10000 lần so với sự tiết virus cho phép các SVP cô lập một cách hiệu quả các kháng thể HBsAg (kháng-HB) khiến cho virus HBV hoặc HDV trong máu có thể thoát khỏi sự nhận diện bởi miễn dịch thích ứng. Mặc dù có một vài nghiên cứu đã thừa nhận rằng HBsAg cũng có thể có chức năng phong bế trực tiếp sự hoạt hóa của các đáp ứng miễn dịch thích ứng và bẩm sinh tới sự nhiễm HBV (Cheng et al., 2005, Journal of hepatology, 43:4 65-471; Op den Brouw et al., 2009, Immunology, 126: 280-289; Vanlandschoot et al., 2002, The Journal of general virology, 83: 1281-1289; Wu et al., 2009, Hepatology, 49: 1132-1140; Xu et al., 2009, Molecular immunology, 46: 2640-2646) song sự hiện diện tính năng này ở các bệnh nhiễm HBV và đồng nhiễm HBV/HDV ở người và tác động của nó tới hoạt tính của các tác nhân trị liệu miễn dịch là chưa từng được nghiên cứu hoặc thiết lập. HBeAg và HBcAg cũng đã được thể hiện là có các đặc tính ức chế miễn dịch (Kanda et al. 2012 J. Inf. Dis. 206: 415-420; Lang et al. 2011 J. Hepatol. 55: 762-769; Gruffaz et al. 2013, J. Hepatol. 58 (suppl), p s155, Abstract 378).

Ngoài hoạt tính đã được nhận diện về việc lượng HBsAg dư trong máu (dưới dạng các SVP) sẽ cô lập các kháng HB, thì khả năng HBsAg có thể phong bế sự truyền tín hiệu xytokin trong một số hệ *in vitro* và *in vivo* chứng tỏ rằng các đặc tính ức chế miễn dịch của HBsAg cũng có thể có mặt trong các bệnh nhiễm HBV và đồng nhiễm HBV/HDV ở các đối tượng con người. Do sự dư thừa lượng lớn HBsAg trong máu của bệnh nhân bị nhiễm bệnh, nên dẫn đến khả năng làm suy yếu hiệu quả của nhiều cơ chế truyền tín hiệu quan trọng đối với chức năng miễn dịch tối ưu (cả thích ứng lẫn bẩm sinh). Phần mô tả ở đây lần đầu tiên khẳng định rằng nhiều trong số các cơ chế truyền tín hiệu này có nhiều khả năng là cần thiết cho các tác động của các tác nhân trị liệu miễn dịch là đáng tin cậy. Phần mô tả này cũng lần đầu tiên khẳng định tác động quan trọng của việc tuần hoàn HBsAg trong việc ức chế tác động của các tác nhân trị liệu miễn dịch.

Điều được đề xuất ở đây là việc chứng tỏ sự điều trị có hiệu quả đối với các bệnh nhiễm HBV và đồng nhiễm HBV/HDV bởi việc dùng tác nhân được dụng thứ nhất có khả năng loại bỏ HBsAg ra khỏi máu và tác nhân trị liệu miễn dịch kích thích chức năng miễn dịch. Sự điều trị kết hợp như vậy cho phép tuần hoàn các kháng thể kháng HBsAg tấn công trực tiếp các tế bào sản xuất virus và virus tuần hoàn, và trong trường hợp không có các đặc tính ức chế miễn dịch của HBsAg, dẫn đến sự cải thiện mạnh mẽ về mức độ ảnh hưởng của trị liệu miễn dịch mà bản thân điều này dẫn tới kết quả một tỷ lệ lớn hơn nhiều của bệnh nhân đạt được sự kiểm soát miễn dịch đối với bệnh nhiễm HBV của chúng so với trị liệu miễn dịch được áp dụng một mình.

Điều được đề xuất bởi sáng chế là ngoài khả năng đã được mô tả từ trước là là phong bế việc truyền tín hiệu xytokin *in vitro*, việc tuần hoàn HBsAg cũng bắt ngờ ức chế trực tiếp chức năng của các trị liệu miễn dịch đã được phê chuẩn để điều trị HBV ngoài việc ngăn chặn đáp ứng miễn dịch vật chủ kháng nhiễm HBV. Do vậy, việc trị liệu kết hợp tác nhân thứ nhất có khả năng loại bỏ HBsAg ra khỏi máu và tác nhân thứ hai kích thích chức năng miễn dịch cho kết quả là tác động hiệp đồng mới giữa hai tác nhân này có tác dụng cải thiện mạnh mẽ về khả năng phục hồi sự kiểm soát miễn dịch cho bệnh nhân bị nhiễm HBV.

Các dữ liệu được trình bày trong Phần mô tả liên quan tới các người bệnh cho thấy rằng việc loại bỏ HBsAg (và các kháng nguyên HBV khác) ra khỏi máu của bệnh nhân bị nhiễm HBV mạn tính (bằng cách sử dụng các polyme axit nucleic hoặc các NAP) có thể cho phép một số biện pháp phục hồi miễn dịch nhưng mức độ hoạt hóa lại miễn dịch là không đủ để tạo ra sự kiểm soát dài lâu ở một tỷ lệ lớn các bệnh nhân. Dữ liệu này chứng tỏ một cách rõ ràng là phương pháp hoặc tác nhân được dụng khác bất kỳ dẫn đến làm giảm hoặc loại bỏ HBsAg (hoặc ngoài các protein HBV khác) trong máu của bệnh nhân bị nhiễm bệnh sẽ không được dự kiến để đạt được kết quả điều trị tốt hơn bất kỳ so với kết quả đã đạt được với các NAP.

Các dữ liệu được trình bày Phần mô tả liên quan tới các người bệnh cũng lần đầu tiên chứng tỏ rằng sự có mặt của HBsAg trong máu của bệnh nhân nhiễm HBV sẽ ngăn chặn hoạt tính sinh hóa của các tác nhân trị liệu miễn dịch kiểu như thymosin $\alpha 1$ hoặc interferon α -2a đã pegyl hóa. Nhờ việc sử dụng NAP REP 2139, lượng HBsAg trong máu của bệnh nhân nhiễm HBV được loại bỏ trước khi điều trị bằng thymosin $\alpha 1$ hoặc interferon α -2a đã pegyl hóa. Trong môi trường âm tính HBsAg, việc điều trị bằng cả hai tác nhân trị liệu miễn dịch này dẫn tới sự hiệp đồng mạnh mẽ và bất ngờ trong việc hoạt hóa đáp ứng miễn dịch (khi được xác định bởi việc sản xuất các kháng thể kháng HBsAg trong máu) mà về cơ bản là mạnh và nhanh hơn nhiều so với khi các tác nhân trị liệu miễn dịch này được sử dụng trong đơn trị liệu. Điều quan trọng nhất là, việc loại bỏ HBsAg ra khỏi máu ở các bệnh nhân này đã cho phép các đáp ứng nhanh chóng với trị liệu miễn dịch xảy ra ở hầu hết các bệnh nhân. Dạng đáp ứng miễn dịch dương tính bất kỳ thường xuất hiện ở các bệnh nhân được điều trị bằng các tác nhân trị liệu miễn dịch được sử dụng trong đơn trị liệu.

Những kết quả này cũng lần đầu tiên chứng tỏ rằng việc loại bỏ HBsAg ra khỏi máu của bệnh nhân nhiễm HBV hoặc đồng nhiễm HBV/HDV sẽ có tác động hiệp đồng về khả năng của tác nhân trị liệu miễn dịch bất kỳ để gây ra một đáp ứng miễn dịch mạnh hơn ở hầu hết hoặc toàn bộ các bệnh nhân tiếp nhận trị liệu miễn dịch với một phác đồ điều trị ngắn hơn so với việc áp dụng thông thường.

Những kết quả này cho các chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này thấy một cách rõ ràng là phương pháp hoặc tác nhân được dụng bất kỳ để loại bỏ HBsAg ra khỏi máu của bệnh nhân nhiễm HBV hoặc đồng nhiễm HBV/HDV có thể được mong đợi nếu có tác dụng hiệp đồng và có lợi như nhau về việc cải thiện hoạt tính sinh hóa của tác nhân trị liệu miễn dịch được dụng bất kỳ. Sự cải thiện về hoạt tính của tác nhân trị liệu miễn dịch có thể đạt được khi việc làm giảm hoặc loại bỏ HBsAg đạt được trước khi trị liệu miễn dịch hoặc đồng thời cùng với trị liệu miễn dịch hoặc khi làm giảm hoặc loại bỏ HBsAg đạt được sau khi trị liệu miễn dịch đã được bắt đầu và liên tục từ trước đó.

Việc thừa nhận tác dụng kháng virus hiệp đồng mạnh mẽ của việc điều trị cho bệnh nhân bằng một tác nhân được dụng loại bỏ HBsAg ra khỏi máu (bởi cách thức bất kỳ) kết hợp với tác nhân được dụng kích thích chức năng miễn dịch cho một cách tiếp cận mới để đạt được đáp ứng kháng virus được cải thiện đáng kể so với các trị liệu miễn dịch hiện thời là không thể dự đoán hoặc thấy trước được trong lĩnh vực kỹ thuật này trước khi có phần mô tả ở đây.

Thuật ngữ “oligonucleotit” (ON) dùng để chỉ oligome hoặc polyme của axit ribonucleic (ARN) và/hoặc axit deoxyribonucleic (ADN). Thuật ngữ này bao gồm các ON chứa các nucleobazơ đã cải biến (bao gồm 5'-methylxytosin và 4'-thiouraxil), đường và các liên kết cộng hóa trị giữa các nucleosit (mạch chính) cũng như các ON có các phần không có mặt trong tự nhiên có chức năng tương đương. Các ON đã được thể hoặc đã được cải biến như vậy có thể được ưu tiên hơn so với các dạng tự nhiên nhờ có các tính chất có thể được mong muốn như, ví dụ, hoạt tính miễn dịch thấp, mức độ hấp thụ tế bào cao, ái lực cao đối với đích axit nucleic (trong phạm vi của các ON đối nghĩa, các siARN và các shARN) và/hoặc và độ ổn định cao với sự thoái biến do nucleaza gây ra. Các ON cũng có thể có dạng sợi kép. Các ON cũng bao gồm các phân tử dạng sợi đơn như oligonucleotit đối nghĩa, các Spiegelmer và các aptamer, cũng như các phân tử dạng sợi kép như các ARN can thiệp kích thước nhỏ (siARN) hoặc các ARN mảnh nhỏ (shARN).

Các ON có thể bao gồm các cải biến khác nhau, ví dụ, các cải biến làm ổn định, và do vậy có thể bao gồm ít nhất một cải biến trong liên kết phosphodiester và/hoặc trên đường, và/hoặc trên bazơ. Ví dụ, ON có thể bao gồm, mà không nhằm giới hạn ở, một hoặc nhiều cải biến, hoặc được cải biến hoàn toàn để chứa tất cả các liên kết hoặc đường hoặc bazơ có các cải biến được đề cập. Các liên kết được cải biến có thể bao gồm các liên kết phosphorothioat, các liên kết phosphorodithioat, và/hoặc các liên kết methylphosphonat. Mặc dù các liên kết được cải biến là hữu ích, song các ON có thể bao gồm các liên kết phosphodiester. Các cải biến hữu ích bổ sung bao gồm, mà không nhằm giới hạn ở, các cải biến ở vị trí 2'- của đường bao gồm các cải biến 2'-O-alkyl như các cải biến 2'-O-metyl, 2' O-metoxymetyl (2' MOE), các cải biến 2'-amino, các cải biến 2'-halo như 2'-flo; và/hoặc các chất tương tự nucleotit không vòng. Các cải biến 2' khác cũng đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và có thể được sử dụng như các axit nucleic đã được khóa. Cụ thể, ON có các liên kết được cải biến trên khắp hoặc trên mỗi liên kết được cải biến, ví dụ, phosphorothioat; có đầu chụm 3'- và/hoặc 5'-; bao gồm liên kết 3'-5' đầu cuối; ON là hoặc bao gồm đoạn trùng lặp gồm hai hoặc nhiều trình tự ON được nối bởi (các) liên kết. Các cải biến bazơ có thể bao gồm 5'metyl hóa bazơ xytosin (5' methylxytosin hoặc trong phạm vi của nucleotit, 5' methylxytidin) và/hoặc 4'thioat hóa bazơ uraxil (4'thiouraxil hoặc trong phạm vi của nucleotit, 4'thiouridin). Các liên kết đã cải biến tương thích hóa học khác nhau có thể được kết hợp khi các điều kiện tổng hợp tương thích hóa học như có một oligonucleotit có các liên kết phosphorothioat, cải biến 2' ribosa (như 2'O-metyl hóa) và bazơ đã cải biến (như 5'methylxytosin). ON có thể được cải biến hoàn toàn tiếp bằng tất cả các cải biến khác nhau này (ví dụ, mỗi liên kết được phosphorothioat, mỗi ribosa 2' được cải biến và mỗi bazơ được cải biến).

Trong Phần mô tả, thuật ngữ “polyme axit nucleic” hoặc NAP được dự định để nhận diện cho ON sợi đơn bất kỳ không có tính năng đặc thù trình tự, hoặc hybrid hóa với đích axit nucleic hoặc thông qua một cấu trúc bậc hai đặc thù trình tự dẫn tới gắn kết với protein đặc thù. Hoạt tính sinh hóa của các NAP không phụ thuộc vào sự thừa nhận thụ thể dạng Toll của các ON, lai hóa với một axit nucleic

đích hoặc tương tác aptamer đòi hỏi một cấu trúc ON bậc hai/bậc ba đặc thù có nguồn gốc từ một bộ đặc thù của nucleotit có mặt. Các NAP có thể bao gồm các cải biến bazơ và hoặc liên kết và hoặc đường như được mô tả ở trên. Các hợp chất NAP được lấy làm ví dụ bao gồm:

Oligonucleotit đã phosphorothioat hóa có chiều dài 20-120 nucleotit bao gồm các đoạn lặp của trình tự AC;

Oligonucleotit đã phosphorothioat hóa có chiều dài 20-120 nucleotit bao gồm các đoạn lặp của trình tự CA;

Oligonucleotit đã phosphorothioat hóa có chiều dài 20-120 nucleotit bao gồm các đoạn lặp của trình tự TG;

Oligonucleotit đã phosphorothioat hóa có chiều dài 20-120 nucleotit bao gồm các đoạn lặp của trình tự GT;

Oligonucleotit đã phosphorothioat hóa có chiều dài 20-120 nucleotit bao gồm các đoạn lặp của trình tự UG;

Oligonucleotit đã phosphorothioat hóa có chiều dài 20-120 nucleotit bao gồm các đoạn lặp của trình tự GU; và

các SEQ ID NO: 1-10.

Các phức chất chelat ON gồm hai hoặc nhiều ON liên kết các phân tử với nhau bởi một cation kim loại hoá trị hai hoặc đa hóa trị. Các phức chất chelat ON làm vô hiệu các tính chất chelat hóa vốn có của các ON có thể tạo ra các tác dụng phụ có liên quan tới việc cung cấp thuốc bằng các hợp chất này. Việc áp dụng các phức chất chelat ON là một phương pháp áp dụng ON cho đối tượng khi các tác dụng phụ có liên quan tới việc cung cấp thuốc đi kèm với các ON chưa được chelat hóa (gồm các ON được cung cấp dưới dạng các muối natri như thường được áp dụng trong lĩnh vực kỹ thuật này) được giảm nhẹ. Các tác dụng phụ này có thể bao gồm các chứng run, sốt và ớn lạnh cùng với việc hóa cứng hoặc tiêm truyền tĩnh mạch, viêm và đau ở vị trí tiêm cùng với việc cung cấp dưới da. Hơn nữa, bằng cách điều chế các ON dưới dạng các phức chất đã chelat hóa, tính năng được động của chúng có thể được cải thiện, cho phép nâng cao tính năng trị liệu với liều dung tương đương với các ON chưa được chelat hóa như được mô tả

trong Công bố đơn Quốc tế WO 2012/021985 và Công bố đơn patent Mỹ No. 2012/0046348. Việc áp dụng các phức chất chelat ON không gây ảnh hưởng tới hoạt tính sinh hóa của các ON khi được sử dụng thông thường dưới dạng các muối natri. Do vậy, ON đối nghĩa bất kỳ, siARN, hoặc NAP như được mô tả ở đây có thể tùy ý được điều chế dưới dạng một phức chất chelat ON mà không ảnh hưởng tới hoạt tính sinh hóa.

Các phức chất chelat ON có thể chứa các cation kim loại đa hóa trị khác nhau bao gồm canxi, magie, coban, sắt, mangan, bari, niken, đồng, kẽm, cadimi, thủy ngân và chì. Điều cũng đã được chứng minh là sự chelat hóa các cation kim loại đa hóa trị này dẫn đến sự tạo thành của các phức chất chelat ON có hai hoặc nhiều ON được liên kết qua các cation kim loại và xuất hiện với các ON có độ dài lớn hơn 6 nucleotit, và với sự có mặt của các ON có các liên kết phosphodiester hoặc phosphorothioat. Tùy ý, các ON có thể có mỗi liên kết đã được phosphorothioat hóa. Sự chelat hóa cũng xảy ra với các ON chứa các cải biến 2' (như 2' O methyl) ở riboza hoặc chứa các bazơ đã được cải biến như 5'-methylxytosin hoặc 4-thiouraxil. Các cải biến 2' này có thể có mặt trên một hoặc nhiều hoặc toàn bộ các riboza và các bazơ đã được cải biến có thể có mặt trên một hoặc nhiều bazơ hoặc đồng thời có mặt trên mỗi bazơ (tức là, tất cả các xytosin có mặt dưới dạng 5'-methylxytosin). Ngoài ra, các phức chất chelat ON có thể có các ON chứa nhiều cải biến như mỗi liên kết đã được phosphorothioat hóa, mỗi riboza đã được cải biến 2' và mỗi bazơ đã được cải biến. Các cải biến ON tương thích với sự tạo thành phức chất chelat ON được xác định rõ hơn ở dưới. Hơn nữa, sự chelat hóa các cation kim loại không phụ thuộc vào trình tự của nucleotit có mặt mà dựa trên cơ sở các dấu hiệu hóa lý thường thấy với tất cả các ON.

Mặc dù sự tạo thành của các phức chất chelat ON có thể đạt được với cation kim loại hóa trị hai bất kỳ, song tốt hơn nếu các phức chất chelat ON được dự định để sử dụng làm các thuốc có thể không chỉ chứa canxi và hoặc magie mà có thể còn chứa sắt, mangan, đồng hoặc kẽm với các hàm lượng vi lượng và có thể không bao gồm coban, bari, niken, cadimi, thủy ngân, chì hoặc kim loại hoá trị hai bất kỳ khác không được liệt kê trong bản mô tả.

Các ON có thể tạo ra các tác động của chúng bởi nhiều cơ chế phụ thuộc trình tự hoặc không phụ thuộc trình tự. Các cơ chế phụ thuộc trình tự gồm các cơ chế đòi hỏi một trình tự axit nucleic đặc thù đối với hoạt tính của chúng và trong đó hoạt tính này bị khử bởi một hoặc nhiều biến đổi trong trình tự nucleotit có mặt. Trình tự đặc thù này có thể bao hàm toàn bộ độ dài của ON hoặc chỉ một phần phần của nó (motif trình tự). Các ví dụ về các ON phụ thuộc trình tự bao gồm:

1. Các ON đối nghĩa dạng sợi đơn hoặc sợi kép (ví dụ, ARN can thiệp tổng hợp (siARN) hoặc ARN mảnh nhỏ (shARN)) được thiết kế để hướng đích vùng đặc thù của ARN thông tin (mARN) hoặc vi ARN (miARN) được nghiên cứu bởi sự lai hóa giữa ON đối nghĩa và trình tự trong phần đích của mARN được nghiên cứu. Khi các ON đối nghĩa được đưa vào tế bào, chúng dẫn đến sự hình thành một vùng kẹp trên mARN hoặc cùng với miARN gây ra sự thoái biến của mARN hoặc miARN đặc thù này bởi RNaza H. Khi các siARN được đưa vào tế bào (hoặc shARN được biểu hiện trong tế bào), thì dải đối nghĩa (hoặc dải dẫn hướng) được đưa vào RISC (phức chất làm câm do ARN gây ra) sử dụng sự lai hóa được hướng đích bằng dải dẫn hướng cùng với vùng bổ trợ trên mARN đích để tác động tới sự phân giải của nó bởi thành phần xúc tác của RISC còn được gọi là Argonaute.
2. Các ON phong bế stearic là các ON đối nghĩa sợi đơn bổ trợ cho một phần cụ thể của mARN hoặc mARN còn non nhưng được tạo ra bằng kỹ thuật di truyền để không hoạt hóa RNaza H, hoặc là do có chứa cải biến 2' của mỗi riboza, là một cải biến đã biết là để ngăn ngừa tác động của RNaza H hoặc bằng cách áp dụng hóa học ON được cải biến (như các ON morpholino) không được nhận diện bởi RNaza H. Sự lai hóa các ON này thành mARN đích của chúng tạo ra cấu trúc sợi kép gây ra sự cản trở không gian cho các protein thường có tác động lên mARN (như các protein hoặc ribosom nối). Các ON như vậy có thể được sử dụng để phong bế sự dịch mã của một mARN cụ thể hoặc can thiệp vào việc tách intron sau phiên mã và sự trưởng thành của một mARN cụ thể.

3. Các aptamer là các ON thích ứng cho một cấu hình ba chiều cụ thể có khả năng tương tác protein đặc thù và không dễ dàng tương tác với ADN hoặc ARN vật chủ. Các aptamer cũng có thể bao gồm các Spiegelmer, chúng sử dụng L-nucleotit thay cho D-nucleotit để tạo sự ổn định enzym cao đối với ON.

4. Các ON kích thích miễn dịch chứa các cải biến đặc thù tạo ra sự gắn kết và sự hoạt hóa các thụ thể dạng toll 7, 8 và 9 nhờ cơ chế thông qua motif không CpG và có khả năng kích thích chức năng miễn dịch (Kandimalla et al. 2011. Cell. Immunol. 270: 126-134; Struthers et al. 2010. Cell. Immunol. 263: 105-113).

Trong thiết kế của các ON đối nghĩa, các siARN hoặc các shARN, trình tự của các phân tử này được thiết kế để bổ trợ 100% cho trình tự đích mong muốn của một ARN đặc thù theo các nguyên tắc sau đây:

Các ON đối nghĩa có chiều dài 15-25 nucleotit và chứa trình tự bổ trợ 100% cho trình tự đích mong muốn.

Dải dẫn hướng của siARN chứa một oligoribonucleotit có chiều dài 19-21 bổ trợ 100% cho phần đích của mARN được nghiên cứu và dải hành khách (dải còn lại trong sợi kép) chứa cùng chiều dài của trình tự ribonucleotit bổ trợ 100% cho dải dẫn hướng. Cả hai dải hành khách và dẫn hướng cũng đều có hai deoxythymidin nucleotit bổ sung trên đầu 3' của mỗi dải.

Các phân tử shARN được sản xuất từ một vật truyền biểu hiện như cấu trúc biểu hiện dựa trên cơ sở plasmit hoặc virus (ví dụ, lentivirus hoặc adenovirus) tạo ra một ARN dài bao gồm trình tự của các dải dẫn hướng và dải hành khách (như được mô tả ở trên đối với siARN nhưng có thể có chiều dài 19-29 nucleotit) trong một oligonucleotit tiếp giáp nhưng được ngăn cách bởi một trình tự oligonucleotit không bổ trợ ngắn được thiết kế để tạo ra mảnh hairpin. Sự phiên mã ARN từ cấu trúc biểu hiện này dẫn đến sự hình thành của mảnh hairpin ARN ngắn được xử lý bởi dicer enzym và được nạp vào RISC như được mô tả ở trên cho siARN.

Trong phần mô tả, thuật ngữ “kháng virus ON” dùng để chỉ ON đối nghĩa bất kỳ, siARN, shARN hoặc NAP, mà nhờ hoạt tính sinh hóa đặc thù của nó (cho dù không phụ thuộc trình tự hay phụ thuộc trình tự) có khả năng ức chế trực tiếp

hoặc gián tiếp một phần dấu hiệu sao chép virus hoặc nâng cao trực tiếp hoặc gián tiếp khả năng khỏi bệnh của vật chủ bởi cơ chế miễn dịch hoặc cơ chế khác.

Trong phần mô tả, thuật ngữ, thuật ngữ “ON chelat phức chất” dùng để chỉ phức chất của hai hoặc nhiều ON trong dung dịch được liên kết giữa các phân tử bởi cation kim loại như được mô tả trong Công bố đơn Quốc tế No. WO 2012/021985 và Công bố đơn patent Mỹ No. 2012/0046348. Các phức chất chelat ON có thể được tạo thành với các ON đối nghĩa, siARN hoặc NAP.

Trong phần mô tả, thuật ngữ “phức chất chelat ON kháng virus” dùng để chỉ phức chất của hai hoặc nhiều ON kháng virus trong dung dịch được liên kết các phân tử với nhau bởi cation kim loại đa hóa trị.

Các NAS đã phosphorothioat hóa là một nhóm mới của các tác nhân kháng virus phổ rộng trên cơ sở ON (Bernstein et al., 2008, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 52: 2727-2733; Cardin et al., 2009, *Virology Journal*, 6: 214; Guzman et al., 2007, *Antiviral Therapy*, 12: 1147-1156; Lee et al., 2008, *Virology*, 372: 107-117; Matsumura et al., 2009, *Gastroenterology*, 137: 673-681; Vaillant et al., 2006, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50: 1393-1401 và các patent Mỹ No. 8,008,269, 8,008,270 và 8,067,385) cũng phong bế sự tạo thành và giải phóng các SVP từ các tế bào gan bị nhiễm HBV (xem Ví dụ I). Do các SVP cấu thành >99,9% HBsAg trong máu của bệnh nhân mắc HBV, nên việc phong bế sự tạo thành và/hoặc giải phóng SVP từ các tế bào gan bị nhiễm bệnh bởi các NAP là một phương pháp có hiệu quả cao trong việc loại bỏ HBsAg ra khỏi máu của bệnh nhân bị nhiễm HBV.

Như được mô tả ở Ví dụ II, việc loại bỏ HBsAg ra khỏi máu của bệnh nhân bị nhiễm bệnh bởi các NAP dẫn đến việc phục hồi một phần đáp ứng miễn dịch do đó loại bỏ kháng nguyên e HBV (HBeAg) ra khỏi máu và làm giảm đáng kể lượng virus trong máu trong quá trình điều trị nhưng không duy trì được ở hầu hết các bệnh nhân sau khi ngừng điều trị. Mặc dù việc phục hồi một phần này của đáp ứng miễn dịch (mà không cần có mặt của HBsAg và các kháng nguyên virus khác) có thể dẫn đến việc thiết lập sự kiểm soát miễn dịch bền lâu sự nhiễm HBV sau khi ngừng điều trị ở một tỷ lệ nhỏ bệnh nhân, song vẫn là không đủ để đạt được sự

kiểm soát hoàn toàn ở đa số các bệnh nhân được điều trị. Do vậy, giải pháp đơn giản chỉ để loại bỏ HBsAg ra khỏi máu bởi phương pháp bất kỳ hoặc bằng cách sử dụng tác nhân được dụng khác bất kỳ với hiệu quả tương đương sẽ chỉ tạo ra sự phục hồi miễn dịch ở mức độ vừa phải tương đương dẫn đến kết quả là thiết lập sự điều trị dập tắt bền lâu với một tỷ lệ hạn chế bệnh nhân được điều trị.

Ngoài các NAP, chưa từng có một tác nhân khác nào đã được công bố công khai là có khả năng loại bỏ nhanh HBsAg ra khỏi máu trong các người bệnh bị nhiễm HBV. Tuy nhiên, có một vài phương pháp khác có thể được sử dụng khác với việc sử dụng các NAP để mong muốn đạt được việc loại bỏ HBsAg ra khỏi máu là đã được biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Các phương pháp như vậy bao gồm (nhưng không chỉ giới hạn ở) các phương pháp dưới đây:

A. Bằng cách sử dụng phương pháp tiếp cận phân tử nhỏ nhằm đích là các phần của protein HBsAg hoặc các yếu tố vật chủ hoặc virus khác liên quan tới sự hình thành của các SVP để phong bế sự tạo thành của các SVP, phong bế sự vận chuyển các SVP qua bộ máy tiết của tế bào bị nhiễm bệnh, phong bế sự giải phóng SVPs từ các tế bào gan bị nhiễm bệnh vào máu hoặc phong bế nói chung sự giải phóng HBsAg từ các tế bào bị nhiễm bệnh. Các phân tử nhỏ được sử dụng trong phương pháp này có thể bao gồm các dẫn xuất triazolopyrimidin như được mô tả trong ấn phẩm: Yu et al. (2011, J. Med Chem. 54: 5660-5670) và có thể bao gồm các dẫn xuất triazolopyrimidin đặc biệt như được mô tả trong Fig.1 đã được chứng minh là để phong bế sự giải phóng HBsAg từ các dòng tế bào sản xuất HBV. Các phân tử nhỏ khác cũng có thể được sử dụng với đích là protein Apo H có thể là quan trọng cho việc tạo ra các SVP (như được mô tả trong đơn patent Canadian No. 2,746,981).

B. Bằng cách sử dụng phương pháp tiếp cận ON trên cơ sở đối nghĩa, bao gồm các phân tử oligonucleotit đối nghĩa, siARN hoặc shARN nhằm đích là các mARN cụ thể và nhờ đó xúc tác quá trình thoái biến của chúng để ức chế sự tổng hợp HBsAg (tức là, xúc tác quá trình thoái biến của mARN được sử dụng để sản xuất protein HBsAg) hoặc các yếu tố vật chủ hoặc virus khác có liên quan tới sự hình thành của các SVP (bao gồm Apo H như được mô tả trong đơn patent Canadian

No. 2,746,981), sự vận chuyển của các SVP qua bộ máy tiết của tế bào bị nhiễm bệnh hoặc sự giải phóng SVPs từ các tế bào gan bị nhiễm bệnh vào máu. Giải pháp trên cơ sở một đối nghĩa như vậy cũng có thể được sử dụng để lai hóa cùng với các mARN virus hoặc vật chủ cần thiết cho sự tổng hợp các protein quan trọng để hình thành, sự giải phóng hoặc vận chuyển nội bào các SVP từ các tế bào gan bị nhiễm bệnh và gây ra sự thoái biến của các mARN bởi các cơ chế được mô tả ở trên. Cụ thể, một số giải pháp trên cơ sở đối nghĩa về HBV có thể đặc biệt có lợi do các phân tử đối nghĩa đơn như các siARN có thể được thiết kế để can thiệp vào tất cả các mARN HBV được tạo ra từ hệ gen virus bởi việc lai hóa với một vùng đơn trên hệ gen HBV gây ra sự thoái biến của tất cả các mARN được tạo ra từ hệ gen HBV đồng thời ảnh hưởng tới sự tổng hợp HBsAg, HBeAg và HBcAg như được mô tả trong ấn phẩm: Fu et al. (2008, *Acta Pharmacol. Sin.* 29: 1522-1528). Hai hoặc nhiều phân tử đối nghĩa cũng có thể được sử dụng đồng thời hoặc là dưới dạng các phân tử tách biệt hoặc dưới dạng các phân tử được tạo ra từ vật truyền biểu hiện đơn được đưa vào vật chủ bị nhiễm bệnh như được mô tả trong ấn phẩm: Snyder et al. (2008, *Antiviral Res.*, 80: 36-44). Các ví dụ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này về việc ức chế trên cơ sở đối nghĩa sự tổng hợp các protein HBV bao gồm:

- a. Altritol-modified siRNA lipoplexes (Hean et al., 2010, *Artificial DNA: PNA & XNA*, 1: 17-26).
- b. One or more siRNA sequences (Xin et al., 2008, *World J. Gastroenterol.*, 14: 3849-3854; Zhe et al., 2005, *J. Zhejiang Univ. Sci.*, 6B: 236-241 and reviewed in Chen et al., 2008, *Pharmaceutical Res.*, 25: 72-86).
- c. One or more siRNA sequences and a polyconjugate system (ARC-520), <http://www.arrowheadresearch.com/press-releases/arrowhead-research-advances-arc-520-ind-enabling-studies-treatment-hepatitis-b-and;>
http://www.arrowheadresearch.com/sites/default/files/press_releases/pdf/whitepaper-hbv-3-7-12.pdf.
- d. Locked nucleic acid-modified antisense molecules (Sum et al., 2011, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 409: 430-435).

e. One or more shRNAs (Zhang et al., 2010, BMC Microbiol. 10:214; Starkey et al., 2009, J. Gen Virol. 90: 115-126 and reviewed in Chen et al., 2008, Pharmaceutical Res., 25: 72-86).

C. Bằng cách sử dụng phương pháp tiếp cận aptamer trên cơ sở ON (bao gồm các aptamer cổ điển hoặc các Spiegelmer) để nhằm đích là các phần của các protein HBsAg, HBeAg hoặc HBcAg hoặc các yếu tố vật chủ hoặc virus khác (bao gồm Apo H) có mặt trong vòng tuần hoàn để thúc đẩy của chúng sự loại bỏ ra khỏi máu. Các aptamer cổ điển và các Spiegelmers có thể được pegyl hóa tiếp như được mô tả trong các ấn phẩm: Waters et al. 2011 Blood 117: 5514-5522 và Wlotzka et al. 2002 Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 99: 8898-8902 để cải thiện độ ổn định và chu kỳ bán hủy tuần hoàn của chúng.

D. Bằng cách sử dụng giải pháp tiếp cận trên cơ sở kháng thể để hướng đích trực tiếp HBsAg và thúc đẩy sự loại bỏ nó ra khỏi máu.

Thuật ngữ “loại bỏ HBsAg ra khỏi máu” khi được sử dụng trong Phần mô tả chỉ sự giảm đáng kể về mặt thống kê bất kỳ của nồng độ HBsAg trong máu so với nồng độ HBsAg trong máu trước khi được điều trị khi đo được bằng thử nghiệm Abbott Architect™ quantitative HBsAg. Thử nghiệm HBsAg huyết thanh này là một tiêu chuẩn được chấp nhận cho việc đo lường mức độ HBsAg trong máu và được chấp thuận để sử dụng cho việc chẩn đoán trên người.

Các ví dụ về các ON có thể hữu ích theo sáng chế được đưa ra trong Bảng

1.

Bảng 1

Các ví dụ ON có thể hữu ích theo sáng chế

Nhóm ON	Loại axit nucleic	Chuỗi (5' – 3')	Các cải biến
NAP	ADN	(AC) ₂₀ (SEQ ID NO: 2)	Toàn bộ liên kết PS
NAP	ADN	(CA) ₂₀ (SEQ ID NO: 1)	Toàn bộ liên kết PS
NAP	ADN	(A-5'MeC) ₂₀ (SEQ ID NO: 3)	Toàn bộ liên kết PS
NAP	ADN	(5'MeC-A) ₂₀ (SEQ ID NO: 4)	Toàn bộ liên kết PS

Nhóm ON	Loại axit nucleic	Chuỗi (5' – 3')	Các cải biến
NAP	ARN	(2'OMeA-2'OMeC) ₂₀ (SEQ ID NO: 5)	Toàn bộ liên kết PS
NAP	ARN	(2'OMeC-2'OMeA) ₂₀ (SEQ ID NO: 6)	Toàn bộ liên kết PS
NAP	ADN	(TG) ₂₀ (SEQ ID NO: 7)	Toàn bộ liên kết PS
NAP	ADN	(GT) ₂₀ (SEQ ID NO: 8)	Toàn bộ liên kết PS
NAP	ARN	(2'OMe, 5'MeC-2'OMeA) ₂₀ (SEQ ID NO: 9)	Toàn bộ liên kết PS
NAP	ARN	(2'OMeA-2'OMe, 5'MeC) ₂₀ (SEQ ID NO: 10)	Toàn bộ liên kết PS
Đối nghĩa	ADN / ARN	Trình tự bổ trợ 100% cho virut hoặc vật chủ mARN (ví dụ, Apo H) hoặc cho mARN HBV	Toàn bộ liên kết PS, có thể chứa một phần của ARN cùng với cải biến 2' ribozơ hoặc LNA
siARN	ARN / ADN sợi kép	Chứa trình tự bổ trợ 100% cho virut hoặc vật chủ mARN (ví dụ, Apo H) hoặc cho mARN HBV	Có thể chứa ARN cùng với cải biến 2' ribozơ, có thể chứa PS
shARN	ARN sợi kép được tạo ra từ vật truyền biểu hiện	Chứa trình tự bổ trợ 100% cho virut hoặc vật chủ mARN (ví dụ, Apo H) hoặc cho mARN HBV	ARN

PS = phosphorothioat, 2'OMe = 2' O methyl, 5'MeC = 5'methylcytosin

Các phác đồ dùng liệu hiệu quả được lấy làm ví dụ cho các tác nhân được dụng khác nhau được mô tả ở trên có thể sử dụng được để đạt được sự loại bỏ HBsAg ra khỏi máu gồm:

Đối với tất cả các NAP và các oligonucleotit đối nghĩa đã phosphorothioat hóa gây ra sự thoái biến HBV hoặc mARN apoH, việc áp dụng thường xuyên việc cung cấp ngoài đường tiêu hóa hàng tuần 100-500mg hợp chất đã được thiết lập trong lĩnh vực kỹ thuật này để đạt được mức độ hoạt tính trị liệu của các hợp chất này trong gan như được mô tả cho các NAP trong các ví dụ ở dưới và cho ON đối nghĩa đã phosphorothioat hóa gây ra sự thoái biến của mARN đặc thù cho gan (đối với apolipoproteins B100) trong ấn phẩm: Akdim et al. 2010 Journal of the American College of Cardiology 55: 1611-1618).

Để đạt được mức độ trị liệu hoạt tính trong gan, các siARN thường được bao nang và được cho dùng liều cho một áp dụng cụ thể làm thoái biến mARN đối với PCSK9 trong gan của người bệnh như được mô tả trong:

http://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&ved=0CDgQFjAB&url=http%3A%2F%2Fwww.alnylam.com%2Fcapella%2Fwp-content%2Fuploads%2F2012%2F01%2FALNY-PCS-Phi-PrelimResutls-Jan2012.pdf&ei=ii6UUZnBLZbe4AO8roHoBA&usg=AFQjCNGiN3K7_fVEcY-_2F91nDuepwraZA&sig2=3ZAZvGQOJXQ1xU4W--Rb5w&bvm=bv.46471029,d.dmg&cad=rja

Như được mô tả ở trên, các siARN đã được bao nang có thể đạt được hiệu quả điều trị trong gan của người bệnh với các liều dùng ngoài đường tiêu hóa nằm trong khoảng 0,015 - 0,20mg/kg và được dự kiến là có thể cung cấp một tác dụng kéo dài với việc dùng liều hai tuần một lần hoặc một tháng một lần.

shARN chưa từng được áp dụng trên người nhưng được áp dụng *in vivo* trên các loài gặm nhấm đã cho thấy rằng các vật truyền biểu hiện được thiết kế để biểu hiện shARN, khi được áp dụng trên chuột nhắt với các nồng độ tương đương như siARN, có thể có hiệu quả tương đương như siARN (Mcanuff et al. 2007. Journal of Pharmaceutical Science 96: 2922-2930). Do đó, điều được mong đợi là việc cho dùng liều shARN, nhờ sử dụng các hệ phân phối bao nang hoặc là trên cơ sở virus như được mô tả ở trên, có thể đạt được hiệu quả tương đương trong gan với các phác đồ dùng liều tương đương với các phác đồ được sử dụng cho siARN.

Các aptamer thường được pegyl hóa để cải thiện độ ổn định và có thể có hiệu quả trị liệu với các liều dùng hàng tuần ngoài đường tiêu hóa 100-600mg/kg như được mô tả trong ấn phẩm: Waters et al. 2011 Blood 117: 5514-5522.

Các speiglemer cũng thường được pegyl hóa để cải thiện chu kỳ bán hủy tuần hoàn và có thể có hiệu quả trị liệu với các liều dùng ngoài đường tiêu hóa > 1,2mg/kg được dùng mỗi ngày như được mô tả trong ấn phẩm: Riecke et al. 2012 Abstract 2432 presented at the 54th Annual ASH Meeting and Exposition, Atlanta, GA, U.S.A. Trong phạm vi gắn kết và thúc đẩy sự loại bỏ HBsAg hoặc các protein

HBV ra khỏi máu của bệnh nhân bị nhiễm HBV, các liều dùng cao hơn của cả aptamer lẫn Speiglemer có thể là cần thiết do các nồng độ cao của HBsAg thường xuất hiện trong các bệnh nhân nhiễm HBV.

Như được mô tả ở trên, giải pháp tiếp cận trị liệu miễn dịch để điều trị bệnh nhiễm HBV cho hiệu quả hạn chế. Một trong các hạn chế của việc đơn trị liệu trên cơ sở interferon là chỉ đạt được sự loại bỏ HBsAg ra khỏi máu ở một phần rất nhỏ các bệnh nhân (Moucari et al., 2009, *Antiviral Ther.*, 14: 1183-1188; Reijnders et al., 2011, *J. Hepatol.*, 54: 449-454). Việc loại bỏ HBsAg này có thể làm cơ sở cho việc đạt được sự kiểm soát bền lâu ADN HBV và ngừng điều trị trong một phần rất nhỏ của các bệnh nhân được điều trị (Moucari et al., 2009, *Hepatology*, 49: 1151-1157). Một hạn chế đáng kể khác của trị liệu trên cơ sở interferon đó là nó chỉ gây ra một mức độ vừa phải ($<50\text{mIU/ml}$) sự sản xuất kháng HBs ở một tỷ lệ rất nhỏ các bệnh nhân đang được điều trị (Reijnders et al., 2011, *J. Hepatol.*, 54: 449-454; Harayiannis et al., 1990, *J. Hepatol.*, 10: 350-352) sau 48 tuần áp dụng. Các hạn chế đáng kể này có thể là những yếu tố quan trọng làm cơ sở để đạt được đáp ứng virus kéo dài chỉ ở một số giới hạn các bệnh nhân sau khi trị liệu miễn dịch.

Như được mô tả ở trên, HBsAg có thể phong bế các đường truyền tín hiệu quan trọng cho sự kích thích chức năng miễn dịch thông qua trung gian cytokin. Điều đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này là nhiều nhóm tác nhân trị liệu miễn dịch khác nhau sử dụng một vài đường truyền tín hiệu thông thường để tác động sự hoạt hóa miễn dịch. Phần mô tả theo sáng chế còn cho thấy rằng nhiều (hoặc hầu hết) các đường truyền tín hiệu này sử dụng các tác nhân trị liệu miễn dịch có thể cũng được phong bế bởi tác động của HBsAg. Phần mô tả của sáng chế cho thấy hiệu quả của các phương pháp trị liệu miễn dịch khác nhau đặc biệt bị ức chế bởi sự có mặt của HBsAg và các hiệu quả điều trị của các phương pháp trị liệu miễn dịch khác nhau, khi được cung cấp trong một phác đồ điều trị, được cải thiện hiệp đồng mà không cần có mặt HBsAg. Do đó, việc loại bỏ HBsAg ra khỏi máu có thể tiếp theo dẫn đến sự ức chế yếu hơn đối với các đường truyền tín hiệu cần thiết cho hoạt tính tối ưu của nhiều tác nhân trị liệu miễn dịch khác nhau. Do vậy, việc

áp dụng trị liệu miễn dịch ở các bệnh nhân mà trước đó đã được loại bỏ HBsAg trong máu của họ hoặc ở các bệnh nhân đang được điều trị tấn công để loại bỏ HBsAg trong máu trong quá trình trị liệu miễn dịch thường là có thể sẽ có tác động hiệp đồng tương đương về hiệu quả kích thích miễn dịch của trị liệu miễn dịch bất kỳ.

Trong phần mô tả, thuật ngữ “tác nhân trị liệu miễn dịch” dùng để chỉ một phân tử nhỏ hoặc polypeptit hoặc xytokin hoặc hormon mà nhờ hoạt tính sinh hóa đặc thù của nó có khả năng trực tiếp hoặc gián tiếp tăng cường chức năng miễn dịch của vật chủ. Polypeptit này có thể có nguồn gốc tự nhiên hoặc tái tổ hợp. Polypeptit này có thể có nguồn gốc tái tổ hợp từ một phần của polypeptit có trong tự nhiên. Polypeptit này có thể được pegyl hóa hoặc không.

Các phương pháp để pegyl hóa các polypeptit và tính tương hợp của quá trình pegyl hóa với hoạt tính sinh hóa của các polypeptit này là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và gồm việc liên kết các dải polyetylglycol (PEG) với polypeptit được đề cập tại các gốc axit amin cụ thể. Chức năng chính của quá trình pegyl hóa là để làm tăng tuổi thọ tuần hoàn sau khi trộn polypeptit và còn làm giảm tính miễn dịch của nó. Các dấu hiệu này cải thiện khả năng dung nạp của polypeptit được đề cập và làm giảm tần suất dùng liều để cho tác dụng trị liệu tối ưu. Điều cũng đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này là việc gắn các gốc PEG vào polypeptit có thể đạt được mà không ảnh hưởng tới hoạt tính sinh hóa đặc biệt của polypeptit được đề cập. Quá trình pegyl hóa cũng đã biết để làm tăng độ tan trong nước của polypeptit được đề cập, cải thiện khả năng dễ điều chế nó. Các ví dụ về các polypeptit đã pegyl hóa là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và bao gồm: Mircera™ là một dạng đã pegyl hóa của erythropoietin; Neulasta™, là một dạng đã pegyl hóa của yếu tố kích thích khuẩn lạc tế bào hạt của người; Pegasys™ là một dạng đã pegyl hóa của interferon α -2a của người; Peg-intron™, là một dạng đã pegyl hóa của interferon α -2b của người; và interferon λ 1 đã pegyl hóa (hiện đang được phát triển lâm sàng).

Ngoài ra, các tác nhân trị liệu miễn dịch trước đó chưa từng được chỉ ra là có hoạt tính trị liệu miễn dịch hữu ích với sự có mặt của các protein HBV (ví dụ, ở

các bệnh nhân bị nhiễm bệnh, tinh tinh hoặc các mô hình tế bào) hiện thời đã được chứng minh là có thể có hoạt tính trị liệu hữu ích cùng với việc loại bỏ HBsAg ra khỏi máu và có thể cũng hữu ích để điều trị HBV kết hợp với tác nhân bất kỳ để loại bỏ HBsAg ra khỏi máu.

Việc chứng minh hoạt tính kháng virus của tác nhân trị liệu miễn dịch bất kỳ nói chung được chấp nhận như một sự đánh giá gián tiếp về khả năng của nó để kích thích chức năng miễn dịch khiến cho chức năng miễn dịch đã được thích này có tác dụng kháng virus. Do đó, tác nhân trị liệu miễn dịch bất kỳ có hoạt tính kháng virus có khả năng kích thích chức năng miễn dịch.

Một vài tác nhân trị liệu miễn dịch hiện đã được phê chuẩn cho việc điều trị các bệnh nhiễm virus bao gồm interferon α -2a đã pegyl hóa (Pegasys™) để điều trị viêm gan B (HCV) và viêm gan C (HCV)), interferon α -2b (Intron-A™) để điều trị HBV và HCV) và thymosin α 1 (Zadaxin™) để điều trị HBV ở hầu hết các nước châu Á. Cũng có các tác nhân trị liệu miễn dịch đã được chứng minh có hoạt tính kháng virus bao gồm các cytokin interferon λ 1, λ 2, λ 3 và γ và TNF α (Friborg et al., 2013, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57: 1312-1322; Lau et al. 1991, *Hepatology* 14: 975-979; McClary et al. 2000. *Journal of Virology* 74: 2255-2264; Robek et al. 2005. *Journal of Virology* 79: 3851-3854), interferon λ 1 đã pegyl hóa (Muir et al., 2010, *Hepatology*, 52: 822-832), và chất chủ vận thụ thể dạng Toll phân tử nhỏ như GS-9620 (hiện đang được phát triển bởi Gilead Sciences), ANA-773 (hiện đang được phát triển bởi Anadys) và các oligonucleotit kích thích miễn dịch IMO-2055 và IMO-2125 (hiện đang được phát triển bởi Idera Pharmaceuticals) (Wu et al., 2007, *Hepatology*, 46: 1769-1778; Horscroft et al., 2012, *J. Antimicrob. Chemotherapy*, 67: 789-801; Lanford et al. 2013 *Gastroenterology* Feb 12 in press; www.natap.org/2010/AASLD/AASLD_39.htm). Ngoài ra, dehydroepiandrosteron (DHEA) (5-androsten-3 β -17-on, DHEA) và nhiều chất chuyển hóa của nó (bao gồm androstendiol (5-androsten-3 β -17b-diol, bAED), androstetriol (5-androsten-3 β -7 β -17 β triol bAET) có chức năng kích thích miễn dịch đã được chứng minh rõ ràng cùng với khả năng cải thiện sự phát triển đáp ứng vắc-xin bảo vệ kháng bệnh

nhiễm virus và tạo ra hoạt tính kháng virus cho nhiều bệnh nhiễm virus *in vivo* (Araeno et al., 1993, J. Inf. Dis., 167: 830-840; Danenberg et al., 1995, Vaccine, 13: 1445-1448; Khorram et al., 1997, J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci., 52: M1-M7; Loria and Padgett, 1998, Rinsho Byori, 46: 505-517; Loria, 2002, Steroids, 67: 953-966; Knoferl et al., 2003, J. Appl. Physiol., 95: 529-535; Oberbeck et al., 2007, Inten. Car Med., 33: 2207-2213; Burdnick et al., 2009, Int. Immunopharmacol., 9: 1342-1346; Hazeldine et al., 2010, J. Steroid Biochem. Mol. Biol., 120: 127-136; Schmitz et al., 2013, Med. Chem., Feb 15, Epub ahead of print).

Số đo về sự kích thích chức năng miễn dịch như được mô tả trong các phần mô tả hiện tại và trong phạm vi của bệnh nhiễm HBV được xác định một cách dễ dàng nhất bởi (nhưng không nhằm giới hạn) các biến đổi về các mức độ của các kháng thể kháng HBsAg tự do được sản xuất ở người bệnh tiếp nhận trị liệu miễn dịch. Việc sử dụng thử nghiệm Abbott Architect™ quantitative anti-HBsAg antibody là phương pháp đã được chấp nhận trên thế giới để đánh giá các mức độ của các kháng thể kháng HBsAg tự do trong huyết thanh của bệnh nhân mắc bệnh nhiễm HBV mạn tính và sự xuất hiện hoặc sự gia tăng sản xuất các kháng thể kháng HBsAg ở các bệnh nhân nhiễm HBV là một số đo thay thế đã được chấp nhận của đáp ứng miễn dịch ở các bệnh nhân tiếp nhận trị liệu miễn dịch hoặc trị liệu ức chế polymeraza HBV.

Có nhiều số đo chức năng miễn dịch đã được chấp nhận khác có thể được sử dụng để theo dõi sự cải thiện chức năng miễn dịch với sự có mặt của các điều trị kết hợp như được mô tả ở trên. Các số đo này có thể bao gồm các số gia về hoạt tính phiên mã của các gen đáp ứng interferon hoặc các số gia về các mức độ của các tế bào CD4+ hoặc CD8+ T đặc thù HBV trong máu hoặc các mức gia tăng của các cytokin khác nhau trong máu như IL2 (Liang et al. 2011. Virology Journal 8: 69).

Việc sử dụng phương pháp chủng ngừa HBV (thường là bằng cách sử dụng HBsAg làm kháng nguyên) là một phương pháp đã được thừa nhận để phòng ngừa một cách có hiệu quả sự nhiễm HBV và là phương pháp đã được thông qua trên

toàn thế giới để ngăn ngừa sự lây lan của sự nhiễm HBV. Tuy nhiên, phương pháp chủng vắc-xin kháng kháng nguyên HBV chỉ có tác dụng nằm ở mức không đáng kể tới vừa phải trong khung cảnh điều trị, ngay cả khi vắc-xin này kết hợp hai kháng nguyên HBV khác nhau như HBsAg và HBcAg (Mahtab et al. 2013. J. Hepatol. 58 (supp 1) abstract 760). Theo các mô tả của sáng chế, hiệu lực kém này có thể là do các mức độ tuần hoàn của HBsAg có mặt trong máu của các bệnh nhân này và do đó khả năng của một vắc-xin để kích thích sự sản xuất các kháng thể mới với HBsAg (hoặc các protein HBV khác) có thể được cải thiện nhiều cùng với việc loại bỏ HBsAg ra khỏi máu.

Do vậy, có nhiều tác nhân trị liệu miễn dịch đã biết là có khả năng kích thích chức năng miễn dịch có thể là hữu ích khi được cấp trước khi, trong khi hoặc sau khi loại bỏ HBsAg ra khỏi máu, các tác nhân trị liệu miễn dịch này bao gồm (mà không nhằm giới hạn):

Thymosin α 1;

α -interferon bất kỳ hoặc các dẫn xuất đã pegyl hóa của chúng;

β -interferon bất kỳ hoặc các dẫn xuất đã pegyl hóa của chúng;

γ -interferon bất kỳ hoặc các dẫn xuất đã pegyl hóa của chúng;

λ -interferon bất kỳ hoặc các dẫn xuất đã pegyl hóa của chúng;

Interferon α -2a hoặc α -2b hoặc α -N3;

Interferon β -1a hoặc β -1b;

Interferon γ -1b;

Interferon λ 1 hoặc λ 2 hoặc λ 3;

Interferon α -2a hoặc α -2b hoặc λ 1 hoặc λ 2 đã pegyl hóa;

Thymic protein A;

Xytokin kháng virus bất kỳ hoặc các dẫn xuất đã pegyl hóa của chúng;

Polypeptit bất kỳ thể hiện hoạt tính kháng virus hoặc hoạt tính kích thích miễn dịch;

Oligonucleotit kích thích miễn dịch như IMO-2125 và IMO-2055;

Vắc-xin nhằm đích kháng nguyên HBV bất kỳ;

Chất chủ vận thụ thể dạng Toll phana tử nhỏ như GS-9620, và ANA-773; và

Hocmon bất kỳ có hoạt tính kháng virus hoặc hoạt tính kích thích miễn dịch như DHEA hoặc các chất chuyển hóa của nó.

Phác đồ dùng liệu hiệu quả được lấy làm ví dụ của các tác nhân trị liệu miễn dịch được sử dụng để đạt được sự kích thích chức năng miễn dịch có thể bao gồm:

Các liệu dùng hàng tuần 90-180ug trong trường hợp Pegasys™ (theo chỉ dẫn dùng thuốc);

Các liệu dùng hàng tuần 1,6mg trong trường hợp Zadaxin™ (theo chỉ dẫn dùng thuốc);

Các liệu dùng hàng tuần 1×10^7 U trong trường hợp Intron-A™ (theo chỉ dẫn dùng thuốc);

Các liệu dùng hàng tuần 1,5-3,0 ug/kg trong trường hợp interferon $\lambda 1$ đã pegyl hóa như được mô tả trong ấn phẩm: Muir et al., 2010, Hepatology, 52: 822-832;

Các liệu dùng hàng tuần tương tự như được mô tả ở trên cho xytokin bất kỳ hoặc peptit trị liệu miễn dịch khác đã được pegyl hóa hoặc chưa được pegyl hóa;

Các liệu dùng hàng tuần 0,16 - 0,48mg/kg/tuần đối với oligonucleotit kích thích miễn dịch không CpG IMO-2125 như được mô tả trong:

[http://www.google.com/url,sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=4&ved=0CEsQFjAD&url=http%3A%2F%2Fwww.iderapharma.com%2Fdevelopment%2FIMO-2125-AASLD-](http://www.google.com/url,sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=4&ved=0CEsQFjAD&url=http%3A%2F%2Fwww.iderapharma.com%2Fdevelopment%2FIMO-2125-AASLD-10312010.pdf&ei=WTiUUfnxHdWp4AO9vYGoBw&usg=AFQjCNENcwjLWM1B2r8Gf0JmWPRaeh-Xbw&sig2=kyENERyNTYmQoADWGoPluQ&bvm=bv.46471029,d.dmg&cad=rja)

[10312010.pdf&ei=WTiUUfnxHdWp4AO9vYGoBw&usg=AFQjCNENcwjLWM1B2r8Gf0JmWPRaeh-](http://www.google.com/url,sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=4&ved=0CEsQFjAD&url=http%3A%2F%2Fwww.iderapharma.com%2Fdevelopment%2FIMO-2125-AASLD-10312010.pdf&ei=WTiUUfnxHdWp4AO9vYGoBw&usg=AFQjCNENcwjLWM1B2r8Gf0JmWPRaeh-Xbw&sig2=kyENERyNTYmQoADWGoPluQ&bvm=bv.46471029,d.dmg&cad=rja)

[Xbw&sig2=kyENERyNTYmQoADWGoPluQ&bvm=bv.46471029,d.dmg&cad=rja](http://www.google.com/url,sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=4&ved=0CEsQFjAD&url=http%3A%2F%2Fwww.iderapharma.com%2Fdevelopment%2FIMO-2125-AASLD-10312010.pdf&ei=WTiUUfnxHdWp4AO9vYGoBw&usg=AFQjCNENcwjLWM1B2r8Gf0JmWPRaeh-Xbw&sig2=kyENERyNTYmQoADWGoPluQ&bvm=bv.46471029,d.dmg&cad=rja)

Các liệu dùng vắc-xin bị hạn chế thông thường theo các quy định trong lĩnh vực kỹ thuật này và đặc biệt là đối với các vắc-xin HBV Energix-B™, Recombivax-HB™.

Do đó, theo các mô tả được trình bày ở đây, bất kỳ trong số các phương pháp được đề cập ở trên hoặc các tác nhân có khả năng tạo ra sự loại bỏ HBsAg trong máu của bệnh nhân khi được kết hợp sự kích thích chức năng miễn dịch của vật

chủ bởi bất kỳ trong số các tác nhân trị liệu miễn dịch đã nêu trên sẽ có thể được mong đợi để tạo ra tác dụng hiệp đồng về sự phục hồi chức năng miễn dịch ở các bệnh nhân bị nhiễm HBV hoặc đồng nhiễm HBV/HDV. Ngoài việc đạt được sự phục hồi chức năng miễn dịch tốt hơn có thể duy trì được sự kiểm soát điều trị hết nhiễm trùng, thì sự hiệp đồng như vậy cũng có thể được mong đợi để làm giảm liều lượng của một hoặc cả hai tác nhân và thậm chí là trong thời gian bằng một trong hai tác nhân này được đòi hỏi để thiết lập một đáp ứng miễn dịch có hiệu quả trị liệu ở phần lớn các bệnh nhân. Ví dụ III minh họa tác dụng hiệp đồng tới sự phục hồi miễn dịch khi loại bỏ HBsAg bằng NAP REP 2139 trước khi được trị liệu bổ sung bằng thymosin α 1 hoặc là bằng interferon α -2a đã pegyl hóa.

Trong phạm vi kết hợp một tác nhân có thể loại bỏ HBsAg ra khỏi máu với một tác nhân trị liệu miễn dịch, lượng HBsAg bất kỳ được loại bỏ có thể tạo ra sự cải thiện hiệp đồng về hoạt tính của một trị liệu miễn dịch và liều lượng riêng phần của một tác nhân trị liệu miễn dịch có thể tạo ra hoạt tính kích thích miễn dịch của tác nhân trị liệu miễn dịch tương đương hoặc thậm chí là hơn hẳn, ngay cả khi HBsAg không được loại bỏ một cách hoàn toàn. Do vậy, việc kết hợp tác nhân bất kỳ dẫn tới sự loại bỏ HBsAg ra khỏi máu với tác nhân trị liệu miễn dịch bất kỳ sẽ có tác dụng hiệp đồng cho tác động của cả hai tác nhân có khả năng cải thiện tính bền lâu của đáp ứng kháng virus (sự kiểm soát miễn dịch của vật chủ) sau điều trị và cũng có thể đòi hỏi việc giảm liều lượng của cả hai tác nhân để đạt được hiệu quả tương đương hoặc thậm chí là hơn hẳn so với khi được sử dụng trong đơn trị liệu.

Do đó, theo sáng chế, có thể hữu ích nếu điều trị đối tượng bị nhiễm HBV hoặc đồng nhiễm HBV/HDV bằng tác nhân được dụng dẫn đến việc làm giảm hoặc thanh lọc HBsAg ra khỏi máu kết hợp với tác nhân trị liệu miễn dịch được dụng thứ hai.

Cũng có thể hữu ích nếu áp dụng đồng thời hoặc ở các thời điểm khác nhau cả hai tác nhân được dụng trong cùng một dược phẩm hoặc áp dụng cả hai tác nhân được dụng trong các dược phẩm tách biệt.

Cũng có thể hữu ích nếu áp dụng các tác nhân được dùng theo cùng một đường dùng thuốc hoặc theo các đường dùng thuốc khác nhau.

Để tạo ra đáp ứng kháng virus tốt nhất có thể, có thể cần phải bổ sung vào các hỗn hợp trị liệu nêu trên chất ức chế polymeraza HBV như (nhưng không chỉ giới hạn ở): tenofovir disoproxil fumarat, entecavir, telbivudin, adefovir dipivoxil hoặc lamivudin. Các thuốc kháng virus như vậy có thể ngăn ngừa sự sao chép của hệ gen virus sợi kép trong HBV và hạ thấp nồng độ của virus HBV trong máu.

Các chế phẩm theo sáng chế có thể được cấp theo cách thức bất kỳ, ví dụ, qua đường miệng, như dưới dạng hỗn dịch lỏng, viên nén, viên nang, hạt hoặc bột; đặt dưới lưỡi; đặt trong má; ngoài đường tiêu hóa, như dưới da, tĩnh mạch, trong cơ, tiêm trong vó hoặc truyền tĩnh mạch (ví dụ dưới dạng hỗn dịch hoặc dung dịch nước hoặc không nước tiêm vô trùng); qua đường mũi; khu trú, như dưới dạng kem hoặc thuốc mỡ; hoặc qua đường trực tràng như dưới dạng các thuốc đạn hoặc thuốc thụt; trong các chế phẩm dạng đơn vị liều lượng chứa các chất dẫn thuốc hoặc chất pha loãng được dùng, không độc. Dược phẩm theo sáng chế có thể, ví dụ, được cấp ở dạng thích hợp để giải phóng vừa phải hoặc giải phóng kéo dài. Sự giải phóng vừa phải hoặc sự giải phóng kéo dài có thể đạt được bằng cách sử dụng các dược phẩm thích hợp, hoặc, cụ thể là trong trường hợp giải phóng kéo dài, bằng cách sử dụng các dụng cụ như các vật cấy ghép dưới da hoặc các bơm thẩm lọc. Do vậy, các dược phẩm nêu trên có thể được làm thích ứng để cung cấp theo bất kỳ trong số các đường sau: trong mắt, tiêu hóa qua đường miệng, tan trong ruột, ngửi, dưới da tiêm, tiêm trong cơ, tiêm trong màng bụng (IP), tiêm trong vó hoặc tiêm truyền, trong khí quản, tiêm tĩnh mạch hoặc tiêm truyền, hoặc khu trú.

Sáng chế sẽ được hiểu rõ hơn thông qua các ví dụ ở dưới.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ I

NAP ức chế sự vận chuyển HBsAg ra khỏi các tế bào

HBsAg đã được chỉ ra là phong bế nhiều khía cạnh của đáp ứng miễn dịch đối với bệnh nhiễm HBV (Cheng et al., 2005, J. Hepatology, 43: 465-471;

Moucari et al., Hepatology 49: 1151-1157; Vanlandschoot et al., 2002, J. Gen. Virol. 83: 1281-1289; Woltman et al., 2011, PloS One 6: e15324; Wu et al., 2009, Hepatology 49: 1132-1140 và Xu et al., 2009, Mol. Immunology 46: 2640-2646). Do đó, việc loại bỏ HBsAg tuần hoàn có thể là một yếu tố quan trọng để cho phép sự phục hồi khả năng miễn dịch ở các bệnh nhân bị nhiễm virus viêm gan B mãn tính. Một phương pháp hiệu quả để loại trừ HBsAg trong vòng tuần hoàn là ngăn ngừa sự hình thành và hoặc giải phóng của các hạt dưới virus (SVPs) từ các tế bào bị nhiễm bệnh (các SVP là chất mang chủ yếu HBsAg vào máu). Hình thái học và sự vận chuyển nội bào của các SVP có thể được mô hình hóa *in vitro* trong các tế bào BHK-21 bởi việc biểu hiện dạng nhỏ của protein HBsAg (sHBsAg) nó là dạng đã làm giàu đặc thù trong các SVP. Hệ mô hình này được xem là một mô hình thay thế cho hình thái học và sự vận chuyển của các SVP HBV (Patient et al., 2007, J. Virology 81: 3842-3851). Do vai trò quan trọng của HBsAg huyết thanh trong việc tạo tính mạn tính của bệnh nhiễm HBV, nên hiệu quả của các hợp chất trong mô hình cho phép thể hiện hoạt tính kháng virus của chúng đối với HBV.

Các hợp chất NAP khác nhau được thử nghiệm trên các tế bào BHK-21 biểu hiện sHBsAg bao gồm các NAS đã phosphorothioat hóa thoái biến hoàn toàn REP 2006 và REP 2107, NAP thoái biến đã 2' O metyl hóa hoàn toàn không được phosphorothioat hóa NAP (REP 2086) cũng như các NAP bao gồm trình tự poly AC: REP 2055 (SEQ ID NO: 2) và REP 2148 (SEQ ID NO: 3). Các NAP này được đưa vào các tế bào BHK-21 đồng thời làm khuôn mẫu ARN cho sự biểu hiện sHBsAg bằng cách sử dụng xung điện. Hoạt tính trong hệ mô hình BHK được đánh giá bằng cách quan sát vị trí của protein HBsAg bên trong các tế bào BHK-21 bằng kính hiển vi phát huỳnh quang miễn dịch. Sự hình thành của các SVP trong khoảng trống quang nhân được quan sát bằng kính hiển vi điện tử truyền qua. Các hợp chất được đánh giá là có hoạt tính nếu HBsAg chỉ giới hạn ở khoảng trống quanh nhân và ngăn cản sự vận chuyển tới ngoại vi tế bào (tiết) hoặc nếu như sự hình thành của các SVP đã được ngăn ngừa. Hoạt tính của các hợp chất NAP khác nhau được tóm tắt trong Bảng 2 dưới đây.

Bảng 2

Ảnh hưởng của các NAP khác nhau tới sự vận chuyển HBsAg trong các tế bào

BHK-21

NAP	HBsAg được giữ lại trong khoảng trống quanh nhân	HBsAg vận chuyển tới ngoại vi tế bào	Sự hình thành SVP
đối chứng (không có mặt NAP)	-	++++	++++
REP 2006	++++	-	-
REP 2107	+++	+	-
REP 2086	-	++++	++++
REP 2055 (SEQ ID NO: 2)	++++	-	không đánh giá
REP 2148 (SEQ ID NO: 3)	++++	-	không đánh giá

- = ảnh hưởng không được quan sát

+ to ++++ = ảnh hưởng từ biên tới hoàn toàn được quan sát

Các kết quả của việc xử lý các tế bào BHK-21 biểu hiện sHBsAg bằng REP 2006 và REP 2107 đã chứng tỏ khả năng của các NAP để phong bế sự hình thành của các SVP và sự vận chuyển sHBsAg theo kiểu hình không phụ thuộc trình tự. Việc không có hoạt tính với REP 2086 chứng tỏ rằng các hoạt độ của các NAP hoàn toàn phụ thuộc vào sự có mặt của quá trình phosphorothioat hóa. Ngoài ra, khả năng này được lưu giữ khi có mặt của cải biến 2' riboza (trong REP 2107) và cải biến bazơ (5'methylxytosin trong trường hợp REP 2148). Ngoài ra, REP 2107, REP 2055 đã biết là hoàn toàn không có hoạt tính kích thích miễn dịch bất kỳ và có hoạt tính tương đương với REP 2006. Ngoài ra, trình tự đã được xác định của poly AC (REP 2055 và REP 2148) là có hoạt tính tương đương với trình tự thoái biến (REP 2006 và REP 2107).

Những kết quả này cho thấy rằng liên quan tới trình tự thoái biến và các trình tự chứa các đoạn lặp của các nucleotit purin/pyrimidin xen kẽ như AC (và cả CA) và cũng như TG và GT hoặc UG và GU và tùy ý bao gồm các cải biến 2' riboza và/hoặc các cải biến bazơ, các NAP sẽ được mong đợi là sẽ có thể phong bế sự hình thành và sự vận chuyển nội bào và sự tiết của các SVP từ các tế bào bị nhiễm bệnh với chiều dài oligonucleotit nằm trong khoảng 20-120 nucleotit tùy

thuộc vào các đặc tính không phụ thuộc trình tự của các NAP như được mô tả trong các patent Mỹ số 8,008,269B2, 8,008,270B2 và 8,067,385B2.

Ví dụ II

Ảnh hưởng của việc làm sạch HBsAg ra khỏi máu của các bệnh nhân bị nhiễm HBV tới việc loại bỏ các protein HBV khác và sự phục hồi miễn dịch

Các bệnh nhân bị nhiễm HBV mạn tính được điều trị bằng NAP REP 2055 (còn được gọi là REP 9AC, SEQ ID NO: 2) để loại bỏ HBsAg ra khỏi máu của chúng. Mức độ ảnh hưởng của việc cung cấp REP 2055 (thường là cho dung liều hàng tuần 400mg) tới các mức độ HBsAg trong máu được kiểm tra bằng cách áp dụng thử nghiệm Abbott Architect™ quantitative HBsAg và được trình bày trong Bảng 3.

Bảng 3

Ảnh hưởng của việc điều trị bằng NAP REP 2055 tới mức trong máu của HBsAg ở các bệnh nhân bị nhiễm HBV mạn tính

Người bệnh	HBsAg trước điều trị (IU/ml)	HBsAg kết thúc điều trị (IU/ml)
1	934	0,14
2	1885,4	0,38
3	384,1	0,00
4	126465,07	0,03
5	158180	0,00
6	36996	7,00
7	4672,5	43,7

Việc loại bỏ HBsAg ra khỏi máu đã gây ra sự phục hồi miễn dịch như đã được chứng minh bởi việc làm giảm thêm lượng HBeAg tuần hoàn (được đo trên hai bệnh nhân bởi thử nghiệm Abbott Architect™ quantitative HBeAg - xem Bảng 4), sự xuất hiện của các kháng thể kháng HBsAg tự do (khi được đo bằng thử nghiệm định lượng Abbott Architect™ - xem Bảng 5) và sự giảm virus HBV

trong máu (ADN HBV khi được đo bằng thử nghiệm định lượng Roche Cobas™ - xem Bảng 6). Mặc dù sự giảm lượng virus HBV tuần hoàn là quan sát được ở tất cả các bệnh nhân, song chúng ở các mức độ khác nhau. Ngoài ra, các mức độ chuẩn kháng thể kháng HBsAg tự do phát hiện được khi điều trị ở phần lớn các bệnh nhân là ở mức trung bình khá và trong hầu hết các trường hợp là thấp hơn độ chuẩn kháng thể kháng HBsAg trong máu quan sát được với phương pháp tiêm chủng HBsAg cho người trưởng thành khỏe mạnh không bị nhiễm bệnh.

Bảng 4

Ảnh của sự làm sạch HBsAg tới sự làm sạch HBeAg

Người bệnh	HBeAg trước điều trị (IU /mL*)	HBeAg sau điều trị (IU /mL*)
1	1181,29	7,63
2	78,25	8,211

*được đo bằng cách áp dụng thử nghiệm định lượng Abbott Architect™

Bảng 5

Ảnh hưởng của sự làm sạch HBsAg tới sự phát hiện kháng thể kháng HBsAg tự do ở các bệnh nhân bị nhiễm HBV mạn tính.

Người bệnh	kháng HBsAg trước điều trị* (mIU/ml)	kháng HBsAg sau điều trị* (mIU/ml)
1	0	13,2
2	1	22,8
3	5,68	277
4	3	5,39
5	4,99	385,7
6	1	19,7
7	2	19,2

*được đo bằng cách áp dụng thử nghiệm định lượng Abbott Architect™

Bảng 6

Ảnh hưởng của sự làm sạch HBsAg tới mức độ trong máu của virus HBV (ADN HBV)

Người bệnh	ADN HBV trước điều trị* (bản sao/mL huyết thanh)	ADN HBV sau điều trị * (bản sao/mL huyết thanh)
1	2×10^6	<500
2	$1,4 \times 10^7$	$1,39 \times 10^4$
3	$4,5 \times 10^7$	<116
4	$1,9 \times 10^{12}$	$3,1 \times 10^6$
5	$7,9 \times 10^{11}$	<116
6	$4,8 \times 10^{11}$	372
7	$1,8 \times 10^7$	$3,5 \times 10^6$

*được đo bằng cách áp dụng thử nghiệm Roche Cobas™

Việc loại bỏ của điều trị bằng REP 2055 cho các bệnh nhân này đã dẫn tới sự phục hồi lâu dài trong máu ở 5/7 bệnh nhân đã được làm sạch các protein HBV huyết thanh (tái xuất hiện HBsAg trong máu, làm giảm hoặc thấy xuất hiện các kháng thể kháng HBsAg trong máu và làm tăng ADN HBV tới các mức trước khi điều trị). Do vậy, việc điều trị bằng các NAP, hoặc tác nhân bất kỳ khác dẫn tới sự loại bỏ HBsAg (và các kháng nguyên HBV khác) ra khỏi máu, sẽ được dự kiến để có được sự phục hồi tương đương về hoạt tính virus khi việc điều trị dừng lại mà không cần có mặt của phép trị liệu miễn dịch đồng phát bất kỳ.

Ví dụ III

Sự kết hợp trị liệu bằng phức chất chelat NAP và hai trị liệu miễn dịch khác nhau để điều trị bệnh viêm gan B mạn tính ở người bệnh

REP 2139-Ca là phức chất canxi chelat của NAP REP 2139 (SEQ ID NO: 10) được điều chế trong nước muối thường bằng cách sử dụng tỷ lệ 30mg CaCl_2 cho mỗi 100mg oligonucleotit có mặt. Chế phẩm REP 2139 dưới dạng phức chất canxi chelat được sử dụng để cải thiện khả năng dung nạp sự cung cấp ON (xem Công bố đơn Quốc tế No. WO2012/021985 và Công bố đơn patent Mỹ No.

2012/0046348), và không ảnh hưởng tới hoạt tính kháng virus đặc thù của nó. REP 2139-Ca (thường được cấp với các liều dùng hàng tuần 500mg) làm sạch HBsAg ra khỏi máu (và sau đó là HBeAg) và các virion HBV (ADN HBV) ở các bệnh nhân bị nhiễm HBV theo cách thức tương tự như REP 2055 thông qua cơ chế tác động tương tự (xem các Bảng 3, 4 và 6 so với các Bảng 7, 8 và 9 một cách tương ứng) và do đó cũng chứng tỏ rằng các NAP chứa cả cải biến 2' ribozơ lẫn bazơ đã cải biến (ví dụ, REP 2139) có thể có tác động làm giảm lượng HBsAg trong máu và các ON được điều chế dưới dạng các phức chất chelat (ví dụ, REP 2139-Ca) có thể sử dụng được để làm giảm hoặc làm sạch HBsAg ra khỏi máu.

Bảng 7

Ảnh hưởng của việc đơn trị liệu bằng REP 2139-Ca tới lượng HBsAg huyết thanh ở các bệnh nhân viêm gan B mạn tính.

Người bệnh	HBsAg huyết thanh (mIU/ml)*	
	Trước điều trị	REP 2139-Ca
1	70050	0,19
2	13400	0
3	3654,3	0,34
4	47689,7	180,44
5	107659	32,15
6	58937,87	9,91
7	17988	29,21
8	125000	0,01
9	1288,56	0,02

*được đo bằng cách áp dụng thử nghiệm HBsAg định lượng Abbott Architect™

Bảng 8

Ảnh hưởng của sự làm sạch HBsAg do REP 2139-Ca gây ra tới các mức HBeAg huyết thanh

Người bệnh	HBeAg huyết thanh (chỉ số*)	
	Trước điều trị	REP 2139-Ca
1	1,488	0,38
2	556,27	0,34
3	662,09	1,62
4	1100,43	0,31
5	1815,75	1,11
6	561,96	0,32
7	15,27	18,27
8	1767,85	0,40
9	101,73	19,35

* <1 = không phát hiện được, =1 = tình trạng nhiễm bệnh nặng

Bảng 9

Ảnh hưởng của đơn trị liệu bằng REP 2139-Ca tới ADN HBV huyết thanh (các virion) ở các bệnh nhân viêm gan B mạn tính.

Người bệnh	HBV huyết thanh (bản sao/ml)*	
	Trước điều trị	REP 2139-Ca
1	$9,89 \times 10^{8**}$	791
2	$1,66 \times 10^8$	1680
3	$2,01 \times 10^8$	3643
4	$1,28 \times 10^8$	9060
5	$9,89 \times 10^8$	$2,52 \times 10^6$
6	$8,71 \times 10^8$	558
7	$7,1 \times 10^5$	$1,94 \times 10^4$
8	$9,89 \times 10^8$	552

9	$9,9 \times 10^6$	3250
---	-------------------	------

*được đo bằng cách áp dụng thử nghiệm Roche Cobas™

**giới hạn định lượng trên

Như được mô tả trong Ví dụ II, hạn chế của phép trị liệu NAP (hoặc trị liệu bất kỳ có thể làm sạch HBsAg) đó là mặc dù các mức độ hiện tại sản xuất các kháng HB của người bệnh đã được “giải thoát” để làm sạch virus trong quá trình trị liệu NAP, song mức độ sản xuất kháng thể này (và loại bỏ sự ức chế miễn dịch do HBsAg gây ra) ở hầu hết các bệnh nhân là không đủ để tạo ra sự kiểm soát hoàn toàn bệnh nhiễm HBV sau khi ngừng điều trị bằng NAP. Sự làm sạch ra khỏi máu thông qua trung gian REP 2139 sẽ tạo ra các mức kháng thể kháng HBsAg trong máu nói chung là tương đương như REP 2055 khi được áp dụng trong đơn trị liệu (xem các Bảng 5 và 10 [kết thúc đơn trị liệu]) và nhờ đó sẽ có thể chúc chắn dự kiến được kết quả về sự phục hồi kiểm soát miễn dịch sau khi dừng điều trị kém như trường hợp đối với NAP REP 2055 (xem Ví dụ II ở trên). Các kết quả của các NAP được sử dụng trong các đơn trị liệu có thể nhận diện một hạn chế cơ bản (và trước đây chưa được ghi nhận) về khả năng của hệ miễn dịch trong việc phục hồi đáp ứng miễn dịch hoàn toàn đầy đủ với bệnh nhiễm HBV ngay cả khi không có mặt các protein HBV này, có thể là do sự phơi mẫn tính với HBsAg, HBeAg và HBcAg gây ra tổn thương hệ miễn dịch dài lâu tồn tại ở các đối tượng bị nhiễm HBV ngay cả sau khi các kháng nguyên này đã được làm sạch ra khỏi máu.

Nhằm mục đích kiểm khả năng có thể hiệp đồng của việc trị bằng NAP xử lý (loại bỏ HBsAg ra khỏi máu) với trị liệu miễn dịch (sự kích thích chức năng miễn dịch), các bệnh nhân đã được làm sạch hoặc làm giảm mức protein HBV huyết thanh của chúng trong đơn trị liệu bằng REP 2139-Ca đã được tiếp nhận thymosin $\alpha 1$ (Zadaxin™ - được đưa ra dưới dạng liều dùng 1,6mg tiêm dưới da hai lần mỗi tuần) hoặc interferon α -2a đã pegyl hóa (Pegasys™ - được đưa ra dưới dạng liều dùng 90 - 180mg tiêm dưới da một lần mỗi tuần) dưới dạng trị liệu bổ sung cho việc cung cấp REP 2139-Ca liên tục. Interferon α -2a đã pegyl hóa được bán dưới nhãn hiệu hàng hóa Pegasys™ bởi hãng Roche Inc. (Basel, Switzerland)

và được phê chuẩn cho việc điều trị bệnh nhiễm HBV mạn tính. Thymosin α được bán dưới nhãn hiệu hàng hóa ZadaxinTM bởi hãng SciClone Pharmaceuticals (Foster City, California, U.S.A.) và cũng đã được phê chuẩn cho việc điều trị bệnh nhiễm HBV mạn tính

Đơn trị liệu trên cơ sở interferon thường chỉ cho kết quả ở mức độ vừa phải ($<50\text{mIU/ml}$) của kháng thể kháng HBsAg trong máu ở một tỷ lệ rất nhỏ các bệnh nhân ($<10\%$) sau 48 tuần trị liệu (Reijnders et al., 2011, J. Hepatol., 54: 449-454; Harayiannis et al., 1990, J. Hepatol., 10: 350-352) và tác dụng kháng virus của thymosin $\alpha 1$ bị hạn chế một cách tương tự (Yang et al., 2008, Antiviral Res. 77: 136-141). Tuy nhiên, khi thymosin $\alpha 1$ hoặc interferon α -2a đã pegyl hóa được bổ sung vào quá trình điều trị bằng REP 2139-Ca sau khi việc loại bỏ HBsAg ra khỏi máu đã đạt được, sự gia tăng mạnh về mức kháng thể kháng HBsAg đã đạt được ở tất cả các bệnh nhân có mức kháng HBsAg lớn quá mức quan sát được với một mình sự làm sạch HBsAg thông qua trung gian HBS hoặc các dữ liệu đã công bố cho một mình trị liệu miễn dịch (xem Bảng 10). Ngoài ra, hiệu quả hiệp đồng rõ rệt về sự gia tăng của mức kháng thể kháng HBsAg đạt được chỉ với 13 tuần trị liệu miễn dịch kết hợp với REP 2139-Ca (được so sánh với phác đồ 48 tuần thường được quy định cho trị liệu miễn dịch) và cũng xuất hiện ở hai bệnh nhân dùng nửa liều lượng Pegasys (90ug) thường được quy định cho việc điều trị HBV. Ngoài ra, đáp ứng hiệp đồng này xuất hiện ở 9/9 (100%) bệnh nhân. Sự hoạt hóa lại mạnh mẽ sự sản xuất kháng HBsAg quan sát được với trị liệu miễn dịch bổ sung sau khi loại bỏ protein HBV ra khỏi máu chỉ là một số đo trực tiếp của việc tạo chức năng cải thiện hiệp đồng của trị liệu miễn dịch mà không cần có mặt HBsAg. Trên cơ sở các phát hiện này, có thể dự đoán được tính năng cải thiện hiệp đồng ở các khía cạnh còn lại của sự kích thích miễn dịch như tính miễn dịch thông qua trung gian tế bào T và tính miễn dịch bẩm sinh, chúng cũng có thể được yêu cầu để đạt được sự kiểm soát miễn dịch hoàn toàn cho bệnh nhiễm HBV.

Bảng 10

Tác dụng hiệp đồng tới sự sản xuất kháng HBsAg sau khi điều trị kết hợp với REP 2139-Ca và thymosin α 1 hoặc interferon α -2a đã pegyl hóa

Tác nhân trị liệu miễn dịch được đưa ra ở dạng kết hợp	Người bệnh	Kháng thể kháng HBsAg huyết thanh (mIU/ml)*	
		REP 2139-Ca (kết thúc đơn trị liệu)	REP 2139-Ca + trị liệu miễn dịch bổ sung**
Thymosin α 1	1	19,36	987,03
	2	365	1302
	3	44,64	1108
Interferon α -2a đã pegyl hóa	4***	5,36	381,57
	5***	2,12	288,85
	6	1,64	798,22
	7	19,69	223,29
	8	42,07	242,31
	9	42,61	499,05

*được đo bằng cách áp dụng thử nghiệm Abbott Architect™ quantitative anti-HBsAg ELISA

**13 tuần trị liệu miễn dịch liên tục (bổ sung) sau khi đạt được sự giảm HBsAg bằng đơn trị liệu REP 2139-Ca.

*** hai bệnh nhân này đã tiếp nhận 90ug Pegasys/tuần

Các kết quả được thể hiện trong Bảng 10 chứng tỏ rằng sự làm sạch HBsAg huyết thanh có tác dụng hiệp đồng mạnh mẽ về khả năng của thymosin α 1 hoặc interferon α -2a đã pegyl hóa kích thích chức năng miễn dịch chưa được ngờ tới trong lĩnh vực kỹ thuật này. Tất cả các bệnh nhân đạt được độ chuẩn rất cao của các kháng thể kháng HBsAg (và do vậy có thể sự kích thích miễn dịch tổng thể hiệu quả hơn rất nhiều) với một phác đồ trị liệu ngắn hơn nhiều so với phác đồ

được thường được đòi hỏi để đạt được độ chuẩn thậm chí là thấp hơn nhiều của các kháng thể kháng HBsAg trong máu khi được sử dụng trong đơn trị liệu và thậm chí là chỉ ở một phần nhỏ bệnh nhân. Trong Bảng 10, tất cả các bệnh nhân đã được làm sạch HBsAg huyết thanh đã đáp ứng mạnh mẽ với trị liệu miễn dịch. Trong nhiều trường hợp, sự gia tăng rõ rệt về sự sản xuất kháng HBsAg được phát hiện sau chỉ ngay 6-10 tuần trị liệu miễn dịch. Các tác dụng hiệp đồng này về sự kích thích miễn dịch của vật chủ đã dẫn tới sự kiểm soát điều trị khỏi nhiễm HBV ở 8/9 bệnh nhân và thể hiện rõ tác động hiệp đồng của việc tái thiết lập đáp ứng miễn dịch được chấp nhận ở hầu hết các bệnh nhân nhiễm HBV khi trị liệu miễn dịch được đưa ra mà không có mặt của HBsAg tuần hoàn.

Những kết quả này chứng tỏ rằng tác nhân được dùng bất kỳ có thể làm giảm hoặc làm sạch HBsAg ra khỏi máu, khi được dùng kết hợp với tác nhân trị liệu miễn dịch, sẽ có tác dụng hiệp đồng và có lợi cho sự kích thích chức năng miễn dịch (như, nhưng không chỉ giới hạn, ở sự sản xuất kháng thể kháng HBsAg) ở các bệnh nhân viêm gan B mạn tính. Ví dụ III cho thấy rõ ràng là việc loại bỏ HBsAg ra khỏi máu cải thiện một cách hiệp đồng khả năng trị liệu miễn dịch để gây ra một đáp ứng miễn dịch kháng virus mạnh mẽ có nguồn gốc từ vật chủ và cho thấy một cách rõ ràng là HBsAg tuần hoàn dai dẳng trong máu của các bệnh nhân chỉ tiếp nhận trị liệu miễn dịch có tác dụng ức chế mạnh mẽ đối với hoạt tính trị liệu miễn dịch và có thể là nguyên nhân về tính năng kém của các trị liệu miễn dịch đã được chấp nhận để đạt được sự kiểm soát miễn dịch cho bệnh nhiễm kéo dài sự điều trị khỏi nhiễm. Ví dụ III cũng cho thấy rõ ràng là các tác dụng hiệp đồng đối với sự phục hồi chức năng miễn dịch xuất hiện ở tất cả các bệnh nhân, tất cả đều đạt được mức độ kháng HBsAg trong máu nhanh hơn nhiều, và với các mức cao hơn nhiều so với mức quan sát được với một mình trị liệu miễn dịch và trong tất cả các trường hợp đều vượt quá các mức kháng thể kháng HBsAg thường thấy ở những cá thể đã được chủng ngừa HBsAg không bị nhiễm bệnh, khỏe mạnh. Các tác dụng này thậm chí có thể đạt được với các liều lượng thấp của trị liệu miễn dịch (Pegasys với liều dùng 90ug/tuần) đã biết là dưới mức tối ưu khi được sử dụng trong đơn trị liệu. Với một mình việc loại bỏ protein HBV, hoặc với

một mình trị liệu miễn dịch, các mức bảo vệ mạnh mẽ của các kháng thể kháng HBsAg là hiếm khi thấy được.

Việc loại bỏ HBsAg huyết thanh được thực hiện với các NAP được mô tả minh họa cho hiệu quả tốt nhất có thể đạt được với tác nhân khác bất kỳ được thiết kế để làm giảm hoặc làm sạch HBsAg (hoặc các kháng nguyên HBV khác) ra khỏi máu, không phụ thuộc vào cơ chế tác động của nó. Do đó, sự quan sát về tính hiệp đồng giữa sự loại bỏ HBsAg ra khỏi máu và sự kích thích chức năng miễn dịch quan sát được bằng cách sử dụng các NAP và các tác nhân trị liệu miễn dịch Pegasys™ và Zadaxin™ cho thấy rõ ràng đối với chuyên gia bất kỳ trong lĩnh vực kỹ thuật này là các tác dụng hiệp đồng như nhau cùng với trị liệu miễn dịch hiện thời có thể được tin chắc sẽ xảy ra cùng với việc sử dụng tác nhân bất kỳ có khả năng làm giảm hoặc làm sạch HBsAg ra khỏi máu, không phụ thuộc vào hóa học hoặc cơ chế tác động của. Do đó, sáng chế đưa ra vấn đề mới và rõ ràng là các tác dụng hiệp đồng tới sự kích thích miễn dịch ở các bệnh nhân bị nhiễm HBV cùng với các NAP được sử dụng kết hợp với Zadaxin™ hoặc Pegasys™ có thể được thực hiện với bệnh nhiễm HBV cùng với sự kết hợp của tác nhân hoặc phương pháp bất kỳ cho phép làm giảm hoặc làm sạch HBsAg ra khỏi máu và tác nhân thứ hai bất kỳ có khả năng kích thích chức năng miễn dịch. Các tác dụng hiệp đồng đã được chứng minh với REP 2139-Ca và thymosin α 1 hoặc interferon α -2a đã pegyl hóa cũng có thể được dự kiến sẽ xảy ra cùng với các sự kết hợp khác của các tác nhân như đã được đề cập trong Phần mô tả trong đó tác nhân thứ nhất sẽ cho phép làm giảm hoặc làm sạch HBsAg ra khỏi máu và tác nhân thứ hai sẽ cho phép kích thích chức năng miễn dịch. Hơn thế nữa, điều có thể được dự kiến là sự kết hợp của hai hoặc nhiều tác nhân khác nhau cho phép làm giảm hoặc làm sạch HBsAg ra khỏi máu kết hợp với hai hoặc nhiều tác nhân trị liệu miễn dịch khác nhau cũng có thể có tác dụng tương đương hoặc hơn hẳn.

Mặc dù một mình việc loại bỏ HBsAg ra khỏi máu có khả năng cung cấp phản ứng lớn tác động hiệp đồng tới sự trị liệu miễn dịch, song sự làm sạch bổ sung HBeAg và HBcAg cũng có thể góp phần đôi chút tới tác dụng hiệp đồng do các đặc tính ức chế miễn dịch nội tại của chúng. Do vậy, sự làm sạch bổ sung HBeAg

và HBcAg ra khỏi máu (một tác dụng cũng đạt được với các NAP) có thể cung cấp một tính năng có ích nhỏ nhưng sẽ có thể là ít hoặc không có tác dụng mà không cần phải làm sạch HBsAg.

Hiệu quả nổi bật mà việc loại bỏ hoặc làm sạch HBsAg ra khỏi máu có hiệu quả của các trị liệu thông thường cũng có thể cải thiện một cách đáng kể hiệu quả của các vắc-xin tới các kháng nguyên HBV khi được cấp trong khung cảnh điều trị. Từ phần mô tả của sáng chế, chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể tin chắc là HBsAg tuân hoàn ức chế đáp ứng vắc-xin với hiệu lực đầy đủ ở các đối tượng bị nhiễm bệnh HBV và còn tin chắc là đáp ứng vắc-xin có thể được cải thiện nhiều khi được cấp mà không cần phải làm giảm các mức HBsAg.

Ví dụ IV

Điều trị kết hợp REP 2139-Ca / Pegasys™ vào lúc bắt đầu trị liệu ở các bệnh nhân bị viêm gan B mạn tính ở người bệnh

Trên một tập hợp mới các bệnh nhân bị nhiễm HBV, REP 2139-Ca (500mg một lần mỗi tuần) và Pegasys™ (180ug mỗi tuần) cả hai đều được bắt đầu dùng khi bắt đầu điều trị để xem liệu các tác dụng hiệp đồng đã quan sát được ở Ví dụ III có thể đạt được sớm hơn hay không trong phác đồ điều trị. Trong số ba bệnh nhân này, sự giảm nhanh chóng và mạnh mẽ về HBsAg huyết thanh và sự tăng nhanh chóng độ chuẩn kháng thể kháng HBsAg tự do được quan sát (xem Bảng 11).

Bảng 11

Sự hiệp đồng của REP 2139-Ca và Pegasys™ khi được kết hợp vào lúc bắt đầu điều trị

Người bệnh	HBsAg huyết thanh (U /mL*)		Huyết thanh anti-HBsAg (mIU /mL*)	
	Trước điều trị	Tuần điều trị 9	Trước điều trị	Trong khi điều trị
1	2510,66	0,17	0,48	123,75 (tuần 17)
2	4789,73	0,02	0,4	521,57 (tuần 15)

3	3338,24	0,05	0,8	646,42 (tuần 11)
---	---------	------	-----	------------------

*được đo bằng cách sử dụng Abbott Architect™ platform

Các kết quả từ Ví dụ IV chứng tỏ rằng sự hiệp đồng của việc kết hợp đồng thời việc loại bỏ HBsAg ra khỏi máu cùng với trị liệu miễn dịch có thể xảy ra rất sớm trong quá trình điều trị khi cả các NAP lẫn Pegasys™ được bắt đầu vào lúc bắt đầu điều trị. Hơn thế, những kết quả này và các kết quả trong Ví dụ III cho thấy rằng sự cải thiện mạnh mẽ về tác dụng của trị liệu miễn dịch có thể xảy ra khi trị liệu miễn dịch được bổ sung sau khi loại bỏ HBsAg ra khỏi máu đã được thực hiện hoặc khi trị liệu miễn dịch được bổ sung trong lúc loại bỏ HBsAg ra khỏi máu (tức là, vào lúc bắt đầu điều trị).

Mặc dù các ví dụ II, III và IV được tiến hành ở các bệnh nhân đơn nhiễm HBV, khi xét về vai trò quan trọng và đã được thiết lập thì HBsAg đóng vai trò trong sự hình thành virus HDV và ngăn chặn sự miễn dịch ở các đồng nhiễm HBV/HDV, nên các ví dụ này cho thấy rõ ràng là thì các dấu hiệu được đề cập sẽ cũng có thể áp dụng cho cả đơn nhiễm HBV lẫn đồng nhiễm HBV/HDV.

Phần mô tả ở trên chỉ nhằm mục đích minh họa, và chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ thừa nhận rằng các thay đổi có thể được đưa ra đối với các phương án được mô tả mà không vượt quá phạm vi của sáng chế như được xác định bởi Yêu cầu bảo hộ kèm theo. Các cải biến khác nằm trong phạm vi của sáng chế, như được xác định trong Yêu cầu bảo hộ kèm theo, sẽ được hiểu rõ bởi các chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này, khi xem xét phần mô tả sáng chế.

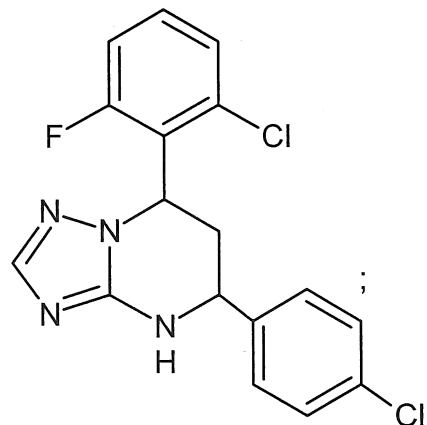
YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, trong đó chế phẩm này chứa:

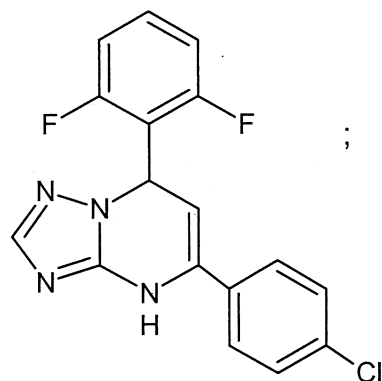
tác nhân được dụng thứ nhất gồm một hoặc nhiều phân tử được chọn từ nhóm gồm:

các dẫn xuất triazolopyrimidin dưới đây:

7-(2-cloro-6-florophenyl)-5-(4-clorophenyl)-4,5,6,7-tetrahydro[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyrimidin



5-(4-clorophenyl)-7-(2,6-điflorophenyl)-4,7-đihydro[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyrimidin



oligonucleotit được chọn trong số sau:

polyme axit nucleic được chọn trong số sau:

oligonucleotit đã phosphorothioat hóa có chiều dài 20-120

nucleotit bao gồm các đoạn lặp của trình tự AC;

oligonucleotit đã phosphorothioat hóa có chiều dài 20-120

nucleotit bao gồm các đoạn lặp của trình tự CA;

oligonucleotit đã phosphorothioat hóa có chiều dài 20-120

nucleotit bao gồm các đoạn lặp của trình tự TG và
 oligonucleotit đã phosphorothioat hóa có chiều dài 20-120
 nucleotit bao gồm các đoạn lặp của trình tự GT;
 oligonucleotit đối nghĩa xúc tác quá trình thoái biến của mARN
 được sử dụng để sản xuất protein HBsAg;
 siRNA xúc tác quá trình thoái biến của mARN được sử dụng để sản
 xuất protein HBsAg; và
 shRNA xúc tác quá trình thoái biến của mARN được sử dụng để sản
 xuất protein HBsAg;
 và tác nhân được dụng thứ hai gồm một hoặc nhiều phân tử được chọn từ nhóm
 gồm:

thymosin $\alpha 1$;
 α -interferon hoặc α -interferon đã pegyl hóa;
 β -interferon hoặc β -interferon đã pegyl hóa;
 γ -interferon hoặc γ -interferon đã pegyl hóa;
 λ -interferon hoặc λ -interferon đã pegyl hóa;
 interferon α -2a hoặc α -2b hoặc α -N3;
 interferon β -1a hoặc β -1b;
 interferon γ -1b;
 interferon λ 1 hoặc λ 2 hoặc λ 3
 interferon α -2a hoặc α -2b hoặc λ 1 hoặc λ 2 đã pegyl hóa;
 xytokin hoặc dẫn xuất đã pegyl hóa của chúng;
 thymic protein A;
 IMO-2055;
 IMO-2125;
 dehydroepiandrosteron (DHEA);
 GS-9620; và
 ANA-773.;

trong đó polyme axit nucleic này còn chứa ít nhất một cải biến 2' riboza.

2. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó polyme axit nucleic còn bao gồm tất cả các riboza có cải biến 2'.
3. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó polyme axit nucleic còn chứa ít nhất một cải biến 2' O methyl riboza.
4. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó polyme axit nucleic còn bao gồm tất cả các riboza có cải biến 2' O methyl.
5. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó polyme axit nucleic còn chứa ít nhất một 5' methylxytosin.
6. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó polyme axit nucleic còn bao gồm tất cả các xytosin trình bày dưới dạng 5' methylxytosin.
7. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó polyme axit nucleic còn chứa ít nhất một cải biến 2' riboza và ít nhất một 5' methylxytosin.
8. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó polyme axit nucleic còn bao gồm tất cả các riboza có cải biến 2' O methyl và tất cả các xytosin trình bày dưới dạng 5' methylxytosin.
9. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó oligonucleotit dưới đây còn được bào chế dưới dạng một phức chất oligonucleotit chelat:

polyme axit nucleic được chọn trong số sau:

oligonucleotit đã phosphorothioa hóa có chiều dài 20-120 nucleotit

bao gồm các đoạn lặp của trình tự CA;

oligonucleotit đã the phosphorothioa hóa có chiều dài 20-120

nucleotit bao gồm các đoạn lặp của trình tự TG và

oligonucleotit đã the phosphorothioat hóa có chiều dài 20-120 nucleotit bao gồm các đoạn lặp của trình tự GT;
oligonucleotit đối nghĩa xúc tác quá trình thoái biến của mARN được sử dụng để sản xuất protein HBsAg; và
siRNA xúc tác quá trình thoái biến của mARN được sử dụng để sản xuất protein HBsAg.

10. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó polyme axit nucleic có trình tự được chọn từ nhóm bao gồm:

SEQ ID NO:2;
SEQ ID NO:3;
SEQ ID NO:10;
các SEQ ID NO:1 và 4-9.

11. Chế phẩm theo điểm 9, trong đó polyme axit nucleic có trình tự được chọn từ nhóm bao gồm:

SEQ ID NO:2;
SEQ ID NO:3;
các SEQ ID NO:1 và 4-9.

12. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó các tác nhân được dụng thứ nhất và thứ hai được bào chế trong cùng một dược phẩm.

13. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó các tác nhân được dụng thứ nhất và thứ hai được bào chế trong các dược phẩm tách biệt.

14. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó các tác nhân được dụng thứ nhất và thứ hai được bào chế để cung cấp đồng thời.

15. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó các tác nhân được dụng thứ nhất và thứ hai

được bào chế để cung cấp qua các đường dùng thuốc khác nhau.

16. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó các tác nhân được dụng thứ nhất và thứ hai được bào chế để cung cấp bằng cách sử dụng một hoặc nhiều đường cung cấp sau: tiêu hóa qua đường miệng, hít khí dung, tiêm dưới da, tiêm trong cơ, tiêm trong màng bụng, tiêm tĩnh mạch và truyền tĩnh mạch.

17. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này còn chứa tác nhân thứ ba được sử dụng bao gồm một hoặc nhiều các hợp chất được chọn trong số sau:

tenofovir disoproxil fumarat;

entecavir;

telbivudin;

adefovir dipivoxil; và

lamivudin.

18. Chế phẩm để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, trong đó chế phẩm này chứa tác nhân được dụng thứ nhất gồm SEQ ID NO:2 và tác nhân được dụng thứ hai là interferon α -2a đã pegyl hóa.

19. Chế phẩm để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, trong đó chế phẩm này chứa tác nhân được dụng thứ nhất và tác nhân được dụng thứ hai là interferon α -2a đã pegyl hóa, trong đó tác nhân được dụng thứ nhất gồm phức chất oligonucleotit gồm SEQ ID NO:2.

20. Chế phẩm để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, trong đó chế phẩm này chứa tác nhân được dụng thứ nhất gồm SEQ ID NO:3 và tác nhân được dụng thứ hai là interferon α -2a đã pegyl hóa.

21. Chế phẩm để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, trong đó chế phẩm này chứa tác nhân được dụng thứ nhất

và tác nhân được dụng thứ hai là interferon α -2a đã pegyl hóa, trong đó tác nhân được dụng thứ nhất gồm phức chất oligonucleotit gồm SEQ ID NO:3, và trong đó oligonucleotit còn chứa ít nhất một cải biến 2' riboza.

22. Chế phẩm để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, trong đó chế phẩm này chứa tác nhân được dụng thứ nhất gồm SEQ ID NO:10 và tác nhân được dụng thứ hai là interferon α -2a đã pegyl hóa.

23. Chế phẩm để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, trong đó chế phẩm này chứa tác nhân được dụng thứ nhất gồm SEQ ID NO:2 và tác nhân được dụng thứ hai là thymosin α 1.

24. Chế phẩm để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, trong đó chế phẩm này chứa tác nhân được dụng thứ nhất và tác nhân được dụng thứ hai là thymosin α 1, trong đó tác nhân được dụng thứ nhất gồm phức chất oligonucleotit gồm SEQ ID NO:2.

25. Chế phẩm để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, trong đó chế phẩm này chứa tác nhân được dụng thứ nhất gồm SEQ ID NO:3 và tác nhân được dụng thứ hai là thymosin α 1.

26. Chế phẩm để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, trong đó chế phẩm này chứa tác nhân được dụng thứ nhất và tác nhân được dụng thứ hai là thymosin α 1, trong đó tác nhân được dụng thứ nhất gồm phức chất oligonucleotit gồm SEQ ID NO:3, và trong đó oligonucleotit còn chứa ít nhất một cải biến 2' riboza.

27. Chế phẩm để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, trong đó chế phẩm này chứa tác nhân được dụng thứ nhất gồm SEQ ID NO:10 và tác nhân được dụng thứ hai là thymosin α 1a.

28. Chế phẩm để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, trong đó chế phẩm này chứa tác nhân được dụng thứ nhất gồm SEQ ID NO:2 và tác nhân được dụng thứ hai là interferon α -2b.

29. Chế phẩm để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, trong đó chế phẩm này chứa tác nhân được dụng thứ nhất và tác nhân được dụng thứ hai là interferon α -2b, trong đó tác nhân được dụng thứ nhất gồm phức chất oligonucleotit gồm SEQ ID NO:2.

30. Chế phẩm để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, trong đó chế phẩm này chứa tác nhân được dụng thứ nhất gồm SEQ ID NO:3 và tác nhân được dụng thứ hai là interferon α -2b.

31. Chế phẩm để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, trong đó chế phẩm này chứa tác nhân được dụng thứ nhất và tác nhân được dụng thứ hai là interferon α -2b, trong đó tác nhân được dụng thứ nhất gồm phức chất oligonucleotit gồm SEQ ID NO:3, và trong đó oligonucleotit còn chứa ít nhất một cái biến 2' riboza.

32. Chế phẩm để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, trong đó chế phẩm này chứa tác nhân được dụng thứ nhất gồm SEQ ID NO:10 và tác nhân được dụng thứ hai là interferon α -2b.

33. Chế phẩm để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, trong đó chế phẩm này chứa tác nhân được dụng thứ nhất gồm SEQ ID NO:2 và tác nhân được dụng thứ hai là interferon λ 1 đã pegyl hóa.

34. Chế phẩm để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, trong đó chế phẩm này chứa tác nhân được dụng thứ nhất và tác nhân được dụng thứ hai là interferon λ 1 đã pegyl hóa, trong đó tác nhân được dụng thứ nhất gồm phức chất oligonucleotit gồm SEQ ID NO:2.

35. Chế phẩm để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, trong đó chế phẩm này chứa tác nhân được dụng thứ nhất gồm SEQ ID NO:3 và tác nhân được dụng thứ hai là interferon λ 1 đã pegyl hóa.

36. Chế phẩm để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, trong đó chế phẩm này chứa tác nhân được dụng thứ nhất và tác nhân được dụng thứ hai là interferon λ 1 đã pegyl hóa, trong đó tác nhân được dụng thứ nhất gồm phức chất oligonucleotit gồm SEQ ID NO:3, và trong đó oligonucleotit còn chứa ít nhất một cải biến 2' riboza.

37. Chế phẩm để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, trong đó chế phẩm này chứa tác nhân được dụng thứ nhất gồm SEQ ID NO:10 và tác nhân được dụng thứ hai là interferon λ 1 đã pegyl hóa.

38. Chế phẩm để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, trong đó chế phẩm này chứa tác nhân được dụng thứ nhất gồm SEQ ID NO:2 và tác nhân được dụng thứ hai là GS-9620.

39. Chế phẩm để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, trong đó chế phẩm này chứa tác nhân được dụng thứ nhất và tác nhân được dụng thứ hai là GS-9620, trong đó tác nhân được dụng thứ nhất gồm phức chất oligonucleotit gồm SEQ ID NO:2.

40. Chế phẩm để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, trong đó chế phẩm này chứa tác nhân được dụng thứ nhất gồm SEQ ID NO:3 và tác nhân được dụng thứ hai là GS-9620.

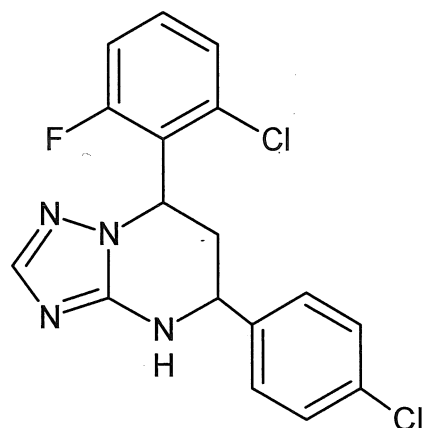
41. Chế phẩm để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, trong đó chế phẩm này chứa tác nhân được dụng thứ nhất và tác nhân được dụng thứ hai là GS-9620, trong đó tác nhân được dụng thứ nhất gồm phức chất oligonucleotit gồm SEQ ID NO:3.

42. Chế phẩm để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, trong đó chế phẩm này chứa tác nhân được dụng thứ nhất gồm SEQ ID NO:10 và tác nhân được dụng thứ hai là GS-9620.

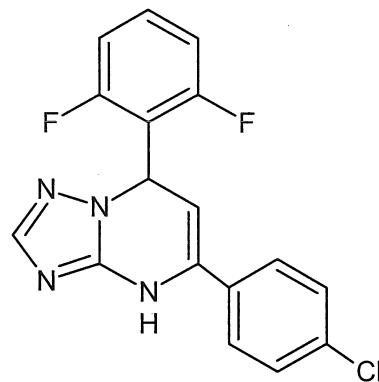
43. Chế phẩm để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B hoặc đồng nhiễm virus viêm gan B/viêm gan D, trong đó chế phẩm này chứa tác nhân được dụng thứ nhất và tác nhân được dụng thứ hai là GS-9620, trong đó tác nhân được dụng thứ nhất gồm phức chất oligonucleotit gồm SEQ ID NO:10.

A

7-(2-cloro-6-florophenyl)-5-(4-clorophenyl)-
4,5,6,7-tetrahydro[1,2,4]triazolo[1,5-
a]pyrimidin

**B**

5-(4-clorophenyl)-7-(2,6-di fluorophenyl)-4,7-
diidró[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyrimidin

**Fig.1**

Danh mục trình tự

<110> REPLICOR INC.

<120> CHẾ PHẨM ĐỂ ĐIỀU TRỊ BỆNH NHIỄM VIRUT VIÊM GAN B HOẶC ĐỒNG NHIỄM VI RUT VIÊM GAN B/VIÊM GAN D

<130> 05016051-38PCT

<150> US 61/695,040

<151> 2012-08-30

<150> US 61/703,816

<151> 2012-09-21

<160> 20

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 40

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> đã phosphorothioat hóa hoàn toàn

<400> 1

cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca

40

<210> 2

<211> 40

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> REP 2055, đã phosphorothioat hóa hoàn toàn

<400> 2

acacacacac acacacacac acacacacac acacacacac

40

<210> 3

<211> 40

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> REP 2148, fullly phosphorothioated, C = 5' methylxytidin

<400> 3
 acacacacac acacacacac acacacacac acacacacac 40

<210> 4
 <211> 40
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> đã phosphorothioat hóa hoàn toàn, C = 5' metylxytidin

<400> 4
 cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca 40

<210> 5
 <211> 40
 <212> ARN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> REP 2153, đã phosphorothioat hóa hoàn toàn, 2' O metylriboza đã được cải biến hoàn toàn

<400> 5
 acacacacac acacacacac acacacacac acacacacac 40

<210> 6
 <211> 40
 <212> ARN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> đã phosphorothioat hóa hoàn toàn, 2' O metylriboza đã được cải biến hoàn toàn

<400> 6
 cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca 40

<210> 7
 <211> 40
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> REP 2033, đã phosphorothioat hóa hoàn toàn

<400> 7
 tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg 40

<210> 8
 <211> 40

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> đã phosphorothioat hóa hoàn toàn

<400> 8

gtgtgtgtgtgt gtgtgtgtgtgt gtgtgtgtgtgt gtgtgtgtgtgt 40

<210> 9

<211> 40

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> đã phosphorothioat hóa hoàn toàn, 2' O metylriboza đã được cải biến hoàn toàn, mỗi xytosin đã được 5' metyl hóa

<400> 9

cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca 40

<210> 10

<211> 40

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> REP 2139, đã phosphorothioat hóa hoàn toàn, 2' O metylriboza đã được cải biến hoàn toàn, mỗi xytosin đã được 5' metyl hóa

<400> 10

acacacacac acacacacac acacacacac acacacacac 40

<210> 11

<211> 40

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> REP 2163, đã phosphorothioat hóa hoàn toàn, mỗi xytosin đã được 5' metyl hóa

<220>

<221> dấu hiệu misc

<222> 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39

<223> cải biến 2' O metylriboza

<400> 11

acacacacac acacacacac acacacacac acacacacac 40

<210> 12
 <211> 40
 <212> ARN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> REP 2164, đã phosphorothioat hóa hoàn toàn, mỗi xytosin đã được 5' metyl hóa

<220>
 <221> dấu hiệu misc
 <222> 1-12, 14-26, 28-40
 <223> cải biến 2' O metylriboza

<400> 12
 acacacacac acacacacac acacacacac acacacacac 40

<210> 13
 <211> 40
 <212> ARN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> REP 2165, đã phosphorothioat hóa hoàn toàn, mỗi xytosin đã được 5' metyl hóa

<220>
 <221> dấu hiệu misc
 <222> 1-10, 12-20, 22-30, 32-40
 <223> cải biến 2' O metylriboza

<400> 13
 acacacacac acacacacac acacacacac acacacacac 40

<210> 14
 <211> 40
 <212> ARN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> REP 2166, full phosphorothioated, each cytosine 5' methylated and 2'O methylribose modified

<400> 14
 acacacacac acacacacac acacacacac acacacacac 40

<210> 15
 <211> 40
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> REP 2167, đã phosphorothioat hóa hoàn toàn, mỗi xytosin đã được 5' metyl hóa

<220>

<221> dấu hiệu misc

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

<223> 2' O methyribose modification

<400> 15

acacacacac acacacacac acacacacac acacacacac

40

<210> 16

<211> 40

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> đã phosphorothioat hóa hoàn toàn, mỗi xytosin đã được 5' metyl hóa

<220>

<221> dấu hiệu misc

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

<223> cải biến 2' O metylriboza

<400> 16

cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca

40

<210> 17

<211> 40

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> đã phosphorothioat hóa hoàn toàn, mỗi xytosin đã được 5' metyl hóa

<220>

<221> dấu hiệu misc

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

<223> cải biến 2' O metylriboza

<400> 17

cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca

40

<210> 18

<211> 40

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> đã phosphorothioat hóa hoàn toàn, mỗi xytosin đã được 5' metyl hóa

<220>

<221> dấu hiệu misc

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

<223> cải biến 2' O metylriboza

<400> 18

cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca

40

<210> 19

<211> 40

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> đã phosphorothioat hóa hoàn toàn, each cytosine 5' methylated and 2'O methylribose modified

<400> 19

cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca

40

<210> 20

<211> 40

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> đã phosphorothioat hóa hoàn toàn, mỗi xytosin đã được 5' metyl hóa

<220>

<221> dấu hiệu misc

<222> 1,3,5,7,9,11,13,15,17,19,21,23,25,27,29,31,33,35,37,39

<223> cải biến 2' O metylriboza

<400> 20

cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca

40