

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202392004** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.09.18

(51) Int. Cl. *A61K 31/42* (2006.01)
A61K 31/46 (2006.01)
A61K 38/21 (2006.01)
A61K 45/00 (2006.01)
A61P 31/20 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2022.01.13

**(54) СИНЕРГИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ АГОНИСТА FXR И IFN ПРИ ЛЕЧЕНИИ ИНФЕКЦИИ
HBV**

(31) **21305035.4**

(32) **2021.01.14**

(33) **EP**

(86) **PCT/EP2022/050589**

(87) **WO 2022/152770 2022.07.21**

(71) Заявитель:

**ЭНИО ФАРМА; ИНСЕРМ
(ЭНСТИТИО НАСЪОНАЛЬ
ДЕ ЛЯ САНТЭ Э ДЕ ЛЯ
РЕШЕРШ МЕДИКАЛЬ); САНТР
НАСЪОНАЛЬ ДЕ ЛЯ РЕШЕРШ
СЪЕНТИФИК; САНТР ЛИОН
БЕРАР; ЮНИВЕРСИТЕ КЛОД
БЕРНАР ЛИОН 1 (FR)**

(72) Изобретатель:

**Дартейль Рафаэль (FR), Скальфаро
Пьетро (CH), Вондершер Джеки, Рой
Элис, Дюрантель Давид (FR)**

(74) Представитель:

Фелицына С.Б. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к синергической комбинации агониста FXR и интерферона для лечения гепатита В.

A1

202392004

202392004

A1

СИНЕРГИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ АГОНИСТА FXR И IFN ПРИ ЛЕЧЕНИИ ИНФЕКЦИИ HBV

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к способу лечения инфекции гепатита В.

Предшествующий уровень техники

Гепатит В остается серьезной проблемой общественного здравоохранения во всем мире: более 350 миллионов человек хронически инфицированы, несмотря на обширные программы вакцинации. Хронический гепатит В развивается в сторону опасных для жизни осложнений, включая цирроз печени и рак. Текущие терапевтические схемы представляют собой долгосрочное лечение (например, ингибиторы полимеразы, пожизненно; ПЭГилированные интерфероны до одного года) и не могут излечить HBV, поскольку они не нацелены на резервуар вируса. Функциональное лечение HBV остается одной из основных неудовлетворенных медицинских потребностей.

Основной целью лечения хронического гепатита В (ХГВ) является постоянное подавление репликации HBV и предотвращение или улучшение состояния печени. В настоящее время для лечения инфекции ХГВ доступны семь лекарственных средств: обычный интерферон (IFN), ПЭГилированный интерферон и противовирусные агенты прямого действия. Противовирусные агенты прямого действия (аналоги нуклеозидов/нуклеотидов) относятся к трем классам: L-нуклеозиды (ламивудин, телбивудин и эмтрицитабин); аналоги дезоксигуанозина (энтекавир) и нуклеозидфосфонаты (адефовир и тенофовир), которые непосредственно препятствуют репликации ДНК HBV, главным образом, как терминаторы цепи. Основными ограничениями лечения интерфероном являются серьезные побочные эффекты, низкий уровень супрессии ДНК HBV и низкий уровень нормализации АЛТ; основными ограничениями лечения противовирусными средствами прямого действия являются: развитие резистентности; восстановление репликации HBV после прекращения терапии, требующее длительной пожизненной терапии, очень низкая скорость клиренса HBsAg, повышение риска побочных эффектов при длительной пожизненной терапии. Важно отметить, что современные противовирусные средства прямого действия подавляют обратную транскрипцию прегеномной вирусной РНК в геномную ДНК. Таким образом, они действуют после образования ковалентно замкнутой кольцевой ДНК (кзкДНК), которая образуется после проникновения вируса в гепатоциты. кзкДНК находится в ядре клетки в виде дополнительных минихромосом, которые транскрибируются в вирусные

мРНК и передаются дочерним клеткам при делении гепатоцитов. Современные противовирусные средства прямого действия не влияют или оказывают очень незначительное влияние на резервуар кзкДНК HBV и экспрессию вирусных генов. Таким образом, доступные в настоящее время способы лечения являются неоптимальными и могут быть связаны с серьезными побочными эффектами.

WO 2015/036442 раскрывает представляющий интерес агонист FXR, который снижает репликацию HBV. EYP001 представляет собой синтетический нестероидный агонист FXR, не содержащий желчных кислот, с хорошим профилем переносимости. EYP001 представляет собой перорально биодоступную малую молекулу, которая в настоящее время оценивается в фазе Ib у пациентов с хроническим гепатитом В. В отличие от пожизненных стандартов лечения, направленных главным образом на репликацию вируса, EYP001 нацелен на кзкДНК («вирусный резервуар»), поэтому нацелен на реальное излечение HBV. Erken et al (2018, Journal of Hepatology, 68, Suppl 1, S488-S489) раскрывает, что EYP001 снижает вирусную нагрузку HBV у пациентов с хроническим гепатитом В. Joly et al (2017, Journal of Hepatology, 66, Suppl 1, SAT-158) раскрывают, что EYP001 и аналог нуклеозидов можно безопасно использовать у здоровых индивидуумов и EYP001 оказывает аддитивное воздействие на снижение/элиминацию HBV в культуре клеток.

Было изучено несколько комбинированных терапий с IFN и аналогами нуклеозидов/нуклеотидов, а именно: IFN- α и лекарственное средство, выбранное из группы, включающей ламивудин, адефовир, телбувирин, энтекавир и тенофовир (Woo et al, 2017, Ann Transl Med, 5, 159). Почти все комбинации не показали никаких преимуществ. Действительно, только одна комбинация с тенофовиром обеспечивает более высокие показатели потери HBsAg (поверхностного антигена гепатита В) с процентом менее 10%. Однако такой низкий уровень потери HBsAg делает излечение труднодостижимым.

Однако всегда существует потребность в более эффективных методах лечения для достижения целей лечения инфекции HBV, в частности инфекции ХГВ.

Сущность изобретения

Авторы изобретения неожиданно установили, что агонисты FXR обладают синергическим эффектом с интерфероном при лечении гепатита В, особенно в отношении прегеномной вирусной РНК, маркера репликации вируса, и в отношении HBsAg, родственного коровому антигену, который является сывороточным маркером хронического гепатита В. В частности, EYP001 (Вонафексор) и IFN обладают синергическим действием на снижение транскрипции кзкДНК. Эти эффекты наблюдались

всего через 4 недели лечения, что является очень коротким периодом времени, тогда как ни EYP001, ни IFN при использовании по отдельности не проявляют значительного эффекта в той же дозе и через тот же период времени. Кроме того, неожиданно синергический эффект по меньшей мере в два раза сильнее при введении EYP001 один раз в сутки по сравнению с введением дважды в день с той же суточной дозой. Аналогичным образом синергический эффект наблюдался с другим агонистом FXR, а именно GW4064, на уровень внутриклеточной РНК HBV, а также на секрецию HBeAg и HBsAg, а с другими агонистами FXR, а именно тропифексора, нидуфексора и окалива (OCA), на секрецию HBsAg в две разные модели гепатоцитов, инфицированных HBV.

Таким образом, настоящее изобретение относится к синергической комбинации агониста FXR и IFN для применения при лечении инфекции гепатита В, особенно хронического гепатита В.

Настоящее изобретение относится к агонисту FXR или содержащей его фармацевтической композиции для применения в комбинации с интерфероном альфа (IFN- α) или его ПЭГилированной формой для лечения инфекции, вызванной вирусом гепатита В, особенно хронического гепатита В, где агонист FXR и IFN- α используют для получения синергического эффекта снижения репликации HBV. В некоторых случаях агонист FXR не является EYP001.

Изобретение также относится к применению агониста FXR или содержащей его фармацевтической композиции для изготовления лекарственного средства для лечения вирусной инфекции гепатита В, особенно хронического гепатита В, в комбинации с интерфероном альфа (IFN- α) или его ПЭГилированной формой, где агонист FXR и IFN- α используются для получения синергического эффекта для снижения репликации HBV. Кроме того, изобретение относится к способу лечения инфекции вируса гепатита В, особенно хронического гепатита В, у нуждающегося в этом субъекта, включающему введение терапевтически эффективного или субтерапевтического количества агониста FXR и введение терапевтически эффективного или субтерапевтического количества интерферона-альфа (IFN- α) или его ПЭГилированной формы, где агонист FXR и IFN- α вводят таким образом, чтобы получить синергический эффект для снижения репликации HBV. В некоторых случаях агонист FXR не является EYP001.

Необязательно агонист FXR выбирают из группы, состоящей из LJN452 (тропифексор), LMB763 (нидуфексор), GS-9674 (цилофексор), PX-102 (PX-20606), PX-104 (фенекс 104), OCA (окалива), EDP-297, EDP-305, TERN-101 (LY2562175), MET-409, MET-642, GW4064, WAY362450 (турофексорат изопропил), фексарамин, AGN242266 (AKN-083) и BAR502. В конкретном аспекте агонист FXR выбран из группы, состоящей из

LJN452 (тропифексор), LMB763 (нидуфексор), GS-9674 (цилофексор), PX-102 (PX-20606), PX-104 (фенекс 104), ОСА (окалива), EDP-297, EDP-305, TERN-101 (LY2562175), MET-409, MET-642, GW4064, WAY362450 (турофексорат изопропил), фексарамина, AGN242266 (AKN-083) и BAR502, или любой их фармацевтически приемлемой соли. В более конкретном аспекте агонист FXR выбран из группы, состоящей из тропифексора, нидуфексора, окалива и GW4064 или любой их фармацевтически приемлемой соли.

Необязательно, агонист FXR следует вводить в субтерапевтическом количестве.

В одном аспекте агонист FXR следует вводить один раз в сутки. В другом аспекте агонист FXR следует вводить два раза в сутки.

В одном аспекте IFN- α представляет собой IFN- α 2a, IFN- α 2b или их ПЭГилированную форму. Предпочтительно IFN- α или его ПЭГилированную форму следует вводить подкожно один раз в неделю. Необязательно, IFN- α или его ПЭГилированную форму можно вводить в субтерапевтическом количестве.

В одном конкретном аспекте как агонист FXR, так и IFN- α или его ПЭГилированную форму следует вводить в субтерапевтических количествах.

В одном аспекте агонист FXR и IFN- α или его ПЭГилированную форму следует вводить в течение периода времени от 5, 6, 7 или 8 недель до 52 недель.

В одном аспекте агонист FXR и IFN- α или его ПЭГилированную форму следует использовать в комбинации по меньшей мере с одним дополнительным активным ингредиентом. Более конкретно, по меньшей мере один дополнительный активный ингредиент представляет собой ингибитор полимеразы, выбранный из группы, состоящей из L-нуклеозидов, аналогов дезоксигуанозина и нуклеозидфосфонатов. В очень конкретном аспекте по меньшей мере один дополнительный активный ингредиент выбран из группы, состоящей из ламивудина, телбивудина, эмтрицитабина, энтекавира, адефовира и тенофовира.

Краткое описание чертежей

Фиг. 1. Изменения HBV pgRNA (\log_{10} копий/мл) по сравнению с исходным уровнем после 4-недельного курса лечения против HBV агонистом FXR EYP001a или плацебо в сочетании с интерфероном у хронически инфицированных ранее не подвергавшихся лечению пациентов с HBV. PBO: плацебо. peg-IFN: ПЭГилированный интерферон альфа2a. 150 BID: 150 мг два раза в сутки. 300 QD: 300 мг один раз в сутки. pgRNA: прегеномная рибонуклеиновая кислота. Черные столбцы — изменения в конце лечения на 29 день. Серые столбцы представляют собой изменения через неделю после окончания лечения на 35 день. *p=0,04

Фиг. 2. Изменения HBcAg (\log_{10} ME/мл) по сравнению с исходным уровнем после

4-недельного курса лечения против HBV агонистом FXR EYP001a или плацебо в комбинации с интерфероном у хронически инфицированных ранее не подвергавшихся лечению пациентов с HBV. PBO: плацебо. peg-IFN: ПЭГилированный интерферон альфа2а. HBsAg: коровий антиген гепатита В. Черные столбцы — изменения в конце лечения на 29 день. Серые столбцы представляют собой изменения через неделю после окончания лечения на 35 день.

Фиг. 3. Синергический эффект агониста FXR и IFN-альфа на репликацию HBV в инфицированных первичных гепатоцитах человека (ПГГ). Свежеприготовленные и высеянные ПГГ инфицировали HBV при множественности заражения 250 GE/клетку. С 4 по 10 день после инфицирования клетки обрабатывали 1 или 10 мкМ, +/- IFN-альфа при 100 МЕ/мл, или носителем (NT), или только IFN-альфа при 100 МЕ/мл. Клетки и надосадочные жидкости собирали на 10 день для количественного определения внутриклеточной РНК HBV, виремии и секретируемых антигенов (HBsAg и HBeAg). Результаты представляют собой среднее +/- стандартное отклонение одного эксперимента, проведенного в трех биологических повторах.

Фиг. 4. Синергический эффект агонистов FXR и IFN-альфа на секрецию HBsAg в инфицированных HBV первичных гепатоцитах человека (ПГГ). Свежеприготовленные и высеянные ПГГ инфицировали HBV при множественности заражения 250 GE/клетку. С 4 по 10 день после инфицирования клетки обрабатывали вонифексором в концентрации 10 мкМ, или нидуфексором в концентрации 10 мкМ, или тропифексором в концентрации 1 мкМ, или ОСА в концентрации 10 мкМ, или GW4064 в концентрации 10 мкМ, +/- IFN-альфа (IFN) в дозе 100 МЕ/мл, или носителем, или только IFN-альфа в дозе 100 МЕ/мл. На 10 день собирали надосадочные жидкости для количественного определения секретируемого антигена HBs (HBsAg). Результаты представляют собой среднее значение +/- SEM пяти экспериментов, проведенных с тремя повторами.

Фиг. 5. Синергический эффект агонистов FXR и IFN-альфа на секрецию HBsAg в инфицированных HBV клетках dHepaRG. Дифференцированные клетки HepaRG (dHepaRG) инфицировали HBV при MOI 250 GE/клетку. С 7 по 14 день после инфицирования HBV клетки обрабатывали вонифексором в концентрации 10 мкМ, или нидуфексором в концентрации 10 мкМ, или тропифексором в концентрации 1 мкМ, или ОСА в концентрации 10 мкМ, или GW4064 в концентрации 10 мкМ, +/- IFN-альфа в дозе 25 МЕ/мл, или носитель, или только IFN-альфа в дозе 25 МЕ/мл. На 14 день собирали надосадочные жидкости для количественного определения секретируемого антигена HBs (HBsAg). Результаты представляют собой среднее значение +/- SEM трех экспериментов, проведенных с тремя повторами.

Подробное описание изобретения

Авторы изобретения обнаружили, что комбинированное лечение агонистом FXR с IFN- α неожиданно приводит к синергическому эффекту при хроническом гепатите В. Таким образом, терапевтический эффект может быть получен для пациента при использовании синергической комбинации агониста FXR с IFN- α .

Определение

Термин «FXR» относится к фарнезоидному X-рецептору, который представляет собой ядерный рецептор, активируемый супрафизиологическими уровнями фарнезола (Forman et al., Cell, 1995, 81, 687-693). FXR, также известный как NR1H4, белок 14, взаимодействующий с ретиноидным X-рецептором (RXR), и рецептор желчных кислот (BAR). Содержащий консервативный ДНК-связывающий домен (DBD) и С-концевой лиганд-связывающий домен (LBD), FXR связывается и активируется различными естественными желчными кислотами (ЖК), включая первичную желчную кислоту, хенодезоксихолевую кислоту (CDCA), и ее конъюгаты с таурином и глицином. При активации гетеродимер FXR-RXR связывается с промоторной областью генов-мишеней и регулирует экспрессию нескольких генов, участвующих в гомеостазе желчных кислот. Гены-мишени FXR печени делятся на две основные группы. Первая группа снижает концентрацию желчных кислот печени за счет увеличения экспорта и снижения их синтеза. Вторая группа генов-мишеней FXR, таких как транспортный белок фосфолипидов PLTP и аполипопротеины, модулирует уровни липопротеинов в сыворотке и снижает концентрацию триглицеридов в плазме. Более подробный список генов, регулируемых FXR, см., например, в WO 03/016288, стр. 22-23. Пат. США 6005086 раскрывает последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую белок FXR млекопитающих. Полипептидные последовательности человека для FXR депонированы в базах данных нуклеотидов и белков под номерами доступа NM_005123, Q96RI1, NP_005114 AAM53551, AAM53550, AAK60271.

В данном описании термин «агонист FXR» имеет свое общее значение в данной области и относится, в частности, к соединениям, которые функционируют путем нацеливания и связывания фарнезоидного X-рецептора (FXR) и которые активируют FXR по меньшей мере на 40% выше фона в анализе, описанном в Maloney et al. (J. Med. Chem. 2000, 43:2971-2974).

В некоторых воплощениях агонист FXR по изобретению представляет собой селективный агонист FXR. Используемый в данном документе термин «селективный агонист FXR» относится к агонисту FXR, который не проявляет значительной перекрестной реактивности с одним или несколькими, в идеале практически со всеми,

панелью ядерных рецепторов, состоящей из LXR α , LXR β , PPAR α , PPAR γ , PPAR δ , RXR α , RAR γ , VDR, PXR, ER α , ER β , GR, AR, MR и PR. Способы определения выраженной перекрестной реактивности описаны в J. Med. Chem. 2009, 52, 904-907.

Используемые в данном документе термины «лечение», «проводить лечение» и «лечить» относятся к любому действию, направленному на улучшение состояния здоровья пациентов, такому как терапия, предотвращение, профилактика и замедление заболевания. В некоторых воплощениях такие термины относятся к облегчению или ликвидации заболевания или связанных с ним симптомов. В других воплощениях этот термин относится к минимизации распространения или ухудшения заболевания в результате введения одного или нескольких терапевтических агентов субъекту с таким заболеванием. Более конкретно, термин «лечить» или «лечение» означает ослабление инфекции HBV, остановку развития заболевания и/или удаление HBV путем введения композиции.

Более конкретно, лечение инфекции гепатита В, особенно хронического гепатита В, проявляется уменьшением репликации HBV. Репликация HBV может быть оценена путем определения по меньшей мере одного из уровней HBeAg, уровней HBsAg, уровней HBcAg, уровней прегеномной РНК (HBV pgRNA), уровней пре-коровой РНК, уровней релаксированной кольцевой ДНК (ркДНК HBV), уровней кзкДНК HBV или уровней ДНК HBV у субъекта. Исчезновение HBsAg и сероконверсия обычно являются целью клинического излечения. Под уменьшением подразумевается, что уровень по меньшей мере одного из уровней HBeAg, уровней HBsAg, уровней HBcAg, уровней прегеномной РНК (HBV pgRNA), уровней пре-коровой РНК, уровней релаксированной кольцевой ДНК (ркДНК HBV), уровней кзкДНК HBV и уровней ДНК HBV снижаются по сравнению с отсутствием лечения.

Под снижением репликации HBV предпочтительно подразумевается, что репликация HBV снижается по меньшей мере в 10 или 100 раз по сравнению с репликацией HBV в отсутствие лечения. Например, репликацию HBV можно оценить путем определения уровней ДНК HBV, и этот уровень снижается по меньшей мере в 10 или 100 раз по сравнению с репликацией HBV в отсутствие EYU001. В качестве альтернативы уровень кзкДНК HBV снижается не менее чем на 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 или 50% по сравнению с отсутствием лечения.

Используемые в данном документе термины «субъект», «индивидуум» или «пациент» являются взаимозаменяемыми и относятся к человеку, включая взрослого, ребенка, новорожденного и человека на пренатальной стадии. В конкретном аспекте субъект или пациент страдает инфекцией гепатита В, в частности хроническим гепатитом

В.

Термины «количество» (исчисляемое), «количество» (неисчисляемое) и «доза» используются в данном документе взаимозаменяемо и могут относиться к абсолютному количественному определению молекулы.

Используемый в данном документе термин «терапевтический эффект» относится к эффекту, вызываемому активным ингредиентом или фармацевтической композицией согласно изобретению, способному предотвратить или отсрочить появление или развитие заболевания или расстройства, или излечить или ослабить последствия болезни или расстройства.

Используемый в данном документе термин «терапевтически эффективное количество» относится к количеству активного ингредиента или фармацевтической композиции, которое предотвращает, устраняет или уменьшает пагубные последствия заболевания, особенно инфекционного заболевания. Очевидно, что количество, которое необходимо ввести, может быть адаптировано специалистом в данной области в зависимости от субъекта лечения, характера заболевания и т.д. В частности, дозы и режим введения могут зависеть от характера, стадии и тяжести заболевания, подлежащего лечению, а также от массы тела, возраста и общего состояния здоровья субъекта, подлежащего лечению, а также от мнения врача.

Используемый в настоящем документе термин «субтерапевтическое количество» или «субтерапевтическая доза» относится к дозе, которая меньше той дозы, которая может дать терапевтический результат у субъекта при введении в отсутствие другого агента. Например, «субтерапевтическое количество» или «субтерапевтическая доза» может относиться к дозе, которая снижена на 25, 50, 70, 80 или 90% по сравнению с терапевтически эффективным количеством, особенно к обычной терапевтической дозе для те же показания и тот же путь введения при использовании отдельно. Обычными терапевтическими дозами являются те, которые признаны агентствами по одобрению лекарственных средств (например, FDA или EMEA).

Используемый в данном документе термин «эксципиент или фармацевтически приемлемый носитель» относится к любому ингредиенту, кроме активных ингредиентов, который присутствует в фармацевтической композиции. Его добавление может быть направлено на придание определенной консистенции или других физических или вкусовых свойств конечному продукту. Вспомогательное вещество или фармацевтически приемлемый носитель должны быть лишены какого-либо взаимодействия, в частности химического, с действующими веществами.

Используемый в данном документе термин «ПЭГилированная форма» относится к

ПЭГилированному интерферону.

Под «синергическим эффектом» подразумевается эффект снижения репликации HBV, который больше, чем сумма эффектов каждой молекулы в отдельности. Репликация HBV может быть оценена путем определения поверхностного антигена HBV (HBsAg), HBeAg, корового антигена HBV (HBcAg), ДНК HBV, прегеномной РНК HBV, пре-коровой РНК HBV и/или кзкДНК HBV. В частности, эффект наблюдается на прегеномной РНК (pgRNA HBV) и/или на коровом антигене гепатита В (HBcAg).

Комбинированное лечение

Настоящее изобретение относится к применению комбинации агониста FXR и IFN для лечения инфекции, вызванной вирусом гепатита В, особенно хронического гепатита В. Действительно, эта комбинация приводит к синергическому эффекту против HBV.

Соответственно, настоящее изобретение относится к

- фармацевтической композиции, содержащей агонист FXR и IFN- α или его ПЭГилированную форму, и необязательно фармацевтически приемлемый носитель и/или дополнительный активный ингредиент, в частности, для применения при лечении инфекции, вызванной вирусом гепатита В, особенно хронического гепатита В, где агонист FXR и IFN- α используются для получения синергического эффекта снижения репликации HBV;

- продукту или набору, содержащему агонист FXR, или фармацевтической композиции, содержащей его и IFN- α или его ПЭГилированную форму, в качестве комбинированного препарата для одновременного, отдельного или последовательного применения, в частности, при лечении вирусной инфекции гепатита В, особенно хронического гепатита В, где агонист FXR и IFN- α используются для получения синергического эффекта для снижения репликации HBV; необязательно продукт или набор могут содержать по меньшей мере один дополнительный активный ингредиент;

- комбинированному препарату, который содержит агонист FXR или фармацевтической композиции, содержащей его и IFN- α или его ПЭГилированную форму, для одновременного, отдельного или последовательного применения, в частности, при лечении вирусной инфекции гепатита В, особенно хронического гепатита В, где FXR агонист и IFN- α используются для получения синергического эффекта снижения репликации HBV; необязательно комбинированный препарат может содержать по меньшей мере один дополнительный активный ингредиент;

- фармацевтической композиции, содержащей агонист FXR, для применения при лечении инфекции, вызванной вирусом гепатита В, особенно хронического гепатита В, в сочетании с лечением IFN- α или его ПЭГилированной формой, где агонист FXR и IFN- α

используются таким образом, чтобы получить синергический эффект для снижения репликации HBV; необязательно фармацевтическая композиция может содержать по меньшей мере один дополнительный активный ингредиент;

- фармацевтической композиции, содержащей IFN- α или его ПЭГилированную форму, для применения при лечении инфекции, вызванной вирусом гепатита В, особенно хронического гепатита В, в сочетании с лечением агонистом FXR, где агонист FXR и IFN- α используются таким образом, чтобы получить синергический эффект для снижения репликации HBV; необязательно фармацевтическая композиция может содержать по меньшей мере один дополнительный активный ингредиент;

- применению фармацевтической композиции, содержащей агонист FXR, для изготовления лекарственного средства для лечения инфекции, вызванной вирусом гепатита В, особенно хронического гепатита В, в сочетании с лечением интерфероном- α или его ПЭГилированной формой, где агонист FXR и IFN- α используют для получения синергического эффекта снижения репликации HBV; необязательно фармацевтическая композиция может содержать по меньшей мере один дополнительный активный ингредиент;

- применению фармацевтической композиции, содержащей IFN- α или его ПЭГилированную форму, для изготовления лекарственного средства для лечения инфекции вируса гепатита В, особенно хронического гепатита В, в сочетании с лечением агонистом FXR, где агонист FXR и IFN- α используют для получения синергического эффекта снижения репликации HBV; необязательно фармацевтическая композиция может содержать по меньшей мере один дополнительный активный ингредиент;

- применению фармацевтической композиции, содержащей агонист FXR и IFN- α или его ПЭГилированную форму, и необязательно фармацевтически приемлемый носитель для изготовления лекарственного средства для лечения инфекции, вызванной вирусом гепатита В, особенно хронического гепатита В, где агонист FXR и IFN- α используются для получения синергического эффекта снижения репликации HBV; необязательно фармацевтическая композиция может содержать по меньшей мере один дополнительный активный ингредиент;

- способу лечения инфекции, вызванной вирусом гепатита В, особенно хронического гепатита В, у субъекта, нуждающегося в этом, включающему введение эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей а) агонист FXR, б) IFN- α или его ПЭГилированную форму и фармацевтически приемлемый носитель, где агонист FXR и IFN- α используются для получения синергического эффекта снижения репликации HBV; необязательно, фармацевтическая композиция может содержать по

меньшей мере один дополнительный активный ингредиент, или способ может дополнительно включать введение по меньшей мере одного дополнительного активного ингредиента;

- способу лечения инфекции, вызванной вирусом гепатита В, особенно хронического гепатита В, у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей агонист FXR, и эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей IFN- α или его ПЭгилированную форму, где агонист FXR и IFN- α используются для получения синергического эффекта для снижения репликации HBV; необязательно, одна из фармацевтических композиций может содержать по меньшей мере один дополнительный активный ингредиент, или способ может дополнительно включать введение по меньшей мере одного дополнительного активного ингредиента.

Агонисты FXR хорошо известны специалистам в данной области техники.

Например, специалист в данной области может легко идентифицировать агонист FXR из следующих публикаций (раскрытие которых включено в настоящий документ ссылкой):

Abenavoli L, et al. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2018 Oct 11;11(4). pii: E104. doi: 10.3390/ph11040104. Review.

Adorini L, et al. *Drug Discov Today*. 2012 Sep;17(17-18):988-97. doi: 10.1016/j.drudis.2012.05.012. Epub 2012 May 29. Review.

Akwabi-Ameyaw A, et al. *Bioorg Med Chem Lett*. 2009 Aug 15;19(16):4733-9. doi: 10.1016/j.bmcl.2009.06.062. Epub 2009 Jun 21.

Akwabi-Ameyaw A, et al. *Bioorg Med Chem Lett*. 2008 Aug 1;18(15):4339-43. doi: 10.1016/j.bmcl.2008.06.073. Epub 2008 Jun 28.

Akwabi-Ameyaw A, et al. *Bioorg Med Chem Lett*. 2011 Oct 15;21(20):6154-60. doi: 10.1016/j.bmcl.2011.08.034. Epub 2011 Aug 11.

Baghdasaryan A, et al. *Hepatology*. 2011 Oct;54(4):1303-12. doi: 10.1002/hep.24537.

Bass JY, et al. *Bioorg Med Chem Lett*. 2009 Jun 1;19(11):2969-73. doi: 10.1016/j.bmcl.2009.04.047. Epub 2009 Apr 18.

Bass JY, et al. *Bioorg Med Chem Lett*. 2011 Feb 15;21(4):1206-13. doi: 10.1016/j.bmcl.2010.12.089. Epub 2010 Dec 23.

Buijsman et al., *Curr. Med. Chem.* 2005, 12, 1017

Carino et al, *Sci Rep*. 2017 Feb 16;7:42801. doi: 10.1038/srep42801.

Chiang PC, et al. *J Pharm Sci*. 2011 Nov;100(11):4722-33. doi: 10.1002/jps.22664. Epub 2011 Jun 9.

- Crawley, *Expert Opin. Ther. Pat.* 2010, 20, 1047
- Feng S, et al. *Bioorg Med Chem Lett.* 2009 May 1;19(9):2595-8. doi: 10.1016/j.bmcl.2009.03.008. Epub 2009 Mar 9.
- Festa et al, *Front Pharmacol.* 2017 Mar 30;8:162. doi: 10.3389/fphar.2017.00162. eCollection 2017.
- Finamore et al, *Sci Rep.* 2016 Jul 6;6:29320. doi: 10.1038/srep29320.
- Flatt B, et al. *J Med Chem.* 2009 Feb 26;52(4):904-7. doi: 10.1021/jm8014124.
- Gege et al, *Curr Top Med Chem.* 2014;14(19):2143-58.
- Gege et al, *Handbook of Experimental Pharmacology*, doi: 10.1007/164_2019_232..
- Genin et al, *J Med Chem.* 2015 Dec 24;58(24):9768-72. doi: 10.1021/acs.jmedchem.5b01161. Epub 2015 Dec 2.
- Ghebremariam YT, et al. *PLoS One.* 2013 Apr 4;8(4):e60653. doi: 10.1371/journal.pone.0060653. Print 2013.
- Gioiello A, et al. *Bioorg Med Chem.* 2011 Apr 15;19(8):2650-8. doi: 10.1016/j.bmc.2011.03.004. Epub 2011 Mar 10.
- Hoekstra M, et al. *Mol Cell Endocrinol.* 2012 Oct 15;362(1-2):69-75. doi: 10.1016/j.mce.2012.05.010. Epub 2012 May 27.
- Iguchi Y, et al. *Steroids.* 2010 Jan;75(1):95-100. doi: 10.1016/j.steroids.2009.11.002. Epub 2009 Nov 12.
- Kinzel et al, *Bioorg Med Chem Lett.* 2016 Aug 1;26(15):3746-53. doi: 10.1016/j.bmcl.2016.05.070. Epub 2016 May 24.
- Lin HR. *Bioorg Med Chem Lett.* 2012 Jul 15;22(14):4787-92. doi: 10.1016/j.bmcl.2012.05.057. Epub 2012 May 23.
- Lundquist JT, et al. *J Med Chem.* 2010 Feb 25;53(4):1774-87. doi: 10.1021/jm901650u.
- Ma Y, et al. *Pharm Res.* 2013 May;30(5):1447-57. doi: 10.1007/s11095-013-0986-7. Epub 2013 Feb 1.
- Marinozzi M, et al. *Bioorg Med Chem.* 2013 Jul 1;21(13):3780-9. doi: 10.1016/j.bmc.2013.04.038. Epub 2013 Apr 23.
- Massafra et al. *Pharmacol Ther.* 2018 Nov;191:162-177. doi: 10.1016/j.pharmthera.2018.06.009. Epub 2018 Jun 20.
- Misawa T, et al. *Bioorg Med Chem Lett.* 2012 Jun 15;22(12):3962-6. doi: 10.1016/j.bmcl.2012.04.099. Epub 2012 Apr 30.
- Pellicciari et al, *J Med Chem.* 2016 Oct 4.
- Richter HG, et al. *Bioorg Med Chem Lett.* 2011 Feb 15;21(4):1134-40. doi: 10.1016/j.bmcl.2010.12.123. Epub 2010 Dec 31.

Rizzo G, et al. *Mol Pharmacol*. 2010 Oct;78(4):617-30. doi: 10.1124/mol.110.064501. Epub 2010 Jul 14.

Roda et al, *J Pharmacol Exp Ther*. 2014 Jul;350(1):56-68. doi: 10.1124/jpet.114.214650. Epub 2014 May 1.

Schuster D, et al. *Bioorg Med Chem*. 2011 Dec 1;19(23):7168-80. doi: 10.1016/j.bmc.2011.09.056. Epub 2011 Oct 4.

Schwabl et al, *J Hepatol*. 2017 Apr;66(4):724-733. doi: 10.1016/j.jhep.2016.12.005. Epub 2016 Dec 18.

Samlley et al, *Bioorg Med Chem Lett*. 2015 Jan 15;25(2):280-4. doi: 10.1016/j.bmcl.2014.11.050. Epub 2014 Nov 26.

Sepe et al. *Expert Opin Ther Pat*. 2018 May;28(5):351-364. doi: 10.1080/13543776.2018.1459569. Epub 2018 Apr 13. Review.

Sepe et al. *Expert Opin Ther Pat*. 2015;25(8):885-96. doi: 10.1517/13543776.2015.1045413. Review.

Soisson SM, et al. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Apr 8;105(14):5337-42. doi: 10.1073/pnas.0710981105. Epub 2008 Apr 7.

Townsend SA, Newsome PN. *Aliment Pharmacol Ther*. 2017 Sep;46(5):494-507. doi: 10.1111/apt.14210. Epub 2017 Jul 4.

Tully et al, *J Med Chem*. 2017 Dec 28;60(24):9960-9973. doi: 10.1021/acs.jmedchem.7b00907. Epub 2017 Dec 8.

Wang et al, *J Am Soc Nephrol*. 2018 Jan;29(1):118-137. doi: 10.1681/ASN.2017020222. Epub 2017 Oct 31.

Wang et al, *Bioorg Med Chem Lett*. 2017 Aug 1;27(15):3386-3390. doi: 10.1016/j.bmcl.2017.06.003. Epub 2017 Jun 3.

Wang H, et al. *Expert Opin Ther Pat*. 2018 Nov;28(11):765-782. doi: 10.1080/13543776.2018.1527906. Epub 2018 Oct 8. Review

Watanabe M, et al. *J Biol Chem*. 2011 Jul 29;286(30):26913-20. doi: 10.1074/jbc.M111.248203. Epub 2011 Jun 1.

Yu D, et al. *Steroids*. 2012 Nov;77(13):1335-8. doi: 10.1016/j.steroids.2012.09.002. Epub 2012 Sep 21.

Zhang S, et al. *J Hepatol*. 2009 Aug;51(2):380-8. doi: 10.1016/j.jhep.2009.03.025. Epub 2009 May 18.

Как правило, агонисты FXR включают класс стероидных агонистов FXR и нестероидных агонистов FXR.

В некоторых воплощениях изобретения агонист FXR выбирают из

низкомолекулярных соединений, которые действуют как модуляторы FXR, которые были раскрыты в следующих публикациях: EP1392714; EP1568706; JP2005281155; US20030203939; US2005080064; US2006128764; US20070015796; US20080038435; US20100184809; US20110105475; US6,984,560; WO2000037077; WO200040965; WO200076523; WO2003015771; WO2003015777; WO2003016280; WO2003016288; WO2003030612; WO2003016288; WO2003080803; WO2003090745; WO2004007521; WO2004048349; WO2004046162; WO2004048349; WO2005082925; WO2005092328; WO2005097097; WO2007076260; WO2007092751; WO2007140174; WO2007140183; WO2008002573; WO2008025539; WO2008025540; WO200802573; WO2008051942; WO2008073825; WO2008157270; WO2009005998; WO2009012125; WO2009027264; WO2009080555; WO2009127321; WO2009149795; WO2010028981; WO2010034649; WO2010034657; WO2017218330; WO2017218379; WO2017201155; WO2017201152; WO2017201150; WO2017189652; WO2017189651; WO2017189663; WO2017147137; WO2017147159; WO2017147174; WO2017145031; WO2017145040; WO2017145041; WO2017133521; WO2017129125; WO2017128896; WO2017118294; WO2017049172; WO2017049176; WO2017049173; WO2017049177; WO2016173397; WO2016173493; WO2016168553; WO2016161003; WO2016149111; WO2016131414; WO2016130809; WO2016097933; WO2016096115; WO2016096116; WO2016086115; WO2016073767; WO2015138986; WO2018152171; WO2018170165; WO2018170166; WO2018170173; WO2018170182; WO2018170167; WO2017078928; WO2014184271; WO2013007387; WO2012087519; WO2011020615; WO2010069604; WO2013037482; US2017275256; WO2005080064; WO2018190643; WO2018215070; WO2018215610; WO2018214959; WO2018081285; WO2018067704; WO2019007418; WO2018059314; WO2017218337; WO2020231917; WO2020211872; WO2020168143; WO2020168148; WO2020156241; WO2020150136; WO2020114307; WO2020061118; WO2020061114; WO2020061112; WO2020061113; WO2020061116; WO2020061117; WO2020011146; WO2020001304; WO2019160813; WO2019120088; WO2019118571; WO2019089667; WO2019089672; WO2019089665; WO2019089664; WO2019089670; раскрытие которых включено в настоящий документ ссылкой.

В одном аспекте агонистом FXR могут быть любые агонисты FXR, раскрытые в следующих патентных заявках: WO2017/049172, WO2017/049176, WO2017/049173, WO2017/049177, WO2018/170165, WO2018/170166, WO2018/170173, WO2018/170182 и WO2018/170167.

Конкретные примеры агонистов FXR включают, без ограничения указанным, EYP001, GW4064 (как описано в публикации РСТ № WO 00/37077 или в US

2007/0015796), 6-этил-хенодезоксихолевую кислоту, особенно 3 α ,7 α -дигидрокси-7 α -дигидрокси-6 α -этил-5 β -холан-24-овую кислоту, также обозначаемую как INT-747 (OCA); INT-777; 6-этил-урсодезоксихолевую кислоту, INT-1103, UPF-987, WAY-362450, MFA-1, GW9662, T0901317, фексарамин, 3 β -азидо-6 α -этил-7 α -гидрокси-5 β -холан-24-овую кислоту, GS-9674 (Cilofexor) (Phenex Pharmaceuticals AG), тропифексор (LJN452), LMB763 (нидифексор), PX-102 (PX-20606), PX-104 (фенекс 104), EDP-297, EDP-305, TERN-101 (LY2562175), MET-409, MET-642, WAY362450, фексарамин, в частности фексарамин-3 (Fex-3), AGN-242266 (бывший AKN-083, Allergan), BAR502, BAR704, PX20606, PX20350, 3 α ,7 α ,11 β -тригидрокси-6 α -этил-5 β -холан-24-овую кислоту (TC-100), 6-(4-{[5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил]метокси}пиперидин-1-ил)-1-метил-1H-индол-3-карбоновую кислоту, 3,6-диметил-1-(2-метилфенил)-4-(4-феноксифенил)-4,8-дигидро-1H-пиразоло[3,4-e][1,4]тиазепин-7-он; обетихолевую кислоту, холевую кислоту, дезоксихолевую кислоту, гликохолевую кислоту, гликодезоксихолевую кислоту, таурохолевую кислоту, тауродигидрофузидат, тауродезоксихолевую кислоту, холат, гликохолат, дезоксихолат, таурохолат, тауродезоксихолат, хенодезоксихолевую кислоту, урсодезоксихолевую кислоту, тауроурсодезоксихолевую кислоту, гликоурсодезоксихолевую кислоту, 7-В-метилхолевую кислоту, метиллитохолевую кислоту, GSK-8062 (CAS № 943549-47-1). В некоторых воплощениях агонист FXR выбран из природных желчных кислот, предпочтительно хенодезоксихолевой кислоты [CDCA] или CDCA, конъюгированной с таурином или глицином [тауро-CDCA или глико-CDCA], и синтетических производных природных желчных кислот, предпочтительно 6-этил-CDCA или конъюгированной с таурином или глицином 6-этил-CDCA, природных нестероидных агонистов, предпочтительно дитерпеноидов, таких как кафестол и кахвеол, или синтетических нестероидных агонистов FXR.

В некоторых воплощениях агонист FXR выбран из группы, состоящей из обетихолевой кислоты (Intercept Pharma), холевой кислоты (CT-RS); GS-9674 (Cilofexor) (Phenex Pharmaceuticals AG), тропифексора (LJN452) (Novartis Pharmaceuticals), LMB763 (нидифексор), PX-102 (PX-20606), PX-104 (фенекс 104), EYP001, OCA, EDP-297, EDP-305, стероидного агониста FXR без карбоновой кислоты (Enanta Pharmaceuticals), турофексората изопропила (Pfizer), INT-767 (Intercept Pharmaceuticals), LY-2562175 (Lilly), AGN-242266 (бывшего AKN-083, Allergan), EP-024297 (Enanta Pharmaceuticals), M-480 (Metacrine), TERN-101 (LY2562175), MET-409 (Metacrine), MET-642 (Metacrine), BAR502, RDX-023 (Ardelyx), GW4064, GW6046, WAY362450, кафестола, фексарамина и соединения PXL007 (также называемого EYP001 или EYP001a), идентифицируемого по CAS № 1192171-69-9 (описано в WO 2009127321). В конкретном воплощении агонист

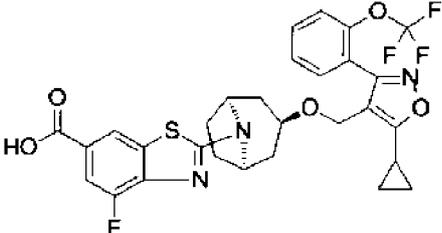
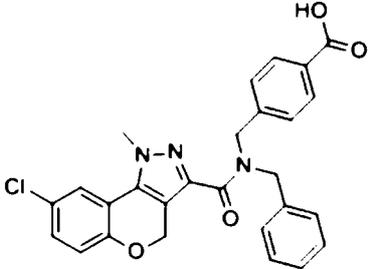
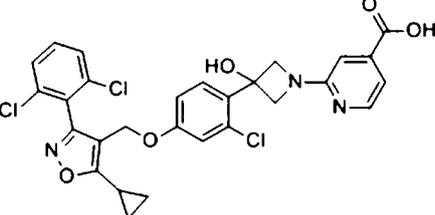
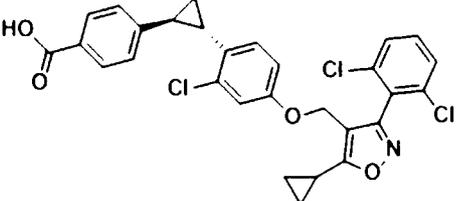
FXR выбран из группы, состоящей из INT-747, соединения, идентифицированного EDP-305, стероидного агониста FXR без карбоновой кислоты (Enanta Pharmaceuticals) и соединения, идентифицированного CAS № 1192171-69-9 (описанного в WO 2009127321).

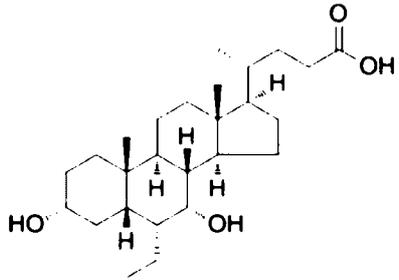
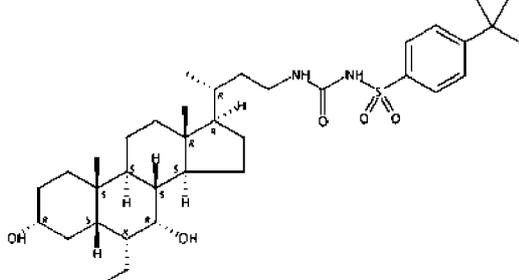
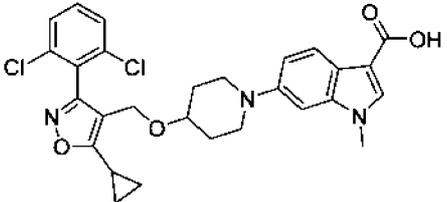
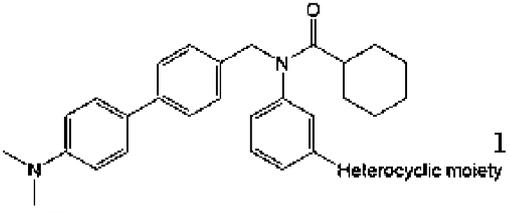
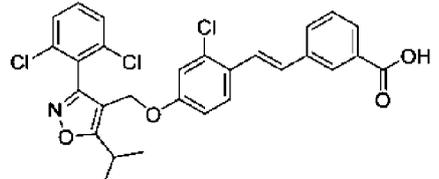
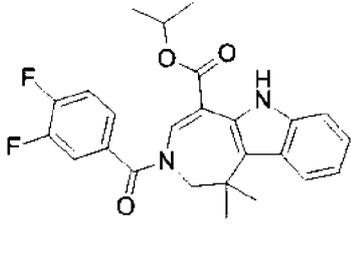
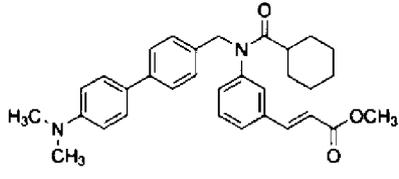
В конкретном аспекте агонист FXR выбирают из группы, состоящей из LJN452 (Тропифексора), GS-9674 (Цилофексора), LMB763 (Нидуфексора), PX-102 (PX-20606), PX-104 (Фенекс 104), OCA (Окалива), EDP-297, EDP-305, TERN-001, MET-409, MET-642, GW4064, WAY362450 (турофексората изопропила), фексарамина, AGN242266 (AKN-083), BAR502 и PXL007 (также называемый EYP001).

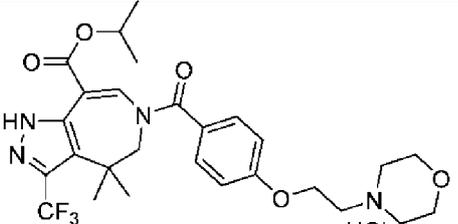
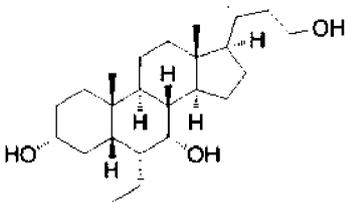
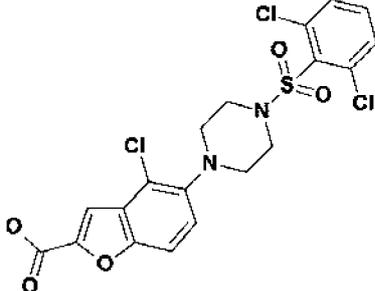
В особом аспекте агонист FXR выбирают из группы, состоящей из OCA (Окалива) (Intercept), EDP-297 (Enanta), EDP-305 (Enanta), GS-9674 (цилофексора) (Gilead), TERN-001 (TERNS), MET-409 (Metacrine), MET-642 (Metacrine), LJN452 (тропифексора) (Novartis), LMB763 (нидуфексора) (Novartis) и AGN242266 (AKN-083) (Abbvie).

В конкретном аспекте агонист FXR выбран из группы, состоящей из соединения, раскрытого в таблице 1.

Таблица 1

<p>LJN452 (Тропифексор) Номер Cas 1383816-29-2 2-(3-((5-циклопропил-3-(2-(трифторметокси)фенил)изоксазол-4-ил)метокси)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-ил)-4-фторбензо[d]тиазол-6-карбоновая кислота</p>	
<p>LMB763 (Нидуфексор) Номер Cas 1773489-72-7 4-[(N-бензил-8-хлор-1-метил-1,4-дигидро[1]бензопирано[4,3-с]пиразол-3-карбоксамидо)метил]бензойная кислота</p>	
<p>GS-9674 (Цилофексор) Номер Cas 1418274-28-8 2-[3-[2-Хлор-4-[[5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)-4-изоксазол-ил]метокси]фенил]-3-гидрокси-1-азетидинил]-4-пиридинкарбоновая кислота</p>	
<p>PX-102 (PX-20606) Номер Cas 1268244-85-4 4-(2-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)циклопропил)бензойная кислота</p>	
<p>PX-104 или Фенекс 104</p>	<p>энантиомер PX-102</p>

<p>ОСА (Окалива или INT-747) Номер Cas 459789-99-2 Холан-24-овая кислота, 6-этил-3,7-дигидрокси-, (3α,5β,6α,7α)-</p>	
<p>EDP-305 Номер Cas 1933507-63-1 Бензолсульфонамид, 4-(1,1-диметилэтил)-N- [[[3α,5β,6α,7α)-6-этил-3,7-дигидрокси-24- норхолан-23-ил]амино]карбонил]-</p>	
<p>TERN-101 (LY2562175) Номер Cas 1103500-20-4 6-(4-{[5-Циклопропил-3-(2,6- дихлорфенил)изоксазол-4- ил]метокси} пиперидин-1-ил)-1-метил-1H-индол- 3-карбоновая кислота</p>	
<p>МЕТ409 МЕТ642</p>	<p>Разработчик: Metacrine Раскрыто в WO2017049173</p>  <p>1 – Гетероциклическая группа</p>
<p>GW4064 Номер Cas 278779-30-9 3-[2-[2-Хлор-4-[[3-(2,6-дихлорфенил)-5-(1- метилэтил)-4- изоксазол-4-ил]метокси]фенил]этилен]бензойная кислота</p>	
<p>WAY362450 (турофексорат изопропил или XL335 или FXR450) Номер Cas 629664-81-9 1-метилэтиловый эфир 3-(3,4-дифторбензоил)- 1,1-диметилен-1,2,3,6-тетрагидроазепино[4,5- b]индол-5-карбоновой кислоты, 3-(3, 1- метилэтиловый эфир 4-дифторбензоил)-1,2,3,6- тетрагидро-1,1-диметилазепино[4,5-b]индол-5- карбоновой кислоты</p>	
<p>фексарамин Номер Cas 574013-66-4 Метилый эфир 3-[3- [(циклогексилкарбонил)[4'-(диметиламино)[1,1'- бифенил]-4-ил]метил]амино]фенил]-2- пропеновой кислоты</p>	

AGN242266 (AKN-083)	
BAR502 Номер Cas 1612191-86-2 6 α -этил-3 α , 7 α -дигидрокси-24-нор-5 β -холан-23-ол	
EYP001 Номер Cas 1192171-69-9	

и любую их фармацевтически приемлемую соль.

В конкретном аспекте агонист FXR выбран из группы, состоящей из тропифексора, нидуфексора, окалива и GW4064 или любой их фармацевтически приемлемой соли.

В предпочтительном аспекте изобретения агонист FXR не является EYP001.

Агонист FXR можно вводить один, два или три раза в сутки, предпочтительно один или два раза, например, утром (например, между 6 и 10 часами утра) или вечером (например, между 6 и 10 часами вечера). В одном аспекте агонист FXR вводят один раз в сутки. В другом аспекте агонист FXR вводят два раза в сутки. Агонист FXR предпочтительно вводят каждый день. Однако также можно предусмотреть введение каждые 2, 3, 4, 5, 6 или 7 дней. Суточная доза агониста FXR может варьировать в широком диапазоне от 1 мкг до 1000 мг на взрослого человека в день. Агонист FXR можно вводить перорально, сублингвально, подкожно, внутримышечно, внутривенно, чрескожно, местно или ректально, предпочтительно перорально.

В конкретном аспекте агонист FXR следует вводить в субтерапевтическом количестве. Необязательно, дозировка агониста FXR может быть уменьшена по меньшей мере в 2, 3, 4 или 5 раз, предпочтительно по меньшей мере в 2 или 3 раза. Необязательно, дозировка агониста FXR может находиться в диапазоне от 0,001 до 200 мг в сутки, или от 50 до 200 мг в сутки, или от 50 до 100 мг в сутки.

В конкретном аспекте доза агониста FXR представляет собой дозу, которая снижена на 25, 50, 70, 80 или 90% по сравнению с терапевтически эффективным количеством, в частности, обычной терапевтической дозой для того же показания и того

же пути введения при использовании в отдельности.

IFN- α может представлять собой, например, IFN- α 1 или IFN- α 2, например, IFN- α 1a, IFN- α 1b, IFN- α 2a, IFN- α 2b, IFN- α 2c или консенсусный IFN- α . В особом аспекте IFN представляет собой IFN- α 2a, IFN- α 2b или их ПЭГилированную форму.

Необязательно, IFN- α выбирают из неполного списка, состоящего из консенсусного IFN- α (например, INFERGEN®, Locteron®), IFN- α 1b (например, HAPGEN®), IFN- α 2a (Роферон-А®, MOR-22, Интер 2А, инмутаг, интерферон), ПЭГилированный IFN- α 2a (например, PEGASYS®, YPEG-IFN α -2a, PEG-INTRON®, пегаферон), IFN- α 2b (например, INTRON A®, алфарона, биоферон, Интер 2В, цитферон, завинекс, ганапар и т.д.), ПЭГилированный IFN- α 2b (например, пегинтрон®, албуферон, AOP2014/P1101, алгерон, Pai Ge Bin) и IFN- α 2c (например, берофор альфа). В конкретном аспекте IFN представляет собой ПЭГилированный IFN- α 2a (например, ПЕГАСИС®) или ПЭГилированный IFN- α 2b (Пегинтрон®).

В одном аспекте IFN α или его ПЭГилированную форму вводят подкожно один раз в неделю; например, при дозировке от 1 мкг до 500 мкг, предпочтительно от 10 мкг до 500 мкг, еще более предпочтительно от 100 мкг до 250 мкг, например, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 или 200 мкг.

Необязательно, IFN α или его ПЭГилированную форму можно вводить в субтерапевтическом количестве.

Необязательно, IFN α или его ПЭГилированная форма и агонист FXR вводят в субтерапевтическом количестве.

Предпочтительно если комбинированная терапия, включающая агонист FXR и IFN- α , эффективна для снижения репликации HBV.

В контексте комбинированного лечения агонистом FXR и IFN- α (т.е. IFN- α 2a, IFN- α 2b или его ПЭГилированной формой) авторы неожиданно обнаружили, что синергический эффект по меньшей мере в два раза сильнее, когда EYP001 вводят один раз в сутки по сравнению с введением два раза в сутки при той же суточной дозировке. Кроме того, авторы обнаружили, что, неожиданно меньше зуда возникает при введении EYP001 один раз в сутки, а не два раза в сутки. Следовательно, в конкретном аспекте агонист FXR вводят один раз в сутки.

Предпочтительно композиция, дозированная единица или лекарственная форма содержат от 1 мкг до 500 или 1000 мг агониста FXR для симптоматического подбора дозы для пациента, подлежащего лечению.

В одном аспекте лекарственная форма может представлять собой дозированную форму с линией разлома. Альтернативно суточная доза может быть обеспечена введением

нескольких лекарственных форм.

Агонист FXR можно комбинировать с фармацевтически приемлемыми эксципиентами и, необязательно, матрицами с замедленным высвобождением, такими как биоразлагаемые полимеры, с образованием фармацевтических композиций.

«Фармацевтически» или «фармацевтически приемлемый» относится к молекулярным сущностям и композициям, которые не продуцируют побочные аллергические или другие неблагоприятные реакции при введении млекопитающему, особенно человеку, в случае необходимости. Фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель относится к нетоксичному твердому, полутвердому или жидкому наполнителю, разбавителю, инкапсулирующему материалу или вспомогательному составу любого типа.

Фармацевтические композиции, содержащие агонист FXR, могут подходить для перорального, подъязычного, подкожного, внутримышечного, внутривенного, чрескожного, местного или ректального введения, предпочтительно для перорального введения.

Агонист FXR, отдельно или в комбинации с другим активным началом, можно вводить в форме единичного введения в виде смеси с обычными фармацевтическими носителями. Подходящие единичные формы введения содержат формы для перорального введения, такие как таблетки, гелевые капсулы, порошки, гранулы и пероральные суспензии или растворы, подъязычные и буккальные формы введения, аэрозоли, импланты, подкожные трансдермальные, местные, внутрибрюшинные внутривенные, подкожные, чрескожные, интратекальные и интраназальные формы введения и ректальные формы введения.

В предпочтительном воплощении пероральная дозированная форма представляет собой капсулу или таблетку. Необязательно пероральная дозированная форма представляет собой дозированную форму с насечками. Необязательно дозированная форма может быть разделена на четыре части, три части или две части.

Необязательно лечение длится от 2-4 месяцев до 24 месяцев, например, от 2 до 24 месяцев или от 2 до 12 месяцев, например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 или 24 месяца. В конкретном аспекте лечение длится от 12 до 52 недель, предпочтительно от 45 до 52 недель, например 48 недель.

Агонист FXR и IFN- α или его ПЭГилованную форму можно использовать в комбинации по меньшей мере с одним дополнительным активным ингредиентом. Предпочтительно дополнительный активный ингредиент представляет собой противовирусное средство, более конкретно противовирусное средство, обладающее

активностью против HBV. В предпочтительном аспекте по меньшей мере один дополнительный активный ингредиент представляет собой ингибитор полимеразы, выбранный из группы, состоящей из L-нуклеозидов, аналогов дезоксигуанозина и нуклеозидфосфонатов. В очень конкретном аспекте по меньшей мере один дополнительный активный ингредиент выбран из группы, состоящей из ламивудина, телбивудина, эмтрицитабина, энтекавира, адефовира и тенофовира.

Более того, аспекты и преимущества настоящего изобретения, будут описаны в представленных ниже примерах, которые должны рассматриваться как иллюстрирующие и не ограничивающие.

Примеры

Пример 1. Агонист FXR EYP001

Пациенты с хронической инфекцией HBV (мужчины (n = 39) и женщины (n = 34)) прошли 4-недельный курс лечения либо ежедневным пероральным приемом монотерапии агонистом FXR EYP001a, либо плацебо или энтекавиром (ETV) в части А исследования (n = 48) или в комбинации с интерфероном (n=23, еженедельные подкожные инъекции ПЭГилированного IFN α 2a, PEG-IFN) в части В. Характеристики пациентов: средний возраст 39,7 года (диапазон: 19–63); 6 из 73 были HBsAg-положительными; 70% ранее не получали лечения; средние исходные уровни ДНК HBV 4,2 (\pm 1,5 SD) log₁₀ МЕ/мл, HBsAg 3,5 (\pm 0,8 SD) log₁₀ МЕ/мл и генотипы А (25), В(8), С(10), D(7) и Е (4). Подробные вирусологические характеристики приведены в таблицах В и С. Взаимодействие FXR со всеми дозами EYP001 приводило к снижению С4 и увеличению FGF19 (данные не показаны).

В конце лечения на 29 день 400 мг EYP001 один раз в сутки снижали среднее значение HBsAg на -0,1 log₁₀ МЕ/мл (p<0,05). Удивительно, но ранние маркеры репликации HBV pgRNA и HBcrAg показали синергическое снижение, когда EYP001 комбинировали с pegIFN, но не с монотерапией peg-IFN или EYP001 (таблица А). Среднее снижение pgRNA HBV составило -1,7 log₁₀ копий/мл (p<0,05), а среднее снижение HBcrAg составило -0,9 log₁₀ МЕ/мл (p=0,15), в то время как в группе плацебо + Peg-IFN не было значительного снижения (0,2 log₁₀). Копий/мл pgRNA, 0,4 log₁₀ МЕ/мл HBcrAg). Этот эффект сохранялся на 35 день, т.е. через 7 дней после окончания лечения (ЕoТ, фиг. 1 и фиг. 2). Более сильный синергический эффект наблюдается при введении один раз в сутки по сравнению с введением два раза в сутки.

Таблица А

Лечение	HBVpgRNA Log10 копий мл				HBcrAg Log10 МЕ мл		
	n	Среднее	SD	P-значение (a)	Среднее	SD	P-значение (a)
ETV (открытый 0,5 мг/день)	7	-0,3	2	0,67	0,03	0,6	0,91
EYP001a (1x100 мг/день)	7	0,5	1,2	0,33	-0,3	1,1	0,45
EYP001a (1x200 мг/день)	8	0,4	1,7	0,59	0,2	1,1	0,56
EYP001a (1x400 мг/день)	8	0,2	1,4	0,65	0,02	0,1	0,50
EYP001a (2x200 мг/день)	7	-0,1	1,9	0,92	1,2	2,2	0,19
EYP001a (1x300 мг/день) + ПЭГ-IFN	8	-1,7	1,9	0,04 *	-0,9	1,6	0,15
EYP001a (1x150 мг/день) + ПЭГ-IFN	8	-0,9	1,8	0,19	-0,2	0,2	0,06
Плацебо + ПЭГ-IFN	8	-0,2	1	0,52	-0,4	0,9	0,30

(*) Из парного критерия Стьюдента.

Таблица В. Сводка параметров инфекции HBV на исходном уровне для части А

	EYP001a 1x100 мг (N=7)	EYP001a 1x200 мг (N=8)	EYP001a 1x400 мг (N=9)	EYP001a 2x200 мг (N=9)	EYP001a Общий (N=33)	ETV 0,5 (мг/день) (N=7)	Все субъекты (N=48)
ALT (среднее, SD)	36,2 (20,8)	28,6 (11,0)	22,3 (6,1)	32,4 (12,5)	29,7 (13,5)	24,0 (10,9)	28,4 (12,4)
Лечение ранее не получавших лечение	5 (71%)	6 (75%)	8 (89%)	8 (89%)	27 (82%)	4 (57%)	35 (73%)
log10 Среднего исходного значения ДНК HBV МЕ/мл (SD)	4,76 (1,15)	3,46 (0,44)	3,84 (0,77)	4,35 (1,9)	4,08 (1,26)	3,82 (0,70)	4,03 (1,20)
log10 HBsAg МЕ/мл (SD)	3,4 (0,54)	3,5 (0,6)	3,7 (0,6)	3,3 (1,0)	3,5 (0,7)	3,2 (0,6)	3,5 (0,7)
HBV генотип А	2 (29%)	2 (25%)	2 (22%)	3 (33%)	9 (27%)	3 (43%)	12 (25%)
Генотип HBV В или С или D или Е	3 (xx%)	5 (xx%)	5 (%)	3 (%)	16 (%)	1 (14%)	20 (%)
отрицательные по HBsAg	6 (86%)	7 (88%)	9 (100%)	7 (78%)	29 (88%)	7 (100%)	42 (88%)

Таблица С. Сводка параметров инфекции HBV на исходном уровне для части В

	EYP001a (1x300 мг) + ПЭГ-IFN (18 мкг) (N=8)	EYP001a (2x150 мг) + ПЭГ-IFN (18 мкг) (N=9)	EYP001a + ПЭГ-IFN Всего (N=17)	Плацебо + ПЭГ-IFN (18 мкг) (N=8)	Все субъекты (N=25)
ALT (среднее, SD)	34,7 (38,6)	27,3 (13,5)	30,4 (26,2)	32,2 (12,4)	31,0 (22,6)
log10 Среднего исходного значения ДНК HBV МЕ/мл (SD)	4,17 (1,79)	4,26 (1,80)	4,22 (1,74)	4,87 (2,49)	4,42 (1,98)
log10 HBsAg МЕ/мл (SD)	3,8 (0,6)	3,4 (1,1)	3,6 (0,9)	3,9 (0,8)	3,7 (0,9)
Лечение против HBV ранее не получавших лечение	5 (63%)	8 (89%)	13 (76%)	3 (38%)	16 (64%)
HBV генотип А	3 (38%)	1 (11%)	4 (24%)	4 (50%)	8 (32%)
HBV генотип В	1 (13%)	-	1 (6%)	2 (25%)	3 (12%)
HBV генотип С	1 (13%)	2 (22%)	3 (18%)	-	3 (12%)
HBV генотип D	-	1 (11%)	1 (6%)	1 (13%)	2 (8%)
HBV генотип Е	1 (13%)	-	1 (6%)	-	1 (4%)
отрицательный по HBsAg	7 (88%)	7 (78%)	14 (82%)	5 (63%)	19 (76%)
положительные по HBsAg		1 (11%)	1 (6%)	1 (13%)	2 (8%)
положительные по анти- HBsAg	7 (88%)	7 (78%)	14 (82%)	5 (63%)	19 (76%)

Пример 2. Агонист FXR GW4064

Материалы и методы

Первичные гепатоциты человека

Первичные гепатоциты человека (ПГТ) были свежеприготовлены из резекции печени человека, полученной в Центре Леона Берара (Лион) с разрешения министерства Франции (АС 2013-1871, DC 2013 – 1870, AFNOR NF 96 900 sept 2011), как описано ранее в Lecluyse et al (Methods Mol. Biol. Clifton NJ 640, 57–82 (2010)).

Стоки вируса HBV (генотип D, Genbank ID U95551) готовили с использованием клеточной линии HepAD38 в соответствии с ранее описанными протоколами Ladner et al (Antimicrob. Agents Chemother. 41, 1715–1720 (1997)).

Надосадочные жидкости, содержащие частицы HBV, очищали (фильтр 0,45 мкм) и концентрировали с 8% ПЭГ 8000 (Sigma-Aldrich).

ДНК HBV определяли количественно с использованием теста AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV Test (Roche).

Химические реактивы

GW4064 [3-(2,6-дихлорфенил)-4-(3-карбокسي-2-хлорстильбен-4-ил)-оксиметил-5-изопропилизоксазол] представляет собой агонист FXR (EC₅₀ 90 нМ), активный как *in vivo*, так и *in vitro* (Maloney et al., J. Med. Chem. 43, 2971–2974 (2000)). Несмотря на ограниченную биодоступность, GW4064 получил широкое распространение в качестве мощного и селективного агониста FXR и достиг статуса «эталонного соединения» в этой области.

Интерферон альфа-2 (РОФЕРОН-А) был приобретен у компании «Roche».

Количественное определение HB и HBe

Антигены HBs и HBe, секретируемые в надосадочной жидкости клеток, определяли после необходимых разведений с помощью наборов Autobio (AutoBio, Китай) в соответствии с протоколом производителя.

Количественная оценка вирусных РНК с помощью количественной ПЦР

Тотальную РНК получали с использованием NucleoSpin RNA Plus (Macherey-Nagel). После расщепления ДНК ДНКазой TURBO (Ambion) максимально 1000 нг РНК подвергали обратной транскрипции с использованием набора High-Capacity RNA-to-cDNA (Thermo Fisher Scientific). Количественную ПЦР проводили с праймерами HBV-F (5'-AGCTACTGTGGAGTTACTCTCGT-3' SEQ ID NO: 1) и HBV-R (5'-CAAAGAATTGCTTGCCTGAGTG-3' SEQ ID NO: 2) для количественного определения прегеномной/прекоровой РНК HBV. кДНК анализировали с помощью количественной ПЦР (кПЦР) с использованием набора QuantiFast SYBR® Green PCR (Qiagen) на приборе

LightCycler® 480 (Roche) с использованием 45 циклов ПЦР. Все анализы были выполнены в трех повторах. Относительную количественную оценку определяли путем нормализации экспрессии каждого гена по отношению к гену домашнего хозяйства S9 с использованием праймеров S9-F (5'-CCGCGTGAAGAGGAAGAATG-3' SEQ ID NO: 3) и S9-R (5'-TTGGCAGGAAAACGAGACAAT-3' SEQ ID NO: 4).

Результаты. Комбинированное лечение модулятором FXR и IFN- α синергически ингибирует репликацию HBV в ПГТ.

Чтобы определить комбинированное влияние агониста FXR и интерферона-альфа (IFN- α) на инфекцию HBV, инфекцию *in vitro* проводили в первичных гепатоцитах человека (ПГТ). ПГТ естественным образом восприимчивы к инфекции вирионами HBV, продуцируемыми *in vitro*, что приводит к очень высоким уровням репликации вируса.

2 концентрации GW4064 и одна концентрация IFN- α использовались для определения комбинированного воздействия агониста FXR и интерферона-альфа (IFN- α) на репликацию HBV (фиг. 3). При использовании отдельно GW4064 был способен только снижать в зависимости от дозы внутриклеточный уровень РНК HBV и секрецию HBeAg; GW4064 не смог значительно повлиять на вирусную нагрузку и секрецию HBsAg. Только IFN- α в дозе 100 МЕ/мл был способен снижать вирусную нагрузку и секрецию HBeAg, при этом IFN- α почти не влиял на уровень внутриклеточной РНК HBV и секрецию HBsAg. Комбинация обеих молекул приводила к синергическому влиянию на уровень внутриклеточной РНК HBV, а также на секрецию HBeAg и HBsAg; синергический эффект был особенно сильным в отношении секреции HBsAg.

Выводы

В модели ПГТ наблюдался синергизм действия между агонистом FXR (GW4064) и IFN- α . Эта синергия действия была особенно заметна при секреции HBsAg.

Пример 3. Синергический эффект с дополнительными агонистами FXR

Материалы и методы

HepaRG

Линия клеток HepaRG, полученная из клеточной гепатокарциномы человека, может дифференцироваться и восстанавливать многие фенотипические признаки гепатоцитов после 4 недель культивирования в определенных условиях (Hantz, O. et al. J. Gen. Virol. 90, 127–135 (2009)). Клетки HepaRG культивировали, дифференцировали и инфицировали HBV, как описано ранее (Gripon, P. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 99, 15655–15660 (2002); Alfaiate, D. et al. Antiviral Res. 136, 19–31 (2016)). Вкратце, для дифференцировки клетки выдерживали в течение 2 недель в стандартной среде, затем в течение по меньшей мере 2 недель в стандартной среде с добавлением 1,8% ДМСО.

Состав стандартной среды был следующим: среда Вильяма Е с добавлением 10% сыворотки HyCLone FetalClone II (Thermo Fisher Scientific), пенициллина/стрептомицина, L-глутамина, инсулина-трансферрина-селена (Gibco) и 50 мкМ гидрокортизона гемисукцината.

Первичные гепатоциты человека

Первичные гепатоциты человека (ПГГ) были свежеприготовлены из резекции печени человека, полученной в Центре Леона Берара (Лион) с разрешения министерства Франции (AC 2013-1871, DC 2013 – 1870, AFNOR NF 96 900 sept 2011), как описано ранее (Lecluyse, EL & Alexandre, E. *Methods Mol. Biol.* Clifton NJ 640, 57–82 (2010)).

Вирусы

Стоки вируса HBV (генотип D, Genbank ID U95551) готовили с использованием клеточной линии HepAD38 в соответствии с ранее описанными протоколами (Ladner, S.K. et al. *Antimicrob. Agents Chemother.* 41, 1715–1720 (1997)).

Надосадочные жидкости, содержащие частицы HBV, очищали (фильтр 0,45 мкм) и концентрировали с 8% ПЭГ 8000 (Sigma-Aldrich).

ДНК HBV определяли количественно с использованием теста AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV Test (Roche).

Количественный анализ HB

Антиген HBs, секретируемый в надосадочную жидкость клеток, определяли после необходимых разведений с помощью наборов Autobio (AutoBio, Китай) в соответствии с протоколом производителя.

Результаты: комбинированное лечение агонистами FXR и IFN- α синергически ингибирует секрецию HBsAg в клетках ПГГ, инфицированных HBV, и в клетках HepaRG, инфицированных HBV.

Для определения комбинированного воздействия агонистов FXR и интерферона-альфа (IFN- α) на инфекцию HBV, инфекции *in vitro* проводили в первичных гепатоцитах человека (ПГГ) и в дифференцированных клетках HepaRG (dHepaRG). ПГГ естественным образом восприимчивы к инфекции вирионами HBV, продуцируемыми *in vitro*, что приводит к очень высоким уровням репликации вируса. После дифференцировки клетки HepaRG также восприимчивы к заражению вирионами HBV, продуцируемыми *in vitro*, хотя уровень репликации ниже, чем у ПГГ.

В модели ПГГ пять различных агонистов FXR (Вонафексор, Нидуфексор, Тропифексор, ОСА и GW4064) оценивали отдельно или в комбинации с IFN- α на секрецию HBsAg (фиг. 4). Комбинация каждого из пяти агонистов FXR с IFN- α приводила к синергическому эффекту на секрецию HBsAg, несмотря на существенные различия в

структуре тестируемых агонистов FXR.

Синергические эффекты того же типа между агонистом FXR и IFN- α также наблюдались в модели НераRG со всеми оцениваемыми агонистами FXR (фиг. 5).

Выводы

Синергия действия на ингибирование секреции HBsAg между различными агонистами FXR и IFN- α наблюдалась как в модели ППГ, так и в модели НераRG. Поскольку снижение уровня HBsAg в крови хронически инфицированных пациентов рассматривается как следующий шаг в улучшении лечения HBV у человека, полученные результаты перспективны для разработки улучшенного лечения пациентов с хронической HBV-инфекцией.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Агонист фарнезоидного X-рецептора (FXR) для применения в комбинации с интерфероном альфа (IFN- α) для лечения инфекции, вызванной вирусом гепатита В, где агонист FXR и IFN- α используются для получения синергического эффекта для снижения репликации HBV и где агонистом FXR не является EYP001.

2. Агонист FXR для применения по п. 1, отличающийся тем, что агонист FXR выбран из группы, состоящей из LJN452 (тропифексора), LMB763 (нидуфексора), GS-9674 (цилофексора), PX-102 (PX-20606), PX-104. (фенекс 104), OCA (окалива), EDP-297, EDP-305, TERN-101 (LY2562175), MET-409, MET-642, GW4064, WAY362450 (турофексората изопропила), фексарамина, AGN242266 (AKN-083), и BAR502 или любой их фармацевтически приемлемой соли.

3. Агонист FXR для применения по п. 1, отличающийся тем, что агонист FXR выбран из группы, состоящей из тропифексора, нидуфексора, окалива и GW4064 или любой их фармацевтически приемлемой соли.

4. Агонист FXR для применения по любому из пп. 1-3, отличающийся тем, что агонист FXR следует вводить один раз в сутки.

5. Агонист FXR для применения по любому из пп. 1-3, отличающийся тем, что агонист FXR следует вводить два раза в сутки.

6. Агонист FXR для применения по любому из пп. 1-5, отличающийся тем, что IFN- α представляет собой IFN- α 2a, IFN- α 2b или его ПЭГилированную форму.

7. Агонист FXR для применения по любому из пп. 1-5, отличающийся тем, что IFN- α представляет собой ПЭГилированный IFN- α 2a и ПЭГилированный IFN- α 2b.

8. Агонист FXR для применения по любому из пп. 1-7, отличающийся тем, что IFN- α следует вводить в субтерапевтическом количестве.

9. Агонист FXR для применения по любому из пп. 1-8, отличающийся тем, что IFN- α следует вводить подкожно один раз в неделю.

10. Агонист FXR для применения по любому из пп. 1-9, отличающийся тем, что агонист FXR следует вводить в субтерапевтическом количестве.

11. Агонист FXR для применения по любому из пп. 1-10 для применения для лечения хронической инфекции гепатита В.

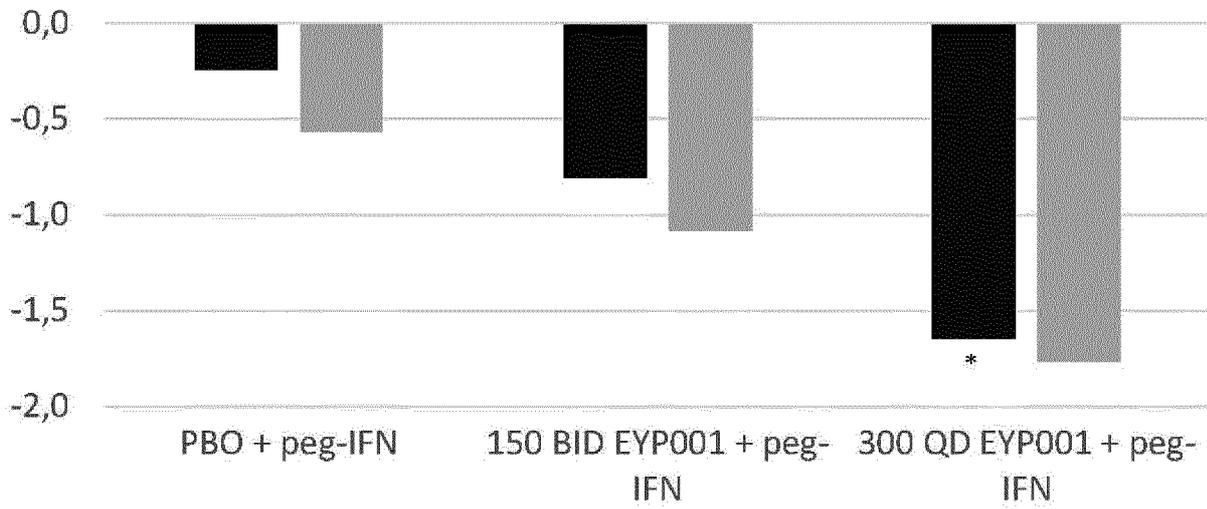
12. Агонист FXR для применения по любому из пп. 1-11, отличающийся тем, что агонист FXR и IFN- α следует вводить в течение периода времени от 5, 6, 7 или 8 недель до 52 недель.

13. Агонист FXR для применения по любому из пп. 1-12, отличающийся тем, что агонист FXR и IFN- α следует использовать в комбинации по меньшей мере с одним

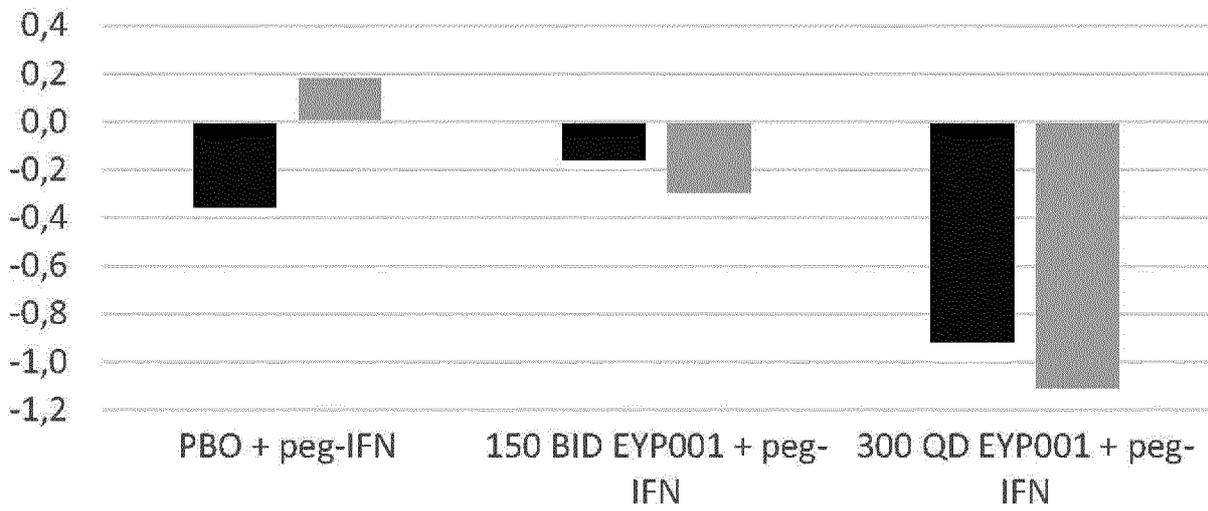
дополнительным активным ингредиентом.

14. Агонист FXR для применения по п. 13, отличающийся тем, что по меньшей мере один дополнительный активный ингредиент представляет собой ингибитор полимеразы, выбранный из группы, состоящей из L-нуклеозидов, аналогов дезоксигуанозина и нуклеозидфосфонатов.

15. Агонист FXR для применения по п. 13, отличающийся тем, что по меньшей мере один дополнительный активный ингредиент выбран из группы, состоящей из ламивудина, телбивудина, эмтрицитабина, энтекавира, адефовира и тенофовира.

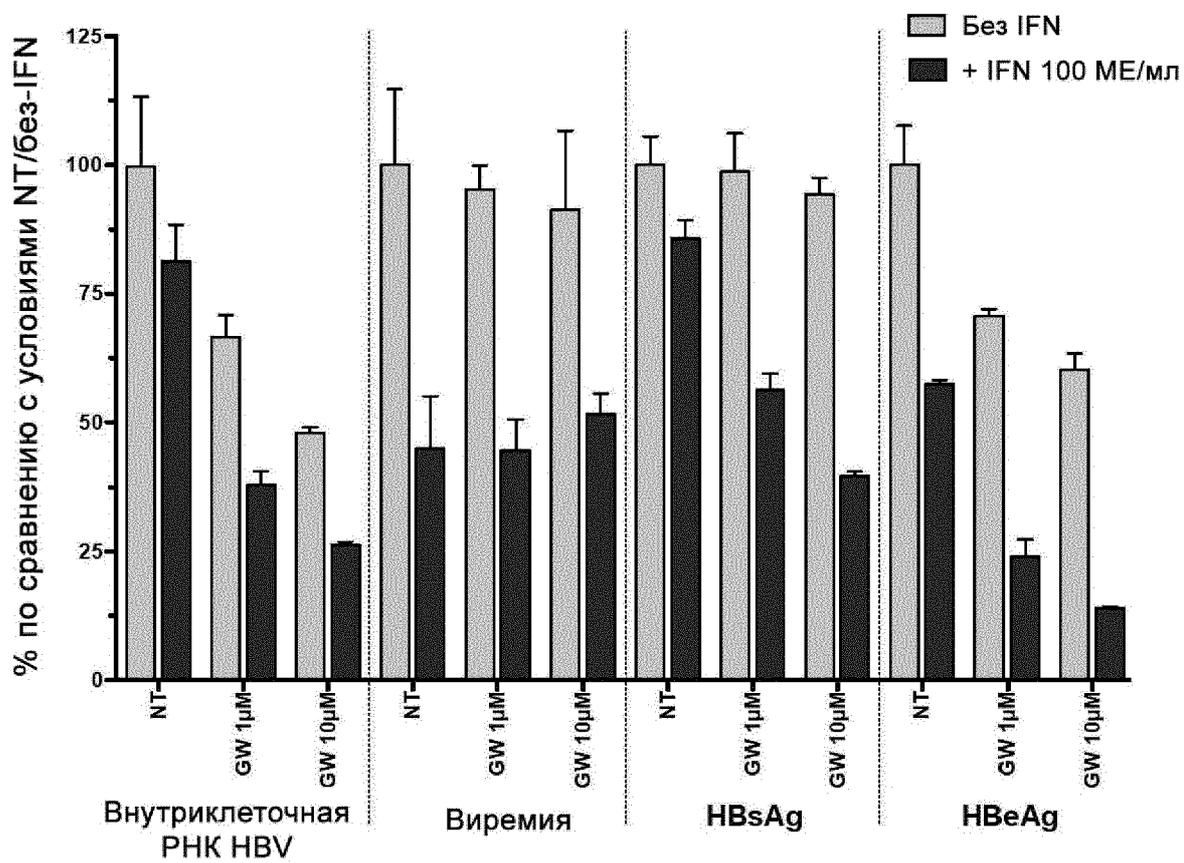


Фиг. 1



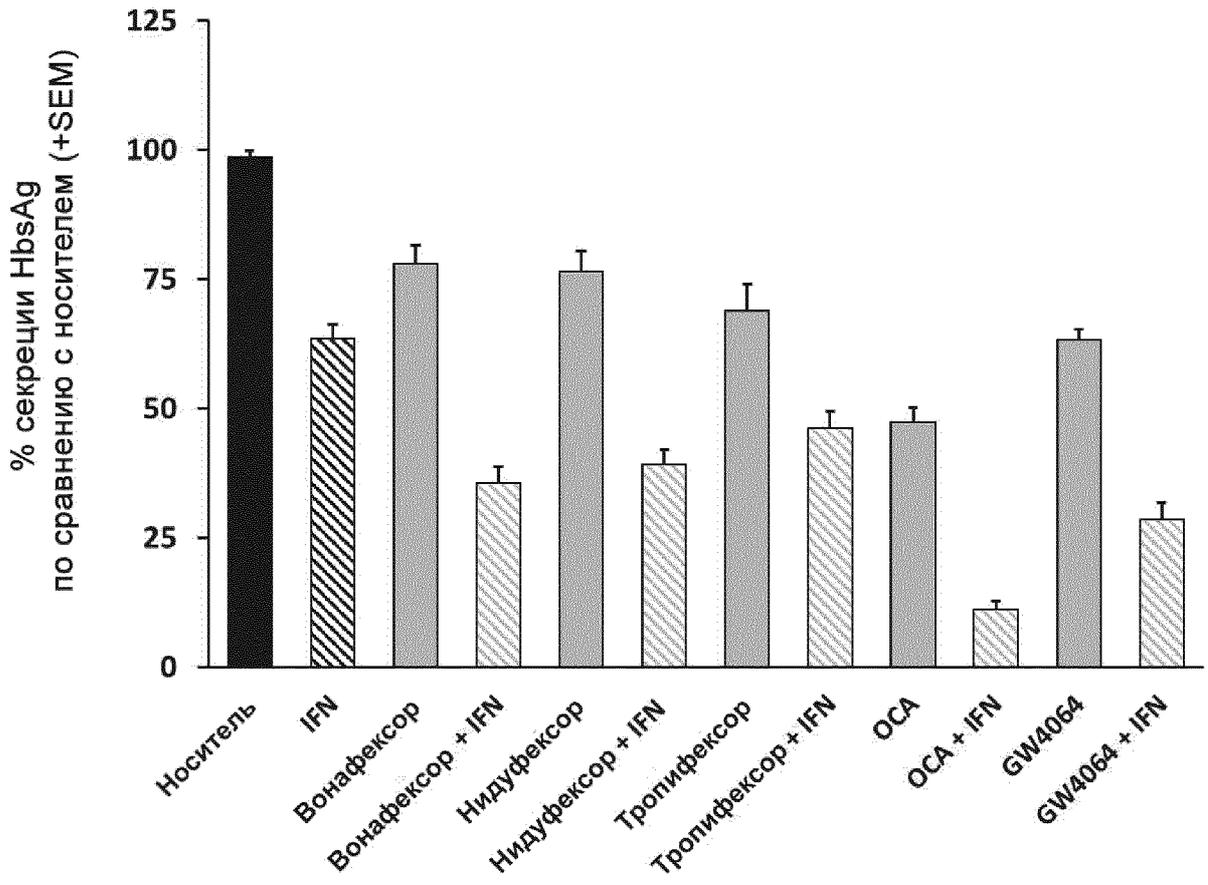
Фиг. 2

Влияние GW4064 +/- IFN на репликацию HBV в ПГГ

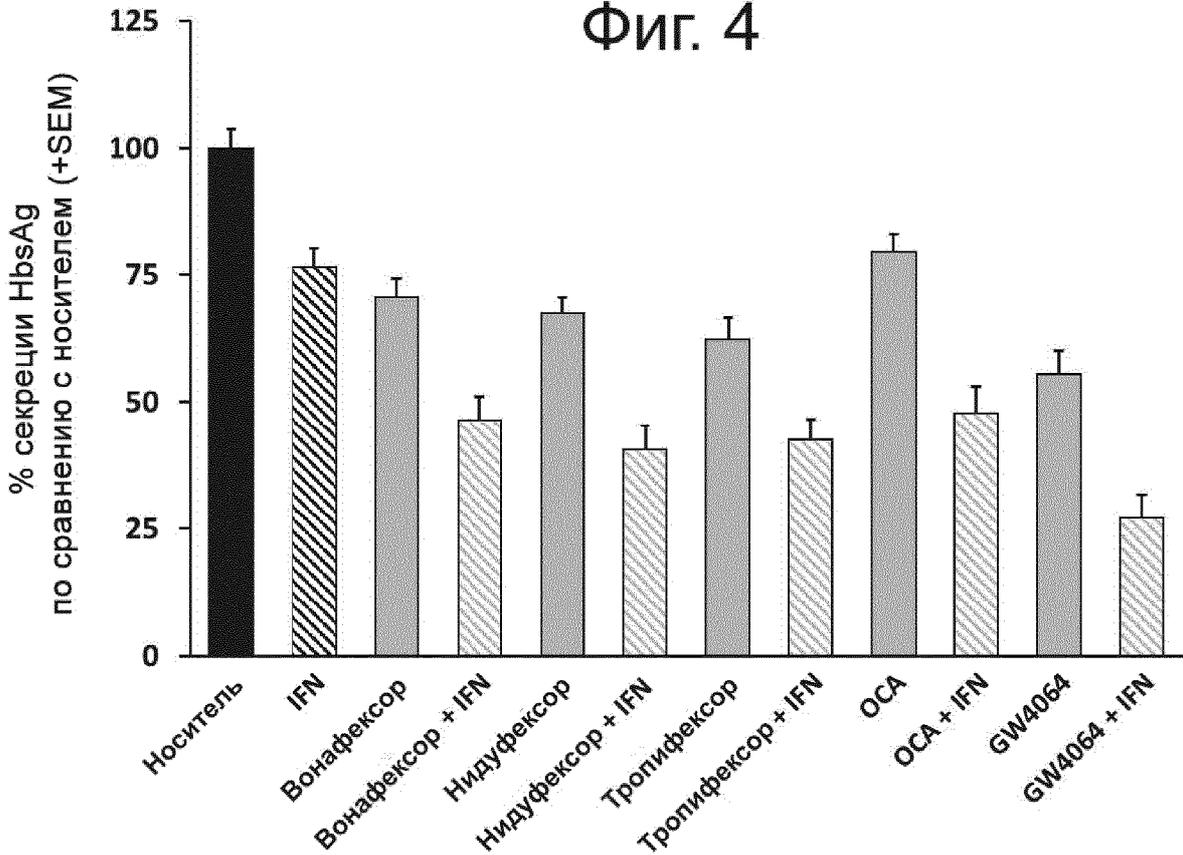


Фиг. 3

3/3



ФИГ. 4



ФИГ. 5