

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 037576

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.04.15

(21) Номер заявки
201892348

(22) Дата подачи заявки
2017.04.14

(51) Int. Cl. *A61K 31/40* (2006.01)
A61K 31/445 (2006.01)
A61K 31/522 (2006.01)
A61K 31/675 (2006.01)
A61K 31/7072 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01)

(54) КОМБИНАЦИИ И СПОСОБЫ, ВКЛЮЧАЮЩИЕ ИНГИБИТОР СБОРКИ КАПСИДА

(31) 62/323,251; 62/421,035

(32) 2016.04.15; 2016.11.11

(33) US

(43) 2019.03.29

(86) PCT/US2017/027802

(87) WO 2017/181141 2017.10.19

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
НОВИРА ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК.
(US); ЯНССЕН САЙЕНСИЗ
АЙРЛЭНД ЮСИ (IE)

(72) Изобретатель:
Хартман Джордж, Флорес Освальдо,
Клумпп Клаус, Лам Ман Лу (US),
Берк Ян Мартин (BE)

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

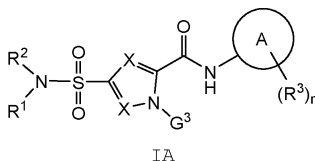
(56) WO-A1-2013096744
US-A1-2015274652
WO-A1-2014184350
WO-A1-2015118057
US-A1-2015197533

M.R. CAMPAGNA ET AL.:
"Sulfamoylbenzamide Derivatives Inhibit the
Assembly of Hepatitis B Virus Nucleocapsids",
JOURNAL OF VIROLOGY, vol. 87, no. 12, 10 April
2013 (2013-04-10), pages 6931-6942, XP055153462,
ISSN: 0022-538X, DOI: 10.1128/JVI.00582-13, See
the sulfamoyl benzamide derivatives disclosed in this
article in figure 2 and in table 1, which fall among the
claimed ones, and their use for treating HBV infections

WO-A2-2014106019
US-A1-2015197493
US-A1-2015225355

ROBIN NATHANS ET AL.: "Small-
molecule inhibition of HIV-1 Vif", NATURE
BIOTECHNOLOGY (ADVANCE ONLINE
PUBLICATION), vol. 26, no. 10, 21 September
2008 (2008-09-21), pages 1187-1192, XP55433035,
ISSN: 1087-0156, DOI: 10.1038/nbt.1496, the whole
document

(57) Изобретение относится к комбинированному продукту и фармацевтической композиции, содержащим аллостерический модулятор основного белка (СрАМ), представляющий собой соединение формулы IA, и ингибитор обратной транскриптазы, а также к их применению в лечении вирусной инфекции гепатита В:



037576 B1

037576 B1

Перекрестная ссылка на смежные заявки

Заявка на данное изобретение испрашивает преимущество предварительной заявки на патент США № 62/323251, поданной 15 апреля 2016 г., и предварительной заявки на патент США № 62/421035, поданной 11 ноября 2016 г. Содержание каждой из этих заявок полностью включено в настоящий документ путем ссылки.

Область применения изобретения

Настоящее описание относится к способам применения ингибитора сборки капсида для лечения вирусной инфекции гепатита В.

Предпосылки создания изобретения

Хроническая инфекция вирусом гепатита В (HBV) является трудноизлечимым, потенциально прогрессирующим некрвоспалительным заболеванием печени, связанным с хронической инфекцией HBV. Во всем мире около 240-400 млн человек хронически инфицированы HBV, и хроническая инфекция HBV является основной глобальной причиной тяжелых заболеваний печени и связанной с заболеваниями печени смертности (Hepatitis B Factsheet, World Health Organization, 2013; Hoofnagle J.H., et al., Management of Hepatitis B: Summary of a Clinical Research Workshop, *Hepatology*, 2007, 45(4):1056-1075; EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection, *J. Hepatology*, 2012, 57:167-185 (EASL 2012); Lesmana L.A., et al. Hepatitis B: overview of the burden of disease in the Asia-Pacific region, *Liver International*, 2006, 26:3-10; Lok A.S.F. and McMahon B.J., Chronic Hepatitis B: Update 2009, *Hepatology*, September 2009:1-36 (Lok 2009)).

Хроническое состояние инфекции HBV у отдельных субъектов традиционно диагностировали по подтверждению стабильной выявляемости поверхностного антигена гепатита В (HBsAg) в сыворотке субъекта в течение 6 месяцев или более. Центр по контролю заболеваемости США (CDC) рассматривает следующий серологический профиль как соответствующий хронической инфекции HBV: HBsAg-положительный и HBsAb-отрицательный с выявляемым антителом IgG к капсидному антигену гепатита В (IgG HBcAb) и не выявляемым антителом IgM к капсидному антигену гепатита В (IgM HBcAb). У таких субъектов сывороточный антиген-е гепатита В (HBeAg) может быть выявляемым или не выявляемым и с большей вероятностью будет не выявляемым на более поздних стадиях хронической инфекции HBV.

Современные, утвержденные регулирующими органами схемы лечения хронической инфекции HBV включают в себя вводимые парентерально альфа-интерфероны (непегилированные или пегилированные) и различные вводимые перорально нуклеозидные/нуклеотидные (нуклеоз(т)идные) ингибиторы полимераз/обратной транскриптазы HBV (HBV Pol-RT)). Каждый из этих агентов подавлял репликацию HBV и индуцировал снижение/сероконверсию HBeAg всего лишь у около 20-35% HBeAg-положительных пациентов после года лечения (EASL 2012; Lok 2009; Sorrell M.F. et al., National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: Management of Hepatitis B, *Ann Intern Med*, 2009, 150(2):104-110; Woo G. et al., Tenofovir and Entecavir Are the Most Effective Antiviral Agents for Chronic Hepatitis B: A Systematic Review and Bayesian Meta-Analyses, *Gastroenterology*, 2010:1-17). Несмотря на то что у пациентов с хронической инфекцией HBV, которые были HBeAg-положительными, было отмечено до 30-35% снижения HBeAg в ходе современных 48-недельных схем лечения пегилированными интерферонами (PegIFN), в течение 2-5 лет после лечения у 20-50% пациентов наблюдали обратное развитие до исходных уровней HBeAg (Perillo R., Benefits and Risks of Interferon Therapy for Hepatitis B, *Hepatology*, 2009, 49:S103-S111). Таким образом, современные схемы терапии HBV могут обеспечить продолжительное подавление репликации HBV, но большинству пациентов не удается добиться ответов на лечение, которые сохраняли бы стабильность в течение продолжительного времени после лечения.

Напротив, подавление репликации HBV до низких или не выявляемых уровней может быть выполнено с возможностью поддержания в течение более продолжительных периодов у большинства пациентов, которые постоянно получают мощные нуклеоз(т)иды HBV со снижением или сероконверсией HBeAg или без этого, но такие продолжительные периоды приема нуклеоз(т)идов связаны с риском переносимости, устойчивости вируса и проблемами соблюдения схемы лечения пациентами (Chotiayputta W. et al., Persistence and adherence to nucleos(t)ide analogue treatment for chronic hepatitis B, *J. Hepatology*, 2011, 54:12-18; Lee M. and Keeffe E.B., Study of adherence comes to the treatment of chronic hepatitis B, *J. Hepatology*, January 2011, 54(1):12-18; Scaglione S.J. and Lok A.S.F., Effectiveness of Hepatitis B Treatment in Clinical Practice, *Gastroenterology*, 2012, 142:1360-1368).

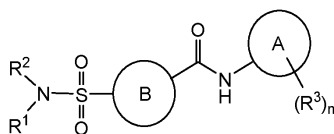
В условиях непрерывного распространения во всем мире вызванной HBV смертности и тяжелой заболеваемости по-прежнему существует потребность в улучшенных противовирусных схемах лечения HBV, которые могут обеспечить получение устойчивого вирусного ответа во время лечения и после него.

Изложение сущности изобретения

В одном аспекте, представленном в настоящем документе, предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества аллостерического модулятора капсидного белка (СрАМ) и ингибитора обратной транскриптазы. В одном варианте осуществления СрАМ является аллостерическим модулятором капсидного белка, который вызывает aberrантную, дефектную или неполную сборку капсидов HBV. В другом варианте

осуществления СРАМ является аллостерическим модулятором капсидного белка, вызывающим сборку капсидов, которые по существу являются пустыми с точки зрения их вирусного содержания.

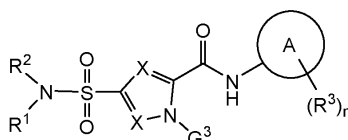
В другом аспекте, представленном в настоящем документе, предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения формулы I



I

или его фармацевтически приемлемой соли, его гидрата, его сольвата, или его кристаллической формы и ингибитора обратной транскриптазы, или его фармацевтически приемлемой соли, или его пролекарства.

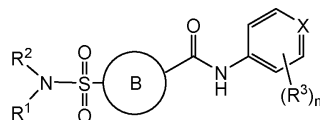
В еще одном варианте осуществления данного способа соединение формулы I представляет собой соединение формулы IA



IA

или его фармацевтически приемлемую соль, его гидрат, его сольват, или его кристаллическую форму.

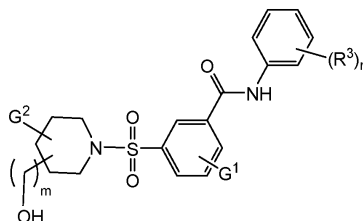
В другом варианте осуществления данного способа соединение формулы I представляет собой соединение формулы IB



IB

или его фармацевтически приемлемую соль, его гидрат, его сольват, или его кристаллическую форму.

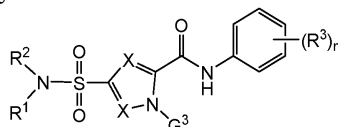
В одном варианте осуществления данного способа соединение формулы I или формулы IB представляет собой соединение формулы II



II

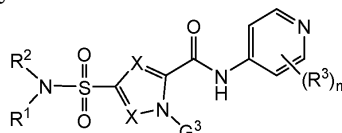
или его фармацевтически приемлемую соль, его гидрат, его сольват, или его кристаллическую форму.

В другом варианте осуществления настоящего способа соединение формулы I или формулы IB представляет собой соединение формулы IIIA



или его фармацевтически приемлемую соль, его гидрат, его сольват, или его кристаллическую форму.

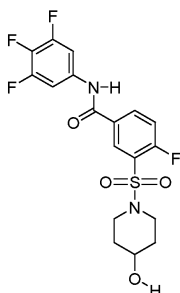
В еще одном варианте осуществления настоящего способа соединение формулы I или формулы IB представляет собой соединение формулы IIIB



IIIB

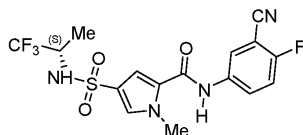
или его фармацевтически приемлемую соль, его гидрат, его сольват, или его кристаллическую форму.

В одном аспекте, представленном в настоящем документе, предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 1:



4-фтор-3-((4-гидроксипиперидин-1-ил)сульфонил)-N-(3,4,5-трифторфенил)бензамид или его фармацевтически приемлемой соли, его гидрата, его сольвата, или его кристаллической формы, и ингибитора обратной транскриптазы, или его фармацевтически приемлемой соли, или его пролекарства.

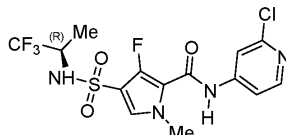
В другом аспекте, представленном в настоящем документе, предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 2:



(S)-N-(3-циано-4-фторфенил)-1-метил-4-(N-(1,1,1-трифторпропан-2-ил)сульфамойл)-1H-пиррол-2-карбоксамид

или его фармацевтически приемлемой соли, его гидрата, его сольвата, или его кристаллической формы, и ингибитора обратной транскриптазы, или его фармацевтически приемлемой соли, или его пролекарства.

В другом аспекте, представленном в настоящем документе, предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 3:



(R)-N-(2-хлорпиридин-4-ил)-1-метил-4-(N-(1,1,1-трифторпропан-2-ил)сульфамойл)-1H-пиррол-2-карбоксамид

или его фармацевтически приемлемой соли, его гидрата, его сольвата, или его кристаллической формы, и ингибитора обратной транскриптазы, или его фармацевтически приемлемой соли, или его пролекарства.

В одном варианте осуществления ингибитором обратной транскриптазы является пуриновый ингибитор обратной транскриптазы, такой как энтекавир или тенофовир.

В другом варианте осуществления ингибитор обратной транскриптазы выбран из группы, состоящей из энтекавира, тенофовира, ламивудина, телбивудина, адефовира, клевудина, CMX157, AGX-1009, зидовудина, диданозина, залцитабина, ставудина, эмтрицитабина, абакавира, D-D4FC, аловудина, амдоксовира, элвудитабина, делавирдина, эфавиренза, невирапина, каправирин, каланолида А, TMC278, BMS-561390 и DPC-083 или их пролекарств и их фармацевтически приемлемых солей. К фармацевтически приемлемым пролекарствам тенофовира, например, относят дизопроксилфумарат тенофовира и алafenamidфумарат тенофовира.

В другом варианте осуществления ингибитор обратной транскриптазы выбран из группы, состоящей из энтекавира, тенофовира и ламивудина, или их фармацевтически приемлемых солей, или их пролекарств.

В одном варианте осуществления СРАМ и ингибитор обратной транскриптазы являются частью одного и того же состава. В другом варианте осуществления СРАМ и ингибитор обратной транскриптазы являются частью разных составов.

В другом варианте осуществления соединение 1, соединение 2 или соединение 3 и ингибитор обратной транскриптазы являются частью одного и того же состава. В другом варианте осуществления соединение 1, соединение 2 или соединение 3 и ингибитор обратной транскриптазы являются частью разных

составов.

В одном варианте осуществления пациент невосприимчив к лечению ингибитором обратной транскриптазы или не поддается лечению. В другом варианте осуществления пациент невосприимчив к лечению нуклеозидным агентом или не поддается лечению. В еще одном варианте осуществления пациент является ранее не получавшим лечение пациентом.

В одном варианте осуществления соединение 1 вводят в количестве от 50 до 3000 мг в день. В другом варианте осуществления соединения 1 вводят в количестве около 2000 мг в день. В дополнительном варианте осуществления соединения 1 вводят в количестве около 1000 мг дважды в день. В одном варианте осуществления соединения 1 вводят в количестве 1200 мг в день. В другом варианте осуществления соединения 1 вводят в количестве 600 мг дважды в день. В одном варианте осуществления соединения 1 вводят в количестве 600 мг в день. В другом варианте осуществления соединения 1 вводят в количестве 400 мг в день. В одном варианте осуществления соединения 1 вводят в количестве 200 мг в день. В другом варианте осуществления соединения 1 вводят в количестве 100 мг в день.

В одном варианте осуществления соединения 2 или соединения 3 вводят в количестве от 5 до 600 мг в день. В другом варианте осуществления соединения 2 или соединения 3 вводят в количестве от 10 до 50 мг в день. В конкретном варианте осуществления соединения 2 или соединения 3 вводят в количестве около 25 мг в день. В другом варианте осуществления соединения 2 или соединения 3 вводят в количестве около 25 мг четыре раза в день. В еще одном варианте осуществления соединения 2 или соединения 3 вводят в количестве около 100 мг в первый день, а затем 25 мг четыре раза в день. В дополнительном варианте осуществления соединения 2 или соединения 3 вводят в количестве от 10 до 200 мг раз в день.

В одном варианте осуществления соединения 1 находится в кристаллической форме. В дополнительном варианте осуществления кристаллическую форму характеризуют структурой порошковой рентгеновской дифракции, имеющей пики, выраженные в градусах-2-тета при углах ($\pm 0,2^\circ$), равных 17,1, 20,8, 22,2, 24,9 и 26,6° (форма XVI).

В другом варианте осуществления введение описанных соединений и ингибитора обратной транскриптазы проводят в течение периода времени менее 48 недель.

В одном варианте осуществления пациентом является пациент, хронически инфицированный HBV.

В одном аспекте, представленном в настоящем документе, предложен комбинированный продукт, содержащий СрАМ и ингибитор обратной транскриптазы. В одном варианте осуществления комбинированного продукта СрАМ является аллостерическим модулятором капсидного белка, который вызывает aberrantную, дефектную или неполную сборку капсидов HBV. В другом варианте осуществления комбинированного продукта СрАМ является аллостерическим модулятором капсидного белка, вызывающим сборку капсидов, которые по существу являются пустыми с точки зрения их вирусного содержания. В одном аспекте, представленном в настоящем документе, предложен комбинированный продукт, содержащий СрАМ, соединения формулы I, формулы IA, формулы IB, формулы IIА, формулы IIIА или формулы IIIВ, или их фармацевтически приемлемые соли, их гидраты, их сольваты, или их кристаллические формы и ингибитор обратной транскриптазы, или его фармацевтически приемлемую соль, или его пролекарство.

В одном аспекте, представленном в настоящем документе, предложен комбинированный продукт, содержащий соединения 1, соединения 2, или соединения 3, или их фармацевтически приемлемые соли, их гидраты, их сольваты, или их кристаллические формы и ингибитор обратной транскриптазы, или его фармацевтически приемлемую соль, или его пролекарство. В одном варианте осуществления комбинированного продукта ингибитор обратной транскриптазы выбран из группы, состоящей из энтекавира, тенофовира и ламивудина, или их фармацевтически приемлемых солей, или их пролекарств.

В другом аспекте, представленном в настоящем документе, предложен комбинированный продукт, содержащий соединения формулы IB, или его фармацевтически приемлемые соли, его гидраты, его сольваты, или его кристаллические формы и ингибитор обратной транскриптазы, или его фармацевтически приемлемую соль, или его пролекарство. В одном варианте осуществления комбинированного продукта ингибитор обратной транскриптазы выбран из группы, состоящей из энтекавира, тенофовира и ламивудина, или их фармацевтически приемлемых солей, или их пролекарств.

В одном варианте осуществления комбинированного продукта ингибитором обратной транскриптазы является пуриновый ингибитор обратной транскриптазы. В другом варианте осуществления комбинированного продукта ингибитор обратной транскриптазы выбран из группы, состоящей из энтекавира, тенофовира, ламивудина, телбивудина, адефовира, клевудина, CMX157, AGX-1009, зидовудина, диданозина, залцитабина, ставудина, эмтрицитабина, абакавира, D-D4FC, аловудина, амдоксовира, элвудина, делавирдина, эфавиренза, невирапина, каправирин, каланолида А, TMC278, BMS-561390 и DPC-083 или их пролекарств и их фармацевтически приемлемых солей. К фармацевтически приемлемым пролекарствам тенофовира, например, относят дизопроксилфумарат тенофовира и алафенамидфумарат тенофовира.

В одном варианте осуществления комбинированного продукта соединения формулы I, формулы IA, формулы IB, формулы IIА, формулы IIIА или формулы IIIВ и ингибитор обратной транскриптазы явля-

ются частью одного и того же состава. В другом варианте осуществления комбинированного продукта соединение формулы I, формулы IA, формулы IB, формулы ПА, формулы ША или формулы ШВ и ингибитор обратной транскриптазы являются частью разных составов. В дополнительном варианте осуществления данного варианта осуществления составы предназначены для одновременного или последовательного введения.

В одном варианте осуществления комбинированного продукта соединение 1, соединение 2 и соединение 3 и ингибитор обратной транскриптазы являются частью одного и того же состава. В другом варианте осуществления комбинированного продукта соединение 1, соединение 2 и соединение 3 и ингибитор обратной транскриптазы являются частью разных составов. В дополнительном варианте осуществления данного варианта осуществления составы предназначены для одновременного или последовательного введения.

В одном варианте осуществления комбинированного продукта соединение формулы IB и ингибитор обратной транскриптазы являются частью одного и того же состава. В другом варианте осуществления комбинированного продукта соединение формулы IB и ингибитор обратной транскриптазы являются частью разных составов. В дополнительном варианте осуществления данного варианта осуществления составы предназначены для одновременного или последовательного введения.

В одном варианте осуществления комбинированный продукт предназначен для применения в лечении инфекции HBV у пациента.

В одном варианте осуществления комбинированный продукт предназначен для применения в лечении инфекции HBV у пациента, причем пациент невосприимчив к лечению ингибитором обратной транскриптазы. В другом варианте осуществления комбинированный продукт предназначен для применения в лечении инфекции HBV у пациента, причем пациент невосприимчив к лечению нуклеозидным агентом.

В одном варианте осуществления комбинированный продукт предназначен для применения в лечении инфекции HBV у пациента, причем пациент ранее не получал лечение. В одном варианте осуществления комбинированного продукта количество соединения 1 составляет от 600 до 3000 мг. В другом варианте осуществления комбинированного продукта количество соединения 1 составляет около 2000 мг. В еще одном варианте осуществления комбинированного продукта количество соединения 1 составляет около 1000 мг.

В одном варианте осуществления комбинированного продукта количество соединения 2 или соединения 3 составляет от 5 до 600 мг. В другом варианте осуществления комбинированного продукта количество соединения 2 или соединения 3 составляет от 10 до 50 мг. В другом варианте осуществления комбинированного продукта количество соединения 2 или соединения 3 составляет около 25 мг. В еще одном варианте осуществления комбинированного продукта количество соединения 2 или соединения 3 составляет от около 10 до 200 мг. В одном варианте осуществления комбинированного продукта соединение 1 находится в кристаллической форме. В дополнительном варианте осуществления кристаллическую форму характеризуют структурой порошковой рентгеновской дифракции, имеющую пики, выраженные в градусах-2-тета при углах ($\pm 0,2^\circ$), равных 17,1, 20,8, 22,2, 24,9 и 26,6° (форма XVI).

В одном варианте осуществления комбинированный продукт предназначен для применения в лечении инфекции HBV у пациента, причем пациент хронически инфицирован HBV.

В другом аспекте, представленном в настоящем документе, предложена фармацевтическая композиция, содержащая аллостерический модулятор капсидного белка (СрАМ) и ингибитор обратной транскриптазы. В одном варианте осуществления фармацевтической композиции СрАМ является аллостерическим модулятором капсидного белка, который вызывает aberrantную, дефектную или неполную сборку капсидов HBV. В другом варианте осуществления фармацевтической композиции СрАМ является аллостерическим модулятором капсидного белка, вызывающим сборку капсидов, которые по существу являются пустыми с точки зрения их вирусного содержания.

В одном аспекте, представленном в настоящем документе, предложена фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы I, формулы IA, формулы IB, формулы ПА, формулы ША или формулы ШВ, или их фармацевтически приемлемые соли, их гидраты, их сольваты, или их кристаллические формы и ингибитор обратной транскриптазы, или его фармацевтически приемлемую соль, или его пролекарство.

В другом аспекте, представленном в настоящем документе, предложена фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы IB, или его фармацевтически приемлемые соли, его гидраты, его сольваты, или его кристаллические формы и ингибитор обратной транскриптазы, или его фармацевтически приемлемую соль, или его пролекарство.

В одном варианте осуществления фармацевтической композиции ингибитор обратной транскриптазы выбран из группы, состоящей из энтекавира, тенофовира и ламивудина, или их фармацевтически приемлемых солей, или их пролекарств. В другом варианте осуществления ингибитором обратной транскриптазы является пуриновый ингибитор обратной транскриптазы.

В другом варианте осуществления фармацевтическая композиция дополнительно содержит один или более фармацевтически приемлемых носителей.

В одном аспекте, представленном в настоящем документе, предложена фармацевтическая компози-

ция, содержащая соединение 1, соединение 2 или соединение 3, или их фармацевтически приемлемые соли, их гидраты, их сольваты, или их кристаллические формы и ингибитор обратной транскриптазы, или его фармацевтически приемлемую соль, или его пролекарство.

В одном варианте осуществления фармацевтической композиции ингибитор обратной транскриптазы выбран из группы, состоящей из энтекавира, тенофовира и ламивудина, или их фармацевтически приемлемых солей, или их пролекарств. В вариантах осуществления фармацевтической композиции ингибитором обратной транскриптазы является пуриновый ингибитор обратной транскриптазы.

В одном варианте осуществления фармацевтической композиции ингибитор обратной транскриптазы выбран из группы, состоящей из энтекавира, тенофовира, ламивудина, телбивудина, адефовира, клевудина, CMX157, AGX-1009, зидовудина, диданозина, залцитабина, ставудина, эмтрицитабина, абакавира, D-D4FC, аловудина, амдоксовира, элвудитабина, делавирдина, эфавиренза, невирапина, каправирина, каланолида А, TMC278, BMS-561390 и DPC-083 или их пролекарств и их фармацевтически приемлемых солей. К фармацевтически приемлемым пролекарствам тенофовира, например, относят дизопроксилфумарат тенофовира и алафенамидфумарат тенофовира.

В другом варианте осуществления фармацевтическая композиция дополнительно содержит один или более фармацевтически приемлемых носителей.

В одном аспекте, представленном в настоящем документе, предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения формулы I, формулы IA, формулы IB, формулы IIА, формулы IIIА или формулы IIIВ, или их фармацевтически приемлемых солей, их гидратов, их сольватов, или их кристаллических форм, причем пациент невосприимчив к лечению ингибитором обратной транскриптазы или не поддается лечению.

В еще одном аспекте, представленном в настоящем документе, предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения формулы I, формулы IA, формулы IB, формулы IIА, формулы IIIА или формулы IIIВ, или их фармацевтически приемлемых солей, их гидратов, их сольватов, или их кристаллических форм, причем пациент невосприимчив к лечению нуклеозидным агентом или не поддается лечению.

В одном аспекте, представленном в настоящем документе, предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или их фармацевтически приемлемых солей, их гидратов, их сольватов, или их кристаллических форм, причем пациент невосприимчив к лечению ингибитором обратной транскриптазы или не поддается лечению.

В еще одном аспекте, представленном в настоящем документе, предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или их фармацевтически приемлемых солей, их гидратов, их сольватов, или их кристаллических форм, причем пациент невосприимчив к лечению нуклеозидным агентом или не поддается лечению.

В одном варианте осуществления для лечения инфекции HBV соединение 1 вводят в количестве от 600 до 3000 мг в день. В дополнительном варианте осуществления соединение 1 вводят в количестве около 2000 мг в день. В одном варианте осуществления настоящего варианта осуществления соединения 1 вводят в количестве около 1000 мг дважды в день.

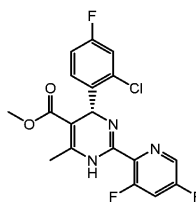
В одном варианте осуществления для лечения инфекции HBV соединение 2 или соединение 3 вводят в количестве от 5 до 600 мг в день. В другом варианте осуществления соединения 2 или соединения 3 вводят в количестве от 10 мг в день до 50 мг в день. В конкретном варианте осуществления соединения 2 или соединения 3 вводят в количестве около 25 мг в день. В дополнительном варианте осуществления соединения 2 или соединения 3 вводят в количестве от около 10 до 200 мг раз в день.

В другом варианте осуществления таких способов введение соединения формулы I, формулы IA, формулы IB, формулы IIА, формулы IIIА или формулы IIIВ, соединения 1, соединения 2 или соединения 3 и ингибитора обратной транскриптазы происходит за период времени менее 48 недель.

В другом варианте осуществления пациентом является хронически инфицированный HBV пациент.

В одном аспекте, представленном в настоящем документе, предложен способ ингибирования репликации нуклеозид-резистентного варианта HBV, включающий приведение указанного варианта в контакт с эффективным количеством соединения формулы I, формулы IA, формулы IB, формулы IIА, формулы IIIА или формулой IIIВ, соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или их фармацевтически приемлемых солей, их гидратов, их сольватов, или их кристаллических форм.

В другом аспекте, представленном в настоящем документе, предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения формулы I, формулы IA, формулы IB, формулы IIА, формулы IIIА или формулы IIIВ, соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или фармацевтически приемлемых солей, их гидратов, их сольватов, или их кристаллических форм и соединения А



А

или их фармацевтически приемлемую соль.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1 представлены клетки HepG2, подвергнутые транзientной трансфекции диким типом HBV (заштрихованные кружки) и вариантами, содержащими аминокислотные изменения rtL180M/M204V (заштрихованные треугольники) или rtL180M/M204V/N236T (заштрихованные квадраты), которые были инкубированы в присутствии возрастающих концентраций LMV (фиг. 1А), ETV (фиг. 1В) или TDF (фиг. 1С). Кривые доза-ответ на лечение по сравнению с диким типом HBV показаны пунктирными линиями. Точки данных представляют средние значения по меньшей мере трех независимых исследований трансфекции, и стандартные отклонения показаны в виде отрезков прямой.

На фиг. 2 представлен эффект воздействия комбинирования соединения 1 с нуклеозидными аналогами на жизнеспособность клеток для первичных гепатоцитов человека, взятых у донора HuM4038. Кривые доза-ответ на лечение, отображающие жизнеспособность клеток, при использовании только соединения 1 (кружки, сплошная линия) или соединения 1 в комбинации с нуклеозидными аналогами (квадраты, пунктирная линия): (фиг. 2А) 300 мкМ LMV, (фиг. 2В) 30 мкМ ETV или (фиг. 2С) 30 мкМ TFV. Первичные гепатоциты человека от донора HuM4038 обрабатывали тестируемыми соединениями в течение 6 дней. Точки данных отражают средние значения, а отрезки прямых соответствуют стандартным отклонениям результатов трех повторных измерений.

На фиг. 3 представлен эффект воздействия комбинирования соединения 1 с нуклеозидными аналогами на жизнеспособность клеток для первичных гепатоцитов человека, взятых у донора HuM4055А. Кривые доза-ответ на лечение, отображающие жизнеспособность клеток, при использовании только соединения 1 (кружки, сплошная линия) или соединения 1 в комбинации с нуклеозидными аналогами (квадраты, пунктирная линия): (фиг. 3А) 300 мкМ LMV, (фиг. 3В) 30 мкМ ETV или (фиг. 3С) 30 мкМ TFV. Первичные гепатоциты человека от донора HuM4055А обрабатывали тестируемыми соединениями в течение 6 дней. Точки данных отражают средние значения, а отрезки прямых соответствуют стандартным отклонениям результатов трех повторных измерений.

На фиг. 4 представлен эффект воздействия комбинирования соединения 1 с нуклеозидными аналогами на жизнеспособность клеток для первичных гепатоцитов человека, взятых у донора HuM4059. Кривые доза-ответ на лечение, отображающие жизнеспособность клеток, при использовании только соединения 1 (кружки, сплошная линия) или соединения 1 в комбинации с нуклеозидными аналогами (квадраты, пунктирная линия): (фиг. 4А) 300 мкМ LMV, (фиг. 4В) 30 мкМ ETV или (фиг. 4С) 30 мкМ TFV. Первичные гепатоциты человека от донора HuM4059 обрабатывали тестируемыми соединениями в течение 6 дней. Точки данных отражают средние значения, а отрезки прямых соответствуют стандартным отклонениям результатов трех повторных измерений.

На фиг. 5 приведены результаты исследования эффективности в ходе клинических испытаний для пациентов, которым вводили только соединение 1 или его комбинацию с PegIFN.

На фиг. 6 показано снижение РНК HBV в сыворотке у пациентов, которым вводили плацебо (PCB), соединение 1 (600 мг 2 раза/день), 180 мкг/нед. пегилированного интерферона (PEG-IFN) и комбинацию соединения 1 и PEG-IFN в таких же дозах.

На фиг. 7 показан эффект воздействия соединения 1 в комбинации с нуклеозидными аналогами. Соединение 1 применяли в комбинации с LMV (фиг. 7А), TFV (фиг. 7В) и ETV (фиг. 7С).

На фиг. 8 показан эффект воздействия соединения 1 в комбинации с Baу 41-4109, другим модулятором капсида. Графики синергии с доверительным интервалом 95% по результатам MacSynergy для клеток HepG2.2.15, обработанных соединением 1 в комбинации с Baу 41-4109.

На фиг. 9 показана структура порошковой рентгеновской дифракции для формы XVI соединения 1.

На фиг. 10 показана структура порошковой рентгеновской дифракции для формы XVI соединения 1.

Фиг. 11А-11С содержат графики синергии для комбинации соединения 2 с ETV в клетках HepG2.2.15. Расчеты графика синергии основаны на значениях нижнего предела для 95% ДИ (ось Y). Концентрации соединения представлены на оси X и оси Z в нМ. Фиг. 11А соответствует эксперименту 1. Фиг. 11В соответствует эксперименту 2. Фиг. 11С соответствует эксперименту 3.

Фиг. 12А-12С содержат графики синергии для комбинации соединения 2 с TFV в клетках HepG2.2.15. Расчеты графика синергии основаны на значениях нижнего предела для 95% ДИ (ось Y). Концентрации соединения представлены на оси X и оси Z в нМ. Фиг. 12А соответствует эксперименту 1. Фиг. 12В соответствует эксперименту 2. Фиг. 12С соответствует эксперименту 3.

Фиг. 13 содержит график синергии для комбинации соединения 3 с ETV в клетках HepG2.2.15. Расчеты графика синергии основаны на значениях нижнего предела для 95% ДИ (ось Y). Концентрации соединения представлены на оси X и оси Z в нМ.

Фиг. 14 содержит график синергии для комбинации соединения 3 с TFV в клетках HepG2.2.15. Расчеты графика синергии основаны на значениях нижнего предела для 95% ДИ (ось Y). Концентрации соединения представлены на оси X и оси Z в нМ.

Фиг. 15A-15D отражают процент ингибирования репликации HBV при наличии соединения 2 и ETV или TFV в диапазоне концентраций. На каждом графике представлен процент ингибирования каждого соединения, когда концентрация другого соединения была равна нулю.

Подробное описание изобретения

Настоящее описание относится к способам применения ингибитора сборки капсида для лечения вирусной инфекции гепатита В (HBV). В частности, в настоящем документе предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества аллостерического модулятора капсидного белка (СрАМ) и ингибитора обратной транскриптазы. В одном варианте осуществления СрАМ является аллостерическим модулятором капсидного белка, который вызывает aberrantную, дефектную или неполную сборку капсидов HBV. В другом варианте осуществления СрАМ является аллостерическим модулятором капсидного белка, вызывающим сборку капсидов, которые по существу являются пустыми с точки зрения их вирусного содержания. Кроме того, в настоящем документе предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение СрАМ (например, соединения формулы I, формулы IA, формулы IB, формулы ПА, формулы ПА или формулы ППВ, соединения 1, соединения 2 или соединения 3) и ингибитора обратной транскриптазы. Дополнительно в настоящем документе предложены комбинированные продукты и фармацевтические композиции, содержащие СрАМ (например, соединение формулы I, формулы IA, формулы IB, формулы ПА, формулы ПА или формулы ППВ, соединения 1, соединения 2 или соединения 3) и ингибитор обратной транскриптазы. Кроме того, в настоящем документе предложены комбинированные продукты и фармацевтические композиции, содержащие СрАМ, имеющий формулу IB и ингибитор обратной транскриптазы. В настоящем документе также предложены способы лечения инфекции HBV у пациента, невосприимчивого к лечению ингибитором обратной транскриптазы или нуклеоз(т)идным агентом или не поддающегося лечению, включающие введение соединения формулы I, формулы IA, формулы IB, формулы ПА, формулы ПА или формулы ППВ, соединения 1, соединения 2 или соединения 3. В настоящем документе также предложены способы лечения инфекции HBV у пациента, невосприимчивого к лечению ингибитором обратной транскриптазы или нуклеоз(т)идным агентом или не поддающегося лечению, включающие введение соединения формулы IB.

I. Определения.

Используемый в описании и в пунктах формулы изобретения термин "включающий" может охватывать варианты осуществления "состоящий из" и "состоящий по существу из".

Термины "содержат(ит)", "включают(ет)", "имеющий", "имеет", "может", "состоят(ит)" и их варианты, которые используются в настоящем документе, предназначены для применения в качестве неограниченных промежуточных фраз, терминов или слов, которые требуют наличия упомянутых ингредиентов/стадий и допускают наличие других ингредиентов/стадий. Однако такое изложение следует также рассматривать как описание композиций или способов, как "состоящих из" или "состоящих по существу из" перечисленных соединений, что допускает наличие только упомянутых соединений наряду с любыми фармацевтически приемлемыми носителями, но исключает другие соединения.

Все описанные в настоящем документе диапазоны значений включают в себя упоминаемую конечную точку и могут быть выполнены с возможностью независимого комбинирования (например, диапазон "от 600 до 3000 мг" включает в себя конечные точки 600 и 3000 мг и все промежуточные значения, например 2000 мг). Конечные точки диапазонов и любых значений, описанных в настоящем документе, не ограничены точным диапазоном или значением; они имеют такую степень неточности, чтобы включать в себя значения, приблизительно соответствующие таким диапазонам и/или значениям.

Используемые в настоящем документе приблизительные формулировки можно применять для модификации любого количественного представления, которое можно изменять, не приводя к изменению основной функции, к которой оно относится. Соответственно, значение, модифицированное с помощью термина или терминов, таких как "около" или "по существу", в некоторых случаях может не быть ограничено точным указанным значением. По меньшей мере в некоторых случаях приблизительные формулировки могут соответствовать точности инструмента, используемого для измерения значения. Модификатор "около" можно также рассматривать как описывающий диапазон, определяемый абсолютными значениями двух конечных точек. Например, выражение "от около 600 до около 3000" также описывает диапазон "от 600 до 3000". Термин "около" может отнести к диапазону плюс или минус 10% от указанного числа. Например, "около 10%" может указывать на диапазон от 9 до 11%, а "около 1" может означать от 0,9 до 1,1.

Другие значения термина "около" могут быть очевидны из контекста, такое как округление, поэтому, например, "около 1" может также означать "от 0,5 до 1,4".

Используемое в настоящем документе выражение "аллостерический модулятор капсидного белка (СрАМ)" относится к соединению, которое изменяет сборку или активность капсидного белка (Zlotnick, Antiviral Research 121 (2015) 82-93). Идентифицировано по меньшей мере два класса СрАМ, которые меняют сборку капсидного белка двумя различными способами.

Показано, что СрАМ первого класса изменяет направление сборки капсида с образованием аберрантных некапсидных полимеров. Такой первый класс в дальнейшем называют "аллостерический модулятор капсидного белка, который вызывает аберрантную, дефектную или неполную сборку капсидов HBV". Примером такого класса являются соединения на основе гетероарилдигидропиримидина (НАР). При высоких концентрациях НАР приводят к изменению направления сборки капсида с образованием аберрантных некапсидных полимеров. По сравнению с концентрацией Ср при субстехиометрических концентрациях НАР увеличивает скорость сборки капсида. Кристаллические структуры между капсидом HBV и НАР демонстрируют изменения четвертичной структуры капсида, которые приводят к формированию связанных жестких компонентов с незначительными изменениями третичной структуры. Пример НАР включает в себя, без ограничений, метил-4-(2-хлор-4-фторфенил)-6-метил-2-(пиридин-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилат (НАР-1).

Один другой тип СрАМ, который увеличивает скорость сборки капсида, не влияя на морфологию капсида, в дальнейшем называют "аллостерическим модулятором капсидного белка, вызывающим сборку капсидов, которые по существу являются пустыми с точки зрения их вирусного содержания".

Примером такого класса являются нуклеозидные фенилпропенамидные соединения (РРА). РРА увеличивают скорость сборки капсида, не влияя на морфологию капсида. Исследования клеточных культур показывают, что капсиды, образованные при наличии нескольких РРА, являются пустыми с точки зрения их вирусного содержания, что является следствием блокирования упаковки вирусной РНК. Кристаллические структуры при взаимодействии HBV и РРА демонстрируют изменения в четвертичной, а также в третичной структуре. К другим примерам такого СрАМ, образующего пустой капсид, без ограничений, относят соединения формулы I, формулы IA, формулы IB, формулы IIА, формулы IIIА или формулы IIIВ, соединение 1, соединение 2 и соединение 3, описанные в настоящем документе.

Формула IB является также примером "аллостерического модулятора капсидного белка, который вызывает сборку по существу пустых капсидов".

Используемый в настоящем документе термин "ингибитор обратной транскриптазы" относится к нуклеозидам или нуклеотидам и их аналогам, которые ингибируют активность обратной транскриптазы HBV. Примеры включают в себя, без ограничений, например, энтекавир, тенофовир, ламивудин, телбивудин, адефовир, клебудин, CMX157, AGX-1009, зидовудин, диданозин, залцитабин, ставудин, эмтрицитабин, абакавир, D-D4FC, аловудин, амдоксовир, элвудитабин, делавирдин, эфавиренз, невирапин, капривирин, каланолит А, TMC278, BMS-561390 и DPC-083 или их пролекарства и их фармацевтически приемлемые соли. К фармацевтически приемлемым пролекарствам тенофовира, например, относят дизопроксилфумарат тенофовира и алафенамидфумарат тенофовира.

Используемый в настоящем документе термин "ингибитор обратной транскриптазы" может представлять собой "пуриновый ингибитор обратной транскриптазы", который является ингибитором обратной транскриптазы, имеющим пуриновое кольцо, такое как, без ограничений, энтекавир и тенофовир.

В настоящем документе термин "способ лечения" или "лечение" обозначает применение или введение терапевтического агента, т.е. соединения изобретения (одного соединения или соединения в комбинации с другим фармацевтическим агентом), пациенту или применение или введение терапевтического агента в выделенную ткань или клеточную линию, полученную от пациента (например, для диагностики или использования *ex vivo*), у которого имеется инфекция HBV, симптом инфекции HBV или потенциал к развитию инфекции HBV, с целью излечения, исцеления, ослабления, успокоения, изменения, уничтожения, облегчения инфекции HBV, симптомов инфекции HBV или потенциала к развитию инфекции HBV или оказания воздействия на указанное. Такие варианты лечения могут быть специально приспособлены или модифицированы на основании знаний, полученных в области фармакогеномики.

В настоящем документе термин "пациент" или "субъект" означает человека или не относящееся к человеку млекопитающее. Не относящиеся к человеку млекопитающие включают в себя, например, домашний скот и домашних животных, таких как овцы, коровы, свиньи, собаки, кошки и мыши. Пациент или субъект предпочтительно представляет собой человека.

В настоящем документе термин "фармацевтически приемлемый" относится к материалу, такому как носитель или разбавитель, который не подавляет биологическую активность или свойства соединения и является относительно нетоксичным, т.е. материал можно вводить субъекту, что не вызывает нежелательных биологических воздействий или взаимодействия нежелательным образом с любым из компонентов композиции, в которой он содержится.

В настоящем документе под термином "фармацевтически приемлемая соль" понимают производные описанных соединений, в которых исходное соединение модифицируют путем преобразования имеющейся кислотной или щелочной функциональной группы в его солевую форму. Примеры фармацевтически приемлемых солей включают в себя, без ограничений, неорганические или органические кислые соли основных остатков, такие как амины; щелочные или органические соли кислотных остатков,

таких как карбоновые кислоты; и т.п. Фармацевтически приемлемые соли настоящего изобретения включают в себя стандартные нетоксичные соли исходного соединения, образованные, например, из нетоксичных неорганических или органических кислот. Фармацевтически приемлемые соли настоящего изобретения можно синтезировать из исходного соединения, которое содержит основную или кислотную функциональную группу, посредством стандартных химических способов. По существу такие соли можно получить в результате реакции свободных кислотных или основных форм этих соединений со стехиометрическим количеством соответствующего основания или кислоты в воде, или в органическом растворителе, или в смеси этих двух веществ; по существу предпочтительна неводная среда, такая как простой эфир, этилацетат, этанол, изопропанол или ацетонитрил. Список приемлемых солей приведен в Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418 и Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2 (1977), каждая из которых полностью включена в настоящий документ путем ссылки.

В настоящем документе термин "композиция" или "фармацевтическая композиция" означает смесь по меньшей мере одного соединения, используемого в рамках изобретения, с фармацевтически приемлемым носителем. Фармацевтическая композиция облегчает введение соединения пациенту или субъекту. В данной области существует множество методик введения соединения, включая, без ограничений, внутривенное, пероральное, аэрозольное, парентеральное, глазное, легочное и местное введение.

В настоящем документе термин "фармацевтически приемлемый носитель" означает фармацевтически приемлемый материал, композицию или носитель, такой как жидкий или твердый наполнитель, стабилизатор, диспергирующий агент, суспендирующий агент, разбавитель, эксципиент, загуститель, растворитель или инкапсулирующий материал, участвующий в переносе или транспортировке соединения, используемого в рамках изобретения, внутрь или на пациента таким образом, что он может выполнять предусмотренную функцию. Как правило, такие конструкты переносят или транспортируют из одного органа или участка тела к другому органу или участку тела. Каждый носитель должен быть "приемлемым" в плане совместимости с другими ингредиентами состава, включая соединение, используемое в рамках изобретения, и безвредным для пациента. Некоторые примеры материалов, которые могут выступать в качестве фармацевтически приемлемых носителей, включают в себя сахара, такие как лактоза, глюкоза и сахароза; крахмалы, такие как кукурузный крахмал и картофельный крахмал; целлюлозу и ее производные, такие как натрийкарбоксиметилцеллюлоза, этилцеллюлоза и ацетатцеллюлоза; порошковую трагакантовую камедь; солод; желатин; тальк; эксципиенты, такие как масло какао и свечные воски; масла, такие как растительное арахисовое масло, хлопковое масло, сафлоровое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло; гликоли, такие как пропиленгликоль; полиолы, такие как глицерин, сорбит, маннит и полиэтиленгликоль; сложные эфиры, такие как этилолеат и этиллаурат; агар; буферные агенты, такие как гидроксид магния и гидроксид алюминия; поверхностно-активные агенты; альгиновую кислоту; апирогенную воду; изотонический солевой раствор; раствор Рингера; этиловый спирт; фосфатные буферные растворы; и другие нетоксичные совместимые вещества, используемые в фармацевтических составах. В настоящем документе термин "фармацевтически приемлемый носитель" также включает в себя любые покрытия, антибактериальные и противогрибковые агенты и замедляющие всасывание агенты и т. п., которые совместимы с действием соединения, используемого в рамках изобретения, и физиологически приемлемы для пациента. В композицию также могут быть включены вспомогательные активные соединения. Термин "фармацевтически приемлемый носитель" может дополнительно включать в себя фармацевтически приемлемую соль соединения, используемого в рамках изобретения. Другие дополнительные ингредиенты, которые могут быть включены в фармацевтические композиции, применяемые в практике изобретения, известны в данной области и описаны, например, в Remington's Pharmaceutical Sciences (Genaro, Ed., Mack Publishing Co., 1985, Easton, PA), которая включена в настоящий документ путем ссылки.

Термины "комбинация", "терапевтическая комбинация", "фармацевтическая комбинация" или "комбинированный продукт", которые используют в настоящем документе, относятся или к фиксированной комбинации единичной дозированной формы, или нефиксированной комбинации, или набору компонентов для комбинированного введения, в котором два или более терапевтических агента могут быть введены независимо, одновременно или раздельно в течение определенных промежутков времени, особенно в которых такие промежутки времени позволяют компонентам комбинации проявлять кооперативный, например, синергический эффект.

Термин "комбинированная терапия" относится к введению двух или более терапевтических агентов для лечения терапевтического состояния или расстройства, описанного в настоящем документе. Такое введение включает в себя совместное введение терапевтических агентов по существу одновременным образом, например, как часть содержимого одного состава, имеющего фиксированное соотношение активных ингредиентов, или как часть содержимого разных (например, капсул и/или внутривенных препаратов) для каждого активного ингредиента. Кроме того, такое введение также включает использование каждого типа терапевтического агента в последовательном и раздельном варианте введения, как примерно в одно и то же время, так и в разные моменты времени. Независимо от того, вводят ли активные ингредиенты как часть содержимого одного и того же состава или как часть содержимого разных составов,

лекарственные препараты вводят одному и тому же пациенту в рамках одного и того же курса терапии. В любом случае схема лечения обеспечит благоприятные воздействия при лечении состояний или расстройств, описанных в настоящем документе.

Термин "синергический эффект" относится к действию двух агентов, таких как, например, ингибитор сборки капсида и ингибитор обратной транскриптазы, которое продуцирует эффект, например, замедления симптоматического прогрессирования инфекции HBV или ее симптомов, что имеет большее воздействие, чем объединение воздействий двух отдельно введенных лекарственных средств. Синергический эффект можно рассчитать, например, с использованием приемлемых методов, таких как уравнение Sigmoid-E_{max} (Holford, N.H.G. and Scheiner, L.B., Clin. Pharmacokinet. 6:429-453 (1981)), уравнение аддитивности Лозва (Loewe, S. and Muischnek, H., Arch. Exp. Pathol Pharmacol. 114:313-326 (1926)) и уравнение медианного эффекта (Chou, T.C. and Talalay, P., Adv. Enzyme Regul. 22:27-55 (1984) и Chou, Pharmacol. Rev. 58:621-681 (2006)). Каждое из упомянутых выше уравнений можно применять для обработки экспериментальных данных с целью построения соответствующего графика, который помогает оценивать эффекты комбинации лекарственных средств. К соответствующим графикам, связанным с упомянутыми выше уравнениями, относятся кривая зависимости эффекта от концентрации, изоболограмма и кривая показателей аддитивности соответственно. В некоторых вариантах осуществления комбинация соединений показывает синергический эффект (то есть больше аддитивного эффекта) при лечении инфекции HBV. В дополнительных вариантах осуществления комбинация соединений показывает синергический эффект (то есть больше аддитивного эффекта) при лечении инфекции HBV.

Уровень синергии < -100, от -100 до -50, от -50 до -25, от -25 до 25, от 25 до 50, от 50 до 100 и >100 указывает на сильный антагонизм, умеренный антагонизм, слабый антагонизм, незначительный синергизм/антагонизм (аддитивность), слабый синергизм, умеренный синергизм и сильный синергизм соответственно.

Используемый в настоящем документе термин "невосприимчивый" или "не поддающийся лечению" для терапевтического агента в отношении того или иного пациента с HBV означает, что пациент с HBV обладает врожденной или приобретенной невосприимчивостью к эффектам воздействия терапевтического агента по результатам контакта с терапевтическим агентом. Иными словами, пациент с HBV невосприимчив к обычным стандартам лечения, связанным с конкретным терапевтическим агентом.

Используемый в настоящем документе термин "ранее не получавший лечение" относится к пациенту, который ранее не получал лечение с применением исследовательского или утвержденного лекарственного средства от инфекции HBV, в частности, с применением нуклеоз(т)идного лекарственного средства.

В альтернативном варианте осуществления пациенты, получавшие лечение в соответствии со способами настоящего описания, могут быть "ранее получавшими лечение". Используемый в настоящем документе термин "ранее получавший лечение" относится к пациенту, который проходил по меньшей мере один ранее проводимый курс противовирусной терапии HBV, в частности, с применением нуклеоз(т)ида. В некоторых вариантах осуществления последнюю дозу в этом предыдущем курсе вводили по меньшей мере за три месяца до осуществления способа в соответствии с настоящим описанием.

Инфекциям HBV, которые можно лечить в соответствии с описанными способами, включают в себя генотипы инфекций HBV A, B, C и/или D. Однако в одном варианте осуществления можно использовать описанные способы для лечения любого генотипа HBV ("пан-генотипическое лечение"). Можно осуществлять генотипирование HBV с использованием способов, известных специалистам в области, например INNO-LiPA® HBV Genotyping, Innogenetics N.V., г. Гент, Бельгия).

В настоящем документе термин "алкил" отдельно или как часть другого заместителя означает, при отсутствии иных указаний, линейную или разветвленную углеводородную цепь, имеющую определенное число обозначенных атомов углерода (т.е. C₁-C₆-алкил означает алкил, имеющий от одного до шести атомов углерода), и включает в себя прямую и разветвленную цепи. Примеры включают в себя метил, этил, пропил, изопропил, бутил, изобутил, трет-бутил, пентил, неопентил и гексил. Другие примеры C₁-C₆-алкила включают в себя этил, метил, изопропил, изобутил, н-пентил и н-гексил.

В настоящем документе термин "алкенил" означает моновалентную группу, полученную из углеводородной функциональной группы, содержащей по меньшей мере два атома углерода и по меньшей мере одну двойную углеродную связь. Двойная связь может быть или может не быть точкой прикрепления другой группы. Алкенильные группы (например, C₂-C₈-алкенил) включают в себя, без ограничений, например, этенил, пропенил, проп-1-ен-2-ил, бутенил, 1-метил-2-бутен-1-ил, гептенил, октенил и т.п.

Используемый в настоящем документе термин "алкинил" означает линейный или разветвленный углеводородный радикал, содержащий до 6 атомов углерода и имеющий по меньшей мере одну углеродную тройную связь. Примеры алкинильных групп включают в себя, без ограничений, этинил, 1-пропинил, 1-бутинил и т.п.

Используемый в настоящем документе термин "алкокси" обозначает -O-алкильную группу, причем алкил определен, как указано в настоящем документе. В качестве примера алкокси включает в себя метокси, этокси, н-пропокси, изопропокси, н-бутокси, втор-бутокси, т-бутокси и т.п.

В настоящем документе термин "галоген" или "галоген" отдельно или как часть другого заместителя

означает, при отсутствии иных указаний, атом фтора, хлора, брома или йода, предпочтительно фтора, хлора или брома, более предпочтительно фтора или хлора.

Используемый в настоящем документе термин "циклоалкил" означает неароматическую карбоциклическую систему, которая частично или полностью насыщена с 1, 2 или 3 кольцами, причем такие кольца могут быть конденсированными.

Термин "конденсированный" означает, что наличие второго кольца в структуре (например, присоединенного или образованного) обусловлено наличием двух общих с первым кольцом смежных атомов (например, совместных). Циклоалкил также включает в себя бициклические структуры, которые могут быть мостиковыми или спироциклическими по природе, причем каждое отдельное кольцо в пределах бицикла содержит 3-8 атомов.

Термин "циклоалкил" включает в себя, без ограничений, циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил, бицикло[3.1.0]гексил, спиро[3.3]гептанол и бицикло[1.1.1]пентил.

Используемый в настоящем документе термин "гетероциклоалкил" означает неароматическую карбоциклическую систему, содержащую 1, 2, 3 или 4 гетероатома, выбранных независимо из N, O и S, и имеющую 1, 2 или 3 кольца, причем такие кольца могут быть конденсированы, при этом термин "конденсированный" определен выше. Гетероциклоалкил также включает в себя бициклические структуры, которые могут быть мостиковыми или спироциклическими по природе, но при этом каждое отдельное кольцо в пределах бицикла содержит 3-8 атомов и содержит 0, 1 или 2 атома N, O или S.

Термин "гетероциклоалкил" включает в себя циклические сложные эфиры (например, лактоны) и циклические амиды (например, лактамы), а также, в частности, включает в себя, без ограничений, эпоксидил, оксетанил, тетрагидрофуранил, тетрагидропиранил (например, оксанил), пиранил, диоксанил, азиридирил, азетилдинил, пирролидинил, 2,5-дигидро-1Н-пирролил, оксазолидинил, тиазолидинил, пиперидинил, морфолинил, пиперазинил, тиоморфолинил, 1,3-оксазинанил, 1,3-гиазинанил, 2-азабицикло[2.1.1]гексанил, 5-азабицикло[2.1.1]гексанил, 6-азабицикло[3.1.1]гептанол, 2-азабицикло[2.2.1]гептанол, 3-азабицикло[3.1.1]гептанол, 2-азабицикло[3.1.1]гептанол, 3-азабицикло[3.1.0]гексанил, 2-азабицикло[3.1.0]гексанил, 3-азабицикло[3.2.1]октанол, 8-азабицикло[3.2.1]октанол, 3-окса-7-азабицикло[3.3.1]нонанил, 3-окса-9-азабицикло[3.3.1]нонанил, 2-окса-5-азабицикло[2.2.1]гептанол, 6-окса-3-азабицикло[3.1.1]гептанол, 2-азаспиро[3.3]гептанол, 2-окса-6-азаспиро[3.3]гептанол, 2-оксаспиро[3.3]гептанол, 2-оксаспиро[3.5]нонанил, 3-оксаспиро[5.3]нонанил и 8-оксабицикло[3.2.1]октанол.

В настоящем документе термин "ароматический" означает углеродный цикл или гетероцикл с одним или более полиненасыщенными кольцами и имеющий ароматический характер, т.е. имеющий $(4n+2)$ делокализованных π (пи) электронов, где n представляет собой целое число.

Используемый в настоящем документе термин "арил" означает ароматическую карбоциклическую систему, содержащую 1, 2, или 3 кольца, причем такие кольца могут быть конденсированы, при этом термин "конденсированный" определен выше. Если кольца конденсированы, одно из колец должно быть полностью ненасыщенным, и конденсированное(ые) кольцо(а) могут быть полностью насыщенными, частично ненасыщенными или полностью ненасыщенными. Термин "арил" включает в себя, без ограничений, фенил, нафтил, инданил и 1,2,3,4-тетрагидроафталинил.

Используемый в настоящем документе термин "гетероарил" означает ароматическую карбоциклическую систему, содержащую 1, 2, 3 или 4 гетероатома, выбранных независимо из N, O и S, и имеющую 1, 2 или 3 кольца, причем такие кольца могут быть конденсированы, при этом термин "конденсированный" определен выше. Термин "гетероарил" включает в себя, без ограничений, фуранил, тиофенил, оксазолил, тиазолил, имидазолил, пиразолил, триазолил, тетразолил, изоксазолил, изотиазолил, оксадиазолил, тиадиазолил, пиридирил, пиридазинил, пиримидинил, пиразинил, имидазо[1,2-а]пиридирил, пиразоло[1,5-а]пиридирил, 5,6,7,8-тетрагидроизохинолинил, 5,6,7,8-тетрагидрохинолинил, 6,7-дигидро-5Н-циклопента[б]пиридирил, 6,7-дигидро-5Н-циклопента[с]пиридирил, 1,4,5,6-тетрагидроциклопента[с]пиразолил, 2,4,5,6-тетрагидроциклопента[с]пиразолил, 5,6-дигидро-4Н-пирроло[1,2-б]пиразолил, 6,7-дигидро-5Н-пирроло[1,2-б][1,2,4]триазолил, 5,6,7,8-тетрагидро-[1,2,4]триазоло[1,5-а]пиридирил, 4,5,6,7-тетрагидропиразоло[1,5-а]пиридирил, 4,5,6,7-тетрагидро-1Н-индазолил и 4,5,6,7-тетрагидро-2Н-индазолил.

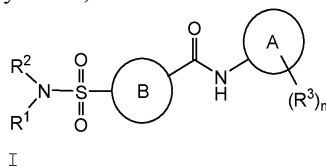
Следует понимать, что, если арильная, гетероарильная, циклоалкильная или гетероциклоалкильная группа связана или иным образом соединена с выделенной функциональной группой через различные атомы кольца (например, показанные или описанные без обозначения конкретной точки прикрепления), в этом случае подразумевают все возможные точки, как через атом углерода, так и, например, через трехвалентный атом азота. Например, термин "пиридирил" означает 2-, 3- или 4-пиридирил, термин "тиофенил" означает 2- или 3-тиофенил и т.д.

В настоящем документе термин "замещенный" означает, что атом или группа атомов заменила водород в качестве заместителя, присоединенного к другой группе.

II. Соединения.

В настоящем документе предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества аллостерического модулятора

капсидного белка (СрАМ) и ингибитора обратной транскриптазы. В одном варианте осуществления СрАМ является аллостерическим модулятором капсидного белка, который вызывает aberrantную, дефектную или неполную сборку капсидов HBV. В другом варианте осуществления СрАМ является аллостерическим модулятором капсидного белка, вызывающим сборку капсидов, которые по существу являются пустыми с точки зрения их вирусного содержания. Способы, комбинированный продукт и композиции, предложенные в настоящем документе, включают в себя соединение формулы I



или его фармацевтически приемлемую соль, его гидрат, его сольват, или его кристаллическую форму и ингибитор обратной транскриптазы, или его фармацевтически приемлемую соль, или его пролекарство,

где А представляет собой фенил или пиридинил;

В представляет собой моноциклическое ароматическое или гетероароматическое 5- или 6-членное кольцо, причем такое ароматическое или гетероароматическое кольцо необязательно содержит один или более заместителей, каждый из которых независимо выбран из галогена или C₁-C₆-алкила;

R¹ представляет собой H или C₁-C₆-алкил;

R² представляет собой C₁-C₆-алкил, причем указанный C₁-C₆-алкил необязательно содержит один или более заместителей, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена, C₁-C₆-алкокси, оксо, C₁-C₆-алкила, OH, CN, CFH₂, CF₂H и CF₃; или

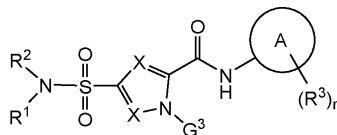
R¹ и R² сгруппированы вместе с образованием C₂-C₇-гетероциклоалкильного кольца, причем указанное C₂-C₇-гетероциклоалкильное кольцо необязательно содержит один или более заместителей, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена, C₁-C₆-алкокси, оксо, C₁-C₆-алкила, OH, CN, CFH₂, CF₂H и CF₃;

каждый R³ независимо выбран из группы, состоящей из галогена, C₁-C₆-алкила, C₁-C₆-алкокси, циано, C₁-C₆-алкенила, C₁-C₆-алкинила и OH; и

n равно 0, 1, 2 или 3.

В одном варианте осуществления формулы I В представляет собой 5-членное гетероароматическое кольцо, которое необязательно и независимо содержит один или более заместителей в виде галогена или C₁-C₆-алкила.

В одном варианте осуществления соединение формулы I представляет собой соединение формулы IA



или его фармацевтически приемлемую соль, его гидрат, его сольват, или его кристаллическую форму,

где А представляет собой фенил или пиридинил;

R¹ представляет собой H или C₁-C₆-алкил;

R² представляет собой C₁-C₆-алкил, необязательно и независимо содержащий один или более заместителей в виде галогена, C₁-C₆-алкокси, оксо, C₁-C₆-алкила, OH, CN, CFH₂, CF₂H или CF₃;

R³ представляет собой независимо для каждого случая галоген, C₁-C₆-алкил, C₁-C₆-алкокси, циано, C₁-C₆-алкенил, C₁-C₆-алкинил или OH;

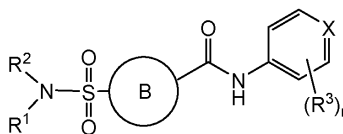
X представляет собой CR⁴;

G³ представляет собой H или C₁-C₆-алкил;

R⁴ представляет собой независимо для каждого случая H, галоген, C₁-C₃-алкил или циано;

n равно 0, 1, 2 или 3.

В одном варианте осуществления соединение формулы I представляет собой соединение формулы IB



или его фармацевтически приемлемую соль, его гидрат, его сольват, или его кристаллическую

форму,

где X представляет собой CR или N;

V представляет собой C₅-C₆-арил, C₅-C₆-циклоалкил, 5-6-членный гетероарил или 5-6-членный гетероцикл, причем все из перечисленных могут необязательно содержать заместитель в виде C₁-C₄-алкила или галогена;

R¹ представляет собой H или C₁-C₆-алкил;

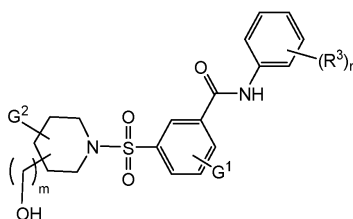
R² представляет собой C₁-C₆-алкил, необязательно и независимо содержащий один или более заместителей в виде галогена, C₁-C₆-алкокси, оксо, C₁-C₆-алкила, OH, CN, CFH₂, CF₂H или CF₃;

R³ представляет собой независимо для каждого случая галоген, C₁-C₆-алкил, C₁-C₆-алкокси, циано, C₁-C₆-алкенил, C₁-C₆-алкинил или OH;

R представляет собой C₁-C₄-алкил или галоген;

n равно 0, 1, 2 или 3.

В одном варианте осуществления соединение формулы I представляет собой соединение формулы II



II

или его фармацевтически приемлемую соль, его гидрат, его сольват, или его кристаллическую форму,

где R³ представляет собой галоген;

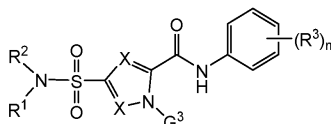
G¹ представляет собой H, C₁-C₄-алкил или галоген;

G² выбран из группы, состоящей из H, галогена, C₁-C₄-алкила и OH;

n равно 0, 1, 2 или 3;

m равно 0, 1 или 2.

В другом варианте осуществления соединение формулы I представляет собой соединение формулы IIIA



IIIA

или его фармацевтически приемлемую соль, его гидрат, его сольват, или его кристаллическую форму,

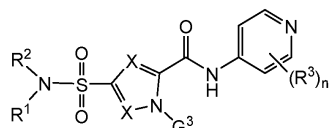
где R¹ представляет собой H или C₁-C₆-алкил;

R² представляет собой C₁-C₆-алкил, необязательно и независимо содержащий один или более заместителей в виде галогена, C₁-C₆-алкокси, оксо, C₁-C₆-алкила, OH, CN, CFH₂, CF₂H или CF₃;

R³ представляет собой независимо для каждого случая галоген, C₁-C₆-алкил, C₁-C₆-алкокси, циано, C₁-C₆-алкенил, C₁-C₆-алкинил или OH;

R⁴ представляет собой H, галоген, C₁-C₃-алкил или циано.

В еще одном варианте осуществления соединение формулы I представляет собой соединение формулы IIIB



IIIB

или его фармацевтически приемлемую соль, его гидрат, его сольват, или его кристаллическую форму,

где R¹ представляет собой H или C₁-C₆-алкил;

R² представляет собой C₁-C₆-алкил, причем указанный C₁-C₆-алкил необязательно содержит один или более заместителей, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена, C₁-C₆-алкокси, оксо, C₁-C₆-алкила, OH, CN, CFH₂, CF₂H и CF₃;

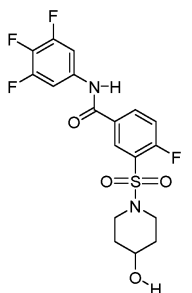
каждый R³ независимо выбран из группы, состоящей из галогена, C₁-C₆-алкила, C₁-C₆-алкокси, циано, C₁-C₆-алкенила, C₁-C₆-алкинила и OH;

G³ представляет собой H или C₁-C₆-алкил;

X представляет собой CR⁴;

R⁴ выбран из группы, состоящей из H, галогена, C₁-C₃-алкила и циано;
n равно 0, 1, 2 или 3.

Способы, комбинированный продукт и композиции, предложенные в настоящем документе, могут включать в себя соединение 1:



Соединение 1

В настоящем документе соединение 1 также называют "соединением I" или "соед. (I)". Соединение 1, в том числе его синтез, описано PCT Publication № WO 2013/096744, которая путем ссылки полностью включена в настоящий документ.

Кроме того, соединение 1 может существовать в кристаллической форме, предпочтительно в такой, которая является стабильной к воздействиям высоких температур и влажности. Различные кристаллические формы соединения 1 описаны в WO 2017/059059, которая путем ссылки полностью включена в настоящий документ.

Например, форма XVI соединения 1 имеет структуру порошковой рентгеновской дифракции, представленной на фиг. 9. Соответствующие значения θ -угла приведены в табл. 1.

Таблица 1

Структура порошковой рентгеновской дифракции
для формы XVI соединения 1

№	Пол. [$^{\circ}2$ -тета]	Интенсивность пика [имп/с]
1	8,3325	177,19
2	10,9344	1935,52
3	14,3722	3710,48
4	14,9241	373,24
5	15,8427	2224,43
6	16,4561	2064,13
7	17,0677	5116,86
8	18,5296	4972,27
9	18,9049	872,76
10	20,0163	3381,98
11	20,7658	13446,21
12	21,5994	1648,19
13	22,1592	5552,43
14	22,8341	878,36
15	23,4421	2910,94
16	23,6338	2169,37
17	24,9292	12671,51
18	26,5972	15673,37
19	27,9963	3230,31
20	28,3825	1934,34
21	29,5627	1788,4
22	29,766	1697,44
23	30,4527	1526,62
24	31,1958	954,79
25	31,7034	1030,38
26	32,9259	1755,93
27	34,1563	1312
28	34,5404	2059,7
29	35,6022	1008,97
30	36,3734	2480,94
31	36,753	1575,29
32	38,3689	1684,63
33	39,7099	915,35
34	40,1675	1190,9
35	41,707	685,21
36	43,6419	800,32
37	44,6892	1534,39

Таким образом, в одном варианте осуществления соединение 1 присутствует в кристаллической форме, которую характеризуют структурой порошковой рентгеновской дифракции, имеющей пики, выраженные в градусах-2-тета при углах ($\pm 0,2^{\circ}$), равных 17,1, 20,8, 22,2, 24,9 и 26,6 $^{\circ}$ (форма XVI).

В дополнительном варианте осуществления кристаллическую форму характеризуют структурой порошковой рентгеновской дифракции, имеющей пики, выраженные в градусах-2-тета при углах ($\pm 0,2^{\circ}$), равных 14,4, 17,1, 18,5, 20,0, 20,8, 22,2, 23,4, 24,9, 26,6, 28,0 и 36,4 $^{\circ}$ (форма XVI).

В еще одном дополнительном варианте осуществления кристаллическую форму характеризуют структурой порошковой рентгеновской дифракции, имеющей пики, выраженные в градусах-2-тета при углах ($\pm 0,2^{\circ}$), равных 8,3, 10,9, 14,4, 14,9, 15,8, 16,5, 17,1, 18,5, 18,9, 20,0, 20,8, 21,6, 22,2, 22,8, 23,4, 23,6, 24,9, 26,6, 28,0, 28,4, 29,6, 29,8, 30,5, 31,2, 31,7, 32,9, 34,2, 34,5, 35,6, 36,4, 36,8, 38,4, 39,7, 40,2, 41,7, 43,6 и 44,7 $^{\circ}$ (форма XVI).

В другом варианте осуществления кристаллическую форму характеризуют структурой порошковой рентгеновской дифракции, имеющей пики, выраженные в градусах-2-тета при углах ($\pm 0,2^{\circ}$), равных 8,33, 10,93, 14,37, 14,92, 15,84, 16,46, 17,07, 18,53, 18,90, 20,02, 20,77, 21,60, 22,16, 22,83, 23,44, 23,63, 24,93, 26,60, 28,00, 28,38, 29,56, 29,77, 30,45, 31,20, 31,70, 32,93, 34,16, 34,54, 35,60, 36,37, 36,75, 38,37, 39,71, 40,17, 41,71, 43,64 и 44,69 $^{\circ}$ (форма XVI).

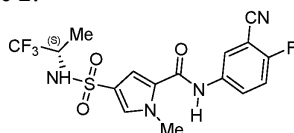
В одном варианте осуществления кристаллическую форму характеризуют структурой порошковой рентгеновской дифракции, которая по существу идентична приведенной на фиг. 9.

Структура порошковой рентгеновской дифракции для формы III соединения 1 приведена на фиг. 10. Соответствующие значения $^{\circ}2$ -тета приведены в табл. 2.

Таблица 2
Структура порошковой рентгеновской дифракции
соединения 1 (формы III, сольват ацетона)

№	Пол. [$^{\circ}2$ -тета]	Высота [см]
1	6,1533	339,26
2	9,0816	1104,7
3	9,9483	1907,02
4	10,0321	1552,49
5	12,1685	3556,97
6	12,9616	383,96
7	14,2397	315,01
8	15,1483	2480,83
9	16,2048	1828,9
10	16,8775	256,66
11	18,269	953,62
12	18,6378	3776,85
13	19,9348	205,82
14	21,1993	1960,44
15	21,9332	550,39
16	22,2455	479,41
17	23,1308	548,36
18	24,4803	948,12
19	25,4636	170,21
20	25,8397	586,56
21	26,139	787,4
22	26,7489	173,31
23	27,404	149,44
24	28,053	307,13
25	28,9464	155,2
26	30,0145	564,17
27	31,9986	284,25
28	33,0882	659,21
29	34,0244	203,24
30	34,3991	227,63
31	37,0076	210,03
32	38,3419	102,07
33	40,4682	165,35
34	42,4278	144,39

В другом аспекте способы, комбинированный продукт и композиции, предложенные в настоящем документе, включают в себя соединение 2:

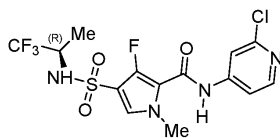


Соединение 2

или его фармацевтически приемлемую соль, его гидрат, его сольват, или его кристаллическую форму.

В настоящем документе соединение 2 также называют "соединением II" или "соед. II". Соединение 2, в том числе его синтез, описано в РСТ Publication № WO 2014/184350, которая путем ссылки полностью включена в настоящий документ.

В еще одном аспекте способы, комбинированный продукт и композиции, предложенные в настоящем документе, включают в себя соединение 3:



Соединение 3

или его фармацевтически приемлемую соль, его гидрат, его сольват, или его кристаллическую форму. В настоящем документе соединение 3 также называют "соединением III" или "соед. (III)".

Соединение 3, в том числе его синтез, описано в PCT Publication № WO2015/118057, которая путем ссылки полностью включена в настоящий документ.

III. Способы.

В одном аспекте, представленном в настоящем документе, предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества аллостерического модулятора капсидного белка (СрАМ) и терапевтически эффективного количества ингибитора обратной транскриптазы. В одном варианте осуществления способа СрАМ является аллостерическим модулятором капсидного белка, который вызывает aberrантную, дефектную или неполную сборку капсидов HBV. В другом варианте осуществления способа СрАМ является аллостерическим модулятором капсидного белка, вызывающим сборку капсидов, которые по существу являются пустыми с точки зрения их вирусного содержания. В одном аспекте, представленном в настоящем документе, предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли, его гидрата, его сольвата, или его кристаллической формы и ингибитора обратной транскриптазы, или его фармацевтически приемлемой соли, или его пролекарства.

В другом аспекте, представленном в настоящем документе, предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения формулы IA или его фармацевтически приемлемой соли, его гидрата, его сольвата, или его кристаллической формы и ингибитора обратной транскриптазы, или его фармацевтически приемлемой соли, или его пролекарства.

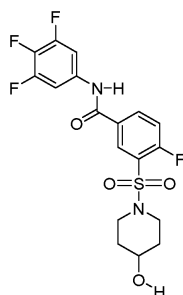
В еще одном аспекте, представленном в настоящем документе, предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения формулы IB или его фармацевтически приемлемой соли, его гидрата, его сольвата, или его кристаллической формы и ингибитора обратной транскриптазы, или его фармацевтически приемлемой соли, или его пролекарства.

В еще одном аспекте, представленном в настоящем документе, предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения формулы II или его фармацевтически приемлемой соли, его гидрата, его сольвата, или его кристаллической формы и ингибитора обратной транскриптазы, или его фармацевтически приемлемой соли, или его пролекарства.

В еще одном аспекте, представленном в настоящем документе, предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения формулы IIIA или его фармацевтически приемлемой соли, его гидрата, его сольвата, или его кристаллической формы и ингибитора обратной транскриптазы, или его фармацевтически приемлемой соли, или его пролекарства.

В еще одном аспекте, представленном в настоящем документе, предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения формулы IIIB или его фармацевтически приемлемой соли, его гидрата, его сольвата, или его кристаллической формы и ингибитора обратной транскриптазы, или его фармацевтически приемлемой соли, или его пролекарства.

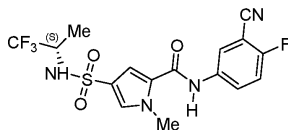
В еще одном варианте осуществления, представленном в настоящем изобретении, предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 1:



Соединение 1

или его фармацевтически приемлемой соли, его гидрата, его сольвата, или его кристаллической формы и ингибитора обратной транскриптазы или его фармацевтически приемлемой соли, или его пролекарства.

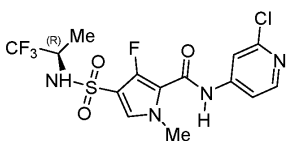
В другом аспекте, представленном в настоящем документе, предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 2:



Соединение 2

или его фармацевтически приемлемой соли, его гидрата, его сольвата, или его кристаллической формы и ингибитора обратной транскриптазы, или его фармацевтически приемлемой соли, или его пролекарства.

В другом аспекте, представленном в настоящем документе, предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 3:



Соединение 3

или его фармацевтически приемлемой соли, его гидрата, его сольвата, или его кристаллической формы и ингибитора обратной транскриптазы, или его фармацевтически приемлемой соли, или его пролекарства.

Пациентами, которые могут получать лечение с использованием описанных способов, в некоторых вариантах осуществления являются люди. Лечение могут получать также другие теплокровные животные.

В одном варианте осуществления способа ингибитор обратной транскриптазы выбран из группы, состоящей из энтекавира, тенофовира и ламивудина, или их фармацевтически приемлемых солей, или их пролекарств. К фармацевтически приемлемым пролекарствам тенофовира относят дизопроксилфумарат тенофовира и алафенамидфумарат тенофовира.

В другом варианте осуществления ингибитором обратной транскриптазы является пуриновый ингибитор обратной транскриптазы.

В одном варианте осуществления соединение формулы I, формулы IA, формулы IB, формулы II, формулы IIIA или формулы IIIB и ингибитор обратной транскриптазы являются частью одного и того же состава. В другом варианте осуществления соединение формулы I, формулы IA, формулы IB, формулы II, формулы IIIA или формулы IIIB и ингибитор обратной транскриптазы являются частью разных составов.

В другом варианте осуществления соединение формулы IA и ингибитор обратной транскриптазы являются частью одного и того же состава. В другом варианте осуществления соединение формулы IA и ингибитор обратной транскриптазы являются частью разных составов.

В другом варианте осуществления соединение формулы IB и ингибитор обратной транскриптазы являются частью одного и того же состава. В другом варианте осуществления соединение формулы IB и ингибитор обратной транскриптазы являются частью разных составов.

В одном варианте осуществления формула II и ингибитор обратной транскриптазы являются частью одного и того же состава. В другом варианте осуществления формула II и ингибитор обратной транскриптазы являются частью разных составов.

В одном варианте осуществления формула IIIA и ингибитор обратной транскриптазы являются частью одного и того же состава. В другом варианте осуществления формула IIIA и ингибитор обратной транскриптазы являются частью разных составов.

В одном варианте осуществления соединение 1 и ингибитор обратной транскриптазы являются частью одного и того же состава. В другом варианте осуществления соединение 1 и ингибитор обратной транскриптазы являются частью разных составов.

В одном варианте осуществления соединение 2 или соединение 3 и ингибитор обратной транскриптазы являются частью одного и того же состава. В другом варианте осуществления соединение 2 или соединение 3 и ингибитор обратной транскриптазы являются частью разных составов.

В одном варианте осуществления способа пациент невосприимчив к лечению ингибитором обратной транскриптазы или не поддается лечению. В другом варианте осуществления пациент невосприимчив к лечению нуклеозидным агентом или не поддается лечению. В еще одном варианте осуществления пациент является ранее не получавшим лечение пациентом.

В одном варианте осуществления соединение 1 вводят в количестве от 600 мг в день до 3000 мг в день (в том числе, например, около 600, около 800, около 1000, около 1200, около 1400, около 1600, около 1800, около 2000 мг). В другом варианте осуществления соединение 1 вводят в количестве от 600 мг в день до 3000 мг в день. В конкретном варианте осуществления соединения 1 вводят в количестве около 2000 мг в день. В дополнительном варианте осуществления соединения 1 вводят в количестве около 1000 мг дважды в день.

В одном варианте осуществления соединения 2 или соединения 3 вводят в количестве от 5 мг в день до 600 мг в день (в том числе, например, около 5, около 25, около 50, около 100, около 200, около 300, около 400, около 500, около 600 мг). В другом варианте осуществления соединения 2 или соединения 3 вводят в количестве от 5 до 600 мг в день. В конкретном варианте осуществления соединения 2 или соединения 3 вводят в количестве около 25 мг в день. В дополнительном варианте осуществления соединения 2 или соединения 3 вводят в количестве от около 10 до 200 мг раз в день.

В одном варианте осуществления, приведенном в настоящем документе, соединения 1 находится в кристаллической форме. В дополнительном варианте осуществления кристаллическую форму характеризуют структурой порошковой рентгеновской дифракции, имеющую пики, выраженные в градусах-2-тета при углах ($\pm 0,2^\circ$), равных 17,1, 20,8, 22,2, 24,9 и $26,6^\circ$ (форма XVI).

В другом варианте осуществления приведенного в настоящем документе способа введения соединения формулы I, формулы IA, формулы IB, формулы II, формулы IIIA или формулы IIIB и ингибитора обратной транскриптазы происходит за период времени менее 48 недель.

В другом варианте осуществления приведенного в настоящем документе способа введения соединения 1 и ингибитора обратной транскриптазы происходит в течение периода времени меньше 48 недель.

В другом варианте осуществления приведенного в настоящем документе способа введения соединения 2 или соединения 3 и ингибитора обратной транскриптазы происходит в течение периода времени меньше 48 недель.

В одном варианте осуществления пациентом является хронически инфицированный HBV пациент (с симптомами основного воспаления печени или без них).

В одном варианте осуществления способ дополнительно включает введение дополнительного агента против вируса HBV. В конкретном варианте осуществления дополнительный агент против вируса HBV представляет собой пегилированный интерферон альфа-2а.

В одном аспекте в настоящем документе предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения формулы I, формулы IA, формулы IB, формулы II, формулы IIIA или формулы IIIB, или его фармацевтически приемлемой соли, его гидрата, его сольвата, или его кристаллической формы, причем пациент невосприимчив к лечению ингибитором обратной транскриптазы или не поддается лечению.

В одном аспекте, представленном в настоящем документе, предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли, его гидрата, его сольвата, или его кристаллической формы, причем пациент невосприимчив к лечению ингибитором обратной транскриптазы или не поддается лечению.

В другом аспекте, представленном в настоящем документе, предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 2 или соединения 3, или их фармацевтически приемлемых солей, их гидратов, их сольватов, или их кристаллических форм, причем пациент невосприимчив к лечению ингибитором обратной транскриптазы или не поддается лечению.

В еще одном аспекте, представленном в настоящем документе, предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения формулы I, формулы IA, формулы IB, формулы II, формулы IIIA или формулы IIIB, или его фармацевтически приемлемой соли, его гидрата, его сольвата, или его кристаллической формы, причем пациент невосприимчив к лечению нуклеозидным агентом или не поддается лечению.

В еще одном аспекте, представленном в настоящем документе, предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли, его гидрата, его сольвата, или его кристаллической формы, причем пациент невосприимчив к лечению нуклеозидным агентом или не поддается лечению.

В варианте осуществления, представленном в настоящем изобретении, предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 1 и энтекавира.

В другом варианте осуществления, представленном в настоящем изобретении, предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 1 и тенофовира.

В другом варианте осуществления, представленном в настоящем изобретении, предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически

соединение 3 вводят в количестве около 25 мг в день. В одном варианте осуществления соединения 2 или соединения 3 вводят в количестве от около 10 до 200 мг раз в день.

В другом варианте осуществления этих способов введение соединения формулы I, формулы IA, формулы IB, формулы II, формулы IIIA или формулы IIIB и ингибитора обратной транскриптазы происходит за период времени менее 48 недель.

В другом варианте осуществления этих способов введение соединения 1 и ингибитора обратной транскриптазы происходит в течение периода времени менее 48 недель.

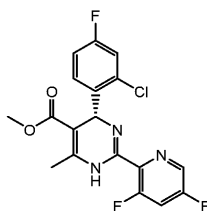
В другом варианте осуществления этих способов введение соединения 2 или соединения 3 и ингибитора обратной транскриптазы происходит в течение периода времени менее 48 недель.

В другом варианте осуществления пациентом является хронически инфицированный HBV пациент (с симптомами основного воспаления печени или без них).

В одном аспекте, представленном в настоящем документе, предложен способ ингибирования репликации нуклеозид-резистентного варианта HBV, включающий приведение указанного варианта в контакт с эффективным количеством соединения формулы I, формулы IA, формулы IB, формулы II, формулы IIIA или формулы IIIB, или его фармацевтически приемлемой соли, его гидрата, его сольвата, или его кристаллической формы.

В одном аспекте, представленном в настоящем документе, предложен способ ингибирования репликации нуклеозид-резистентного варианта HBV, включающий приведение указанного варианта в контакт с эффективным количеством соединения 1, или его фармацевтически приемлемой соли, его гидрата, его сольвата, или его кристаллической формы. В еще одном аспекте, представленном в настоящем документе, предложен способ ингибирования репликации нуклеозид-резистентного варианта HBV, включающий приведение указанного варианта в контакт с эффективным количеством соединения 2 или соединения 3, или их фармацевтически приемлемыми солями, их гидратами, их сольватами, или их кристаллическими формами.

В другом аспекте, представленном в настоящем документе, предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения формулы I, формулы IA, формулы IB, формулы II, формулы IIIA или формулы IIIB, или его фармацевтически приемлемой соли, его гидрата, его сольвата, или его кристаллической формы и соединения A



A

или его фармацевтически приемлемой соли.

В другом аспекте, представленном в настоящем документе, предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 1, или его фармацевтически приемлемой соли, его гидрата, его сольвата, или его кристаллической формы и соединения A или его фармацевтически приемлемой соли.

В еще одном аспекте, представленном в настоящем документе, предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 2 или соединения 3, или его фармацевтически приемлемых солей, его гидратов, его сольватов или его кристаллических форм и соединения A, или его фармацевтически приемлемой соли.

В другом аспекте, представленном в настоящем документе, предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения формулы I, формулы IA, формулы IB, формулы II, формулы IIIA или формулы IIIB, или его фармацевтически приемлемой соли, его гидрата, его сольвата, или его кристаллической формы и энтекавира или его фармацевтически приемлемой соли. В одном варианте осуществления соединения формулы I, формулы IA, формулы IB, формулы II, формулы IIIA или формулы IIIB и энтекавир вводят в определенных дозах и в течение определенных промежутков времени, чтобы продуцировать синергический эффект.

В другом аспекте, представленном в настоящем документе, предложен способ лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 1, или его фармацевтически приемлемой соли, его гидрата, его сольвата, или его кристаллической формы и энтекавира, или его фармацевтически приемлемой соли. В одном варианте осуществления соединения 1 и энтекавир вводят в определенных дозах и в течение определенных промежутков времени, чтобы продуцировать синергический эффект.

В другом аспекте, представленном в настоящем документе, предложен способ лечения инфекции

В одном варианте осуществления, представленном в настоящем документе, предложены соединения формулы IV и ингибитор обратной транскриптазы для применения в комбинированной терапии для лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, причем соединения формулы IV и ингибитор обратной транскриптазы предназначены для одновременного, последовательного или раздельного введения.

В одном варианте осуществления, представленном в настоящем документе, предложены соединения формулы II и ингибитор обратной транскриптазы для применения в комбинированной терапии для лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, причем соединения формулы II и ингибитор обратной транскриптазы предназначены для одновременного, последовательного или раздельного введения.

В одном варианте осуществления, представленном в настоящем документе, предложены соединения формулы IIIA и ингибитор обратной транскриптазы для применения в комбинированной терапии для лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, причем соединения формулы IIIA и ингибитор обратной транскриптазы предназначены для одновременного, последовательного или раздельного введения.

В одном варианте осуществления, представленном в настоящем документе, предложены соединения формулы IIIB и ингибитор обратной транскриптазы для применения в комбинированной терапии для лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, причем соединения формулы IIIB и ингибитор обратной транскриптазы предназначены для одновременного, последовательного или раздельного введения.

В одном варианте осуществления, представленном в настоящем документе, предложены соединения I и ингибитор обратной транскриптазы для применения в комбинированной терапии для лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, причем соединения I и ингибитор обратной транскриптазы предназначены для одновременного, последовательного или раздельного введения.

В другом варианте осуществления, представленном в настоящем документе, предложены соединения 2 и ингибитор обратной транскриптазы для применения в комбинированной терапии для лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, причем соединения 2 и ингибитор обратной транскриптазы предназначены для одновременного, последовательного или раздельного введения.

В другом варианте осуществления, представленном в настоящем документе, предложены соединения 3 и ингибитор обратной транскриптазы для применения в комбинированной терапии для лечения инфекции HBV у требующего этого пациента, причем соединения 3 и ингибитор обратной транскриптазы предназначены для одновременного, последовательного или раздельного введения.

Суточные дозы, описанные в настоящем документе, рассчитаны для среднего веса тела от около 60 до около 70 кг и должны быть пересчитаны для педиатрических применений или при использовании для пациентов с по существу отклоняющимся весом тела.

IV. Комбинированные продукты и композиции.

В одном аспекте, представленном в настоящем документе, предложен комбинированный продукт, содержащий аллостерический модулятор капсидного белка (СрАМ) и ингибитор обратной транскриптазы. В одном варианте осуществления комбинированного продукта СрАМ является аллостерическим модулятором капсидного белка, который вызывает aberrantную, дефектную или неполную сборку капсидов HBV. В другом варианте осуществления комбинированного продукта СрАМ является аллостерическим модулятором капсидного белка, вызывающим сборку капсидов, которые по существу являются пустыми с точки зрения их вирусного содержания. В одном варианте осуществления комбинированного продукта формулы I, формулы IA, формулы II, формулы IIIA или формулы IIIB ингибитор обратной транскриптазы выбран из группы, состоящей из энтекавира, тенофовира, ламивудина, телбивудина, адефовира, клебудина, CMX157, AGX-1009, зидовудина, диданозина, залцитабина, ставудина, эмтрицитабина, абакавира, D-D4FC, аловудина, амдоксовира, элвудитабина, делавирдина, эфавиренза, невирапина, капривирина, каланолида А, TMC278, BMS-561390 и DPC-083 или их пролекарств и их фармацевтически приемлемых солей. К фармацевтически приемлемым пролекарствам тенофовира, например, относят дизопротксилфумарат тенофовира и алафенамидфумарат тенофовира.

В некоторых вариантах осуществления комбинированный продукт содержит по меньшей мере соединения I или его фармацевтически приемлемую соль, его гидрат, его сольват и энтекавир.

В некоторых вариантах осуществления комбинированный продукт содержит по меньшей мере соединения I или его фармацевтически приемлемую соль, его гидрат, его сольват и тенофовир.

В некоторых вариантах осуществления комбинированный продукт содержит по меньшей мере одно соединение формулы I и энтекавир.

В некоторых вариантах осуществления комбинированный продукт содержит по меньшей мере одно соединение формулы I и тенофовир.

В некоторых вариантах осуществления комбинированный продукт содержит по меньшей мере одно соединение формулы IA и энтекавир.

В некоторых вариантах осуществления комбинированный продукт содержит по меньшей мере одно соединение формулы IA и тенофовир.

бина, абакавира, D-D4FC, аловудина, амдоксовира, элвудитабина, делавирдина, эфавиренза, невирапина, каправирин, каланолида А, ТМС278, ВМС-561390 и DPC-083 или их пролекарств и их фармацевтически приемлемых солей. К фармацевтически приемлемым пролекарствам тенофовира, например, относят дизопротксилфумарат тенофовира и алафенамидфумарат тенофовира.

В одном варианте осуществления комбинированного продукта соединение 1 и ингибитор обратной транскриптазы являются частью одного и того же состава. В другом варианте осуществления комбинированного продукта соединение 1 и ингибитор обратной транскриптазы являются частью разных составов. В дополнительном варианте осуществления данного варианта осуществления составы предназначены для одновременного или последовательного введения.

В одном варианте осуществления комбинированного продукта соединение 2 или соединение 3 и ингибитор обратной транскриптазы являются частью одного и того же состава. В другом варианте осуществления комбинированного продукта соединение 2 или соединение 3 и ингибитор обратной транскриптазы являются частью разных составов. В дополнительном варианте осуществления данного варианта осуществления составы предназначены для одновременного или последовательного введения.

В одном варианте осуществления комбинированный продукт предназначен для применения в лечении инфекции HBV у пациента.

В одном варианте осуществления комбинированный продукт предназначен для применения в лечении инфекции HBV у пациента, причем пациент невосприимчив к лечению ингибитором обратной транскриптазы. В другом варианте осуществления комбинированный продукт предназначен для применения в лечении инфекции HBV у пациента, причем пациент невосприимчив к лечению нуклеозидным агентом.

В одном варианте осуществления комбинированный продукт предназначен для применения в лечении инфекции HBV у пациента, причем пациент ранее не получал лечение.

В одном варианте осуществления комбинированный продукт соединения 2 или соединения 3 предназначен для применения в лечении инфекции HBV у пациента.

В одном варианте осуществления комбинированный продукт соединения 2 или соединения 3 предназначен для применения в лечении инфекции HBV у пациента, причем пациент невосприимчив к лечению ингибитором обратной транскриптазы. В другом варианте осуществления комбинированный продукт предназначен для применения в лечении инфекции HBV у пациента, причем пациент невосприимчив к лечению нуклеозидным агентом.

В одном варианте осуществления комбинированный продукт соединения 2 или соединения 3 предназначен для применения в лечении инфекции HBV у пациента, при этом пациент ранее не получал лечение.

В одном варианте осуществления комбинированный продукт предназначен для применения в лечении инфекции HBV у пациента, причем пациент хронически инфицирован HBV (с симптомами основного воспаления печени или без него).

В одном варианте осуществления комбинированного продукта соединение 1 используют в количестве от 600 до 3000 мг (например, около 600, около 800, около 1000, около 1200, около 1400, около 1600, около 1800, около 2000 мг). В дополнительном варианте осуществления комбинированного продукта количество соединения 1 составляет от 600 до 2000 мг. В другом варианте осуществления комбинированного продукта количество соединения 1 составляет около 2000 мг. В еще одном варианте осуществления комбинированного продукта количество соединения 1 составляет около 1000 мг.

В одном варианте осуществления комбинированного продукта соединение 2 или соединение 3 используют в количестве от 5 до 600 мг в день (например, около 5, около 25, около 50, около 100, около 200, около 300, около 400, около 500, около 600 мг). В дополнительном варианте осуществления комбинированного продукта количество соединения 2 или соединения 3 составляет от 5 до 600 мг. В другом варианте осуществления комбинированного продукта количество соединения 2 или соединения 3 составляет около 25 мг. В еще одном варианте осуществления комбинированного продукта количество соединения 2 или соединения 3 составляет от 10 до 200 мг.

В одном варианте осуществления комбинированного продукта соединение 1 находится в кристаллической форме. В дополнительном варианте осуществления кристаллическую форму характеризуют структурой порошковой рентгеновской дифракции, имеющую пики, выраженные в градусах-2-тета при углах ($\pm 0,2^\circ$), равных 17,1, 20,8, 22,2, 24,9 и 26,6° (форма XVI).

В одном варианте осуществления комбинированный продукт дополнительно включает в себя дополнительный агент против вируса HBV. В одном варианте осуществления дополнительный агент против вируса HBV представляет собой пегилированный интерферон альфа-2а.

В одном аспекте, представленном в настоящем документе, предложен комбинированный продукт, содержащий соединение 1, или его фармацевтически приемлемую соль, его гидрат, его сольват, или его кристаллическую форму, и ингибитор обратной транскриптазы или его фармацевтически приемлемую соль.

В одном варианте осуществления комбинированного продукта значение соотношения между СРАМ и ингибитором обратной транскриптазы находится в диапазоне 700:1-1:40. В другом варианте осуществления значение соотношения между СРАМ и ингибитором обратной транскриптазы находится в диапа-

8:1, 5:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:5, 1:8, 1:10, 1:15, 1:20, 1:30 или 1:40. В другом варианте осуществления комбинированного продукта значение соотношения между соединением 2 и тенофовиrom находится в диапазоне от 10:1 до 1:1, например 10:1, 8:1, 6:1, 4:1, 2:1 или 1:1. В дополнительном варианте осуществления комбинированного продукта значение соотношения между соединением 2 и тенофовиrom находится в диапазоне от 3:1 до 1:1, например 3:1, 2:1 или 1:1. В еще одном варианте осуществления комбинированного продукта значение соотношения между соединением 2 и тенофовиrom составляет 2:1.

В одном варианте осуществления комбинированного продукта значение соотношения между соединением 3 и энтекавиrom находится в диапазоне от 700:1 до 1:30, например 700:1, 600:1, 500:1, 400:1, 300:1, 200:1, 190:1, 180:1, 170:1, 160:1, 150:1, 140:1, 130:1, 120:1, 110:1, 100:1, 20:1, 15:1, 10:1, 8:1, 5:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:5, 1:8, 1:10, 1:15 или 1:20. В другом варианте осуществления комбинированного продукта значение соотношения между соединением 3 и энтекавиrom находится в диапазоне от 180:1 до 1:2, например 180:1, 170:1, 160:1, 150:1, 140:1, 130:1, 120:1, 110:1, 100:1, 50:1, 20:1, 10:1, 1:1 или 1:2. В дополнительном варианте осуществления комбинированного продукта значение соотношения между соединением 3 и энтекавиrom находится в диапазоне 170:1-150:1, например 170:1, 160:1 или 150:1. В еще одном варианте осуществления комбинированного продукта значение соотношения между соединением 3 и энтекавиrom составляет 160:1.

В одном варианте осуществления комбинированного продукта значение соотношения между соединением 3 и тенофовиrom находится в диапазоне от 80:1 до 1:10, например 80:1, 70:1, 60:1, 50:1, 40:1, 30:1, 20:1, 15:1, 10:1, 1:1 или 1:10. В другом варианте осуществления комбинированного продукта значение соотношения между соединением 3 и тенофовиrom находится в диапазоне от 10:1 до 1:10, например 10:1, 8:1, 6:1, 4:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:4, 1:6, 1:8 и 1:10. В дополнительном варианте осуществления комбинированного продукта значение соотношения между соединением 3 и тенофовиrom находится в диапазоне от 2:1 до 1:2, например 2:1, 1:1 или 1:2. В еще одном варианте осуществления комбинированного продукта значение соотношения между соединением 3 и тенофовиrom составляет 1:1.

В другом аспекте, представленном в настоящем документе, предложена фармацевтическая композиция, содержащая соединение 1, или его фармацевтически приемлемую соль, его гидрат, его сольват, или его кристаллическую форму, и ингибитор обратной транскриптазы или его фармацевтически приемлемую соль.

В одном варианте осуществления фармацевтической композиции ингибитор обратной транскриптазы выбран из группы, состоящей из энтекавира, тенофовира (включая его пролекарства, например, дизопроксил тенофовира и алафенамид тенофовира) и ламивудина или их фармацевтически приемлемых солей.

В другом варианте осуществления фармацевтической композиции дополнительно содержит один или более фармацевтически приемлемых носителей.

В другом аспекте, представленном в настоящем документе, предложена фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы I, формулы IA, формулы IB, формулы II, формулы IIIA или формулы IIIB, или их фармацевтически приемлемые соли, их гидраты, их сольваты, или их кристаллические формы, и ингибитор обратной транскриптазы или его фармацевтически приемлемую соль.

В одном варианте осуществления фармацевтической композиции формулы I, формулы IA, формулы II, формулы IIIA или формулы IIIB ингибитор обратной транскриптазы выбран из группы, состоящей из энтекавира, тенофовира, ламивудина, телбивудина, адефовира, клебудина, CMX157, AGX-1009, зидовудина, диданозина, залцитабина, ставудина, эмтрицитабина, абакавира, D-D4FC, аловудина, амдоксовира, элвудитабина, делавирдина, эфавиренза, невирапина, каправирин, каланолида A, TMC278, BMS-561390 и DPC-083 или их пролекарств и их фармацевтически приемлемых солей. К фармацевтически приемлемым пролекарствам тенофовира, например, относят дизопроксилфумарат тенофовира и алафенамидфумарат тенофовира.

В другом варианте осуществления фармацевтической композиции формулы I, формулы IA, формулы IB, формулы II, формулы IIIA или формулы IIIB дополнительно содержит один или более фармацевтически приемлемых носителей.

В другом аспекте, представленном в настоящем документе, предложена фармацевтическая композиция, содержащая соединение 1, или его фармацевтически приемлемые соли, его гидраты, его сольваты, или его кристаллические формы, и ингибитор обратной транскриптазы или его фармацевтически приемлемую соль.

В одном варианте осуществления фармацевтической композиции соединения 1 ингибитор обратной транскриптазы выбран из группы, состоящей из энтекавира, тенофовира, ламивудина, телбивудина, адефовира, клебудина, CMX157, AGX-1009, зидовудина, диданозина, залцитабина, ставудина, эмтрицитабина, абакавира, D-D4FC, аловудина, амдоксовира, элвудитабина, делавирдина, эфавиренза, невирапина, каправирин, каланолида A, TMC278, BMS-561390 и DPC-083 или их пролекарств и их фармацевтически приемлемых солей. К фармацевтически приемлемым пролекарствам тенофовира, например, относят дизопроксилфумарат тенофовира и алафенамидфумарат тенофовира.

В другом варианте осуществления фармацевтической композиции соединения 1 дополнительно содержит один или более фармацевтически приемлемых носителей.

В другом аспекте, представленном в настоящем документе, предложена фармацевтическая композиция, содержащая соединение 2, или его фармацевтически приемлемые соли, его гидраты, его сольваты, или его кристаллические формы, и ингибитор обратной транскриптазы или его фармацевтически приемлемую соль.

В одном варианте осуществления фармацевтической композиции соединения 2 ингибитор обратной транскриптазы выбран из группы, состоящей из энтекавира, тенофовира, ламивудина, телбивудина, адефовира, клевудина, CMX157, AGX-1009, зидовудина, диданозина, залцитабина, ставудина, эмтрицитабина, абакавира, D-D4FC, аловудина, амдоксовира, элвудитабина, делавирдина, эфавиренза, невирапина, капривирина, каланолида А, TMC278, BMS-561390 и DPC-083 или их пролекарств и их фармацевтически приемлемых солей. К фармацевтически приемлемым пролекарствам тенофовира, например, относят дизопротексилфумарат тенофовира и алафенамидфумарат тенофовира.

В другом варианте осуществления фармацевтическая композиция соединения 2 дополнительно содержит один или более фармацевтически приемлемых носителей.

В еще одном аспекте, представленном в настоящем документе, предложена фармацевтическая композиция, содержащая соединение 3, или его фармацевтически приемлемые соли, его гидраты, его сольваты, или его кристаллические формы, и ингибитор обратной транскриптазы или его фармацевтически приемлемую соль.

В одном варианте осуществления фармацевтической композиции соединения 3 ингибитор обратной транскриптазы выбран из группы, состоящей из энтекавира, тенофовира, ламивудина, телбивудина, адефовира, клевудина, CMX157, AGX-1009, зидовудина, диданозина, залцитабина, ставудина, эмтрицитабина, абакавира, D-D4FC, аловудина, амдоксовира, элвудитабина, делавирдина, эфавиренза, невирапина, капривирина, каланолида А, TMC278, BMS-561390 и DPC-083 или их пролекарств и их фармацевтически приемлемых солей. К фармацевтически приемлемым пролекарствам тенофовира, например, относят дизопротексилфумарат тенофовира и алафенамидфумарат тенофовира.

В другом варианте осуществления фармацевтическая композиция соединения 3 дополнительно содержит один или более фармацевтически приемлемых носителей.

В другом аспекте в настоящем описании предложен набор для лечения инфекций HBV, содержащий СрАМ, соединение 1, соединение 2 или соединение 3, или их фармацевтически приемлемые соли, их гидраты, их сольваты, или их кристаллические формы в количестве от 600 до 3000 мг в день, и ингибитор обратной транскриптазы. В другом варианте осуществления в настоящем описании предложен набор для лечения инфекций HBV, содержащий по меньшей мере два или более из группы, состоящей из СрАМ, соединения 1, соединения 2 или соединения 3, или их фармацевтически приемлемых солей, их гидратов, их сольватов, или их кристаллических форм, в количестве от 600 до 3000 мг в день; ингибитор обратной транскриптазы; и дополнительный агент против вируса HBV. В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит упаковку и инструкции. В некоторых вариантах осуществления набор включает в себя фармацевтический продукт, содержащий фармацевтическую композицию, содержащую СрАМ, соединение 1, соединение 2 или соединение 3, или их фармацевтически приемлемые соли, их гидраты, их сольваты, или их кристаллические формы, и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель; и фармацевтическую композицию, содержащую ингибитор обратной транскриптазы и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

В некоторых вариантах осуществления набор содержит фармацевтическую композицию, содержащую СрАМ, соединение 1, соединение 2 или соединение 3, или их фармацевтически приемлемые соли, их гидраты, их сольваты, или их кристаллические формы; дополнительный агент против вируса HBV; и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель. В другом варианте осуществления набор содержит фармацевтический продукт, содержащий:

фармацевтическую композицию, содержащую СрАМ, соединение 1, соединение 2 или соединение 3, или их фармацевтически приемлемые соли, их гидраты, их сольваты, или их кристаллические формы, в количестве от 600 мг до 3000 мг, и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель;

ингибитор обратной транскриптазы;

герметичный контейнер для упаковки фармацевтической композиции;

герметичный контейнер для размещения ингибитора обратной транскриптазы;

инструкции по применению.

В еще одном варианте осуществления набор содержит фармацевтический препарат, содержащий по меньшей мере два компонента из группы, состоящей из

фармацевтической композиции, содержащей СрАМ, соединение 1, соединение 2 или соединение 3, или их фармацевтически приемлемые соли, их гидраты, их сольваты, или их кристаллические формы, в количестве от 600 до 3000 мг, и фармацевтически приемлемого носителя или разбавителя;

ингибитора обратной транскриптазы;

дополнительного агента против вируса HBV;

дополнительно содержащий

герметичный контейнер для упаковки фармацевтической композиции;

герметичный контейнер для размещения интерферона;

инструкции по применению.

В дополнительных вариантах осуществления предложены фармацевтические наборы. Набор включает в себя герметичный контейнер, разрешенный для хранения фармацевтических композиций, причем контейнер содержит одну из описанных выше фармацевтических композиций. В некоторых вариантах осуществления герметичный контейнер сводит к минимуму контакт воздуха с ингредиентами, например, вакуумированная бутылка. В других вариантах осуществления герметичный контейнер представляет собой герметичную пробирку. В набор должна входить инструкция по применению композиции и информация о композиции.

Примеры

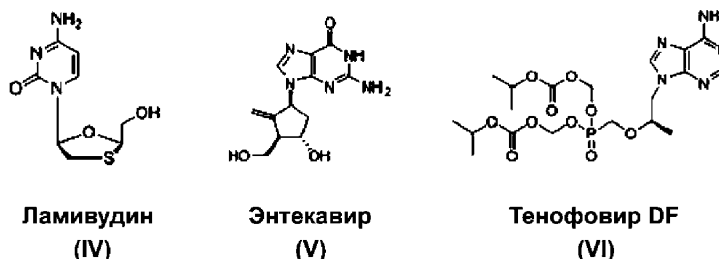
Пример 1. Противовирусная активность соединения 1 по отношению к вариантам HBV, устойчивым к ламивудину, тенофовиру и энтекавиру.

В данном примере определяли противовирусную активность соединения 1 с использованием клеток печени HepG2, подвергнутых транзientной трансфекции с помощью плазмид экспрессии ДНК HBV, способной реплицироваться, и количественного определения внутриклеточной инкапсулированной ДНК HBV. Противовирусную активность соединения 1 измеряли по отношению к чувствительным к нуклеозидным ингибиторам HBV дикого типа, а также по отношению к вариантам HBV, устойчивым к нуклеозидным аналогам, которые содержат сформированные аминокислотные изменения в кодирующей последовательности белка обратной транскриптазы: rtL180M/M204V, rtN236T, rtA181V, rtA181V/N236T и rtL180M/M204V/N236T.

Пример 1.1. Материалы и методы.

Соединения.

Соединение 1 получали посредством синтеза. Ламивудин (LMV), энтекавир (ETV) и дизопроксил-фумарат тенофовира (TDF) были приобретены у компании Toronto Research Chemicals (г. Торонто, Канада), и их химические структуры приведены ниже с обозначением как соединения (IV), (V) и (VI) соответственно:



Плазмиды HBV.

Конструкты плазмидной ДНК, содержащие геном 1,1× HBV, под контролем промотора цитомегаловируса (ЦМВ) были предварительно клонированы из сыворотки инфицированного HBV пациента до лечения LMV (Genbank AY220698, Фуданьский университет, Китай; SEQ ID NO: 1, см. табл. 1) и после формирования устойчивости к LMV (Genbank AY220697, Фуданьский университет, Китай; SEQ ID NO: 2, см. табл. 1) (Zhang J.M. et al. 2005. J. Med. Virol. 77:203-208). Анализ генотипирования подтвердил, что оба изолята относятся к генотипу В HBV и что изолят, собранный после формирования устойчивости к LMV, содержал два аминокислотных изменения в гене полимеразы (L180M/M204V). Вариант HBV был обозначен как rtL180M/M204V, чтобы указать, что аминокислотные изменения присутствовали в белке обратной транскриптазы (rt). Были построены две дополнительные плазмиды за счет введения изменений кодирующих последовательностей, приводящих к аминокислотным изменениям N236T и A181V в полимеразе HBV соответственно. Нуклеотидные изменения вводили в плазмиду генотипа В дикого типа с помощью сайт-направленного мутагенеза в соответствии с рекомендациями изготовителя (Agilent Technologies; г. Санта-Клара, штат Калифорния, США; № кат. 200519) с использованием следующих праймеров и их соответствующей последовательности обратного комплемента (нуклеотидное изменение подчеркнуто): 5' - CTT TGG GTA TAC ATT TAA CCC CTC ACA AAA C - 3' (rtN236T; SEQ ID NO: 3), 5'-GTC CGT TTC TCT TGG TTC AGT TTA CTA GTG - 3' (rtA181V; SEQ ID NO: 4). В двух дополнительных конструктах плазмиды аминокислотное изменение rtN236T также вводили в плазмиды rtA181V и rtL180M/M204V для создания вариантов HBV двойного мутанта rtA181V/N236T и тройного мутанта rtL180M/M204V/N236T соответственно. Геном HBV полной длины секвенировали для всех плазмид, чтобы подтвердить, что в конечных конструктах экспрессии HBV присутствовало(и) только предполагаемое(ые) нуклеотидное(ые) изменение(я).

Таблица 3

Последовательности генома HBV для конструкторов плазмид

SEQ ID NO: 1
aactccacca ctttccacca aactcttcaa gatcccagag tcagggccct gtactttcct 60
gctggtggct ccagttcagg aacagtgagc cctgctcaaa atactgtctc tgccatctcg 120
tcaatcttat cgaaaactgg ggaccctgta ccgaacatgg agaacatcgc atcaggactc 180
ctaggacccc tgctcgtggt acaggcgggg tttttcttgt tgacaaaaat cctcacaata 240
ccacagagtc tagactcgtg gtggacttct ctcaattttc tagggggaac acccgtgtgt 300
cttggccaaa attcgcagtc ccaaatctcc agtcaactac caacctgttg tcctccaatt 360
tgtcctggtt atcgtcggat gtatctgcgg cgttttatca tattcctctg catcctgctg 420
ctatgcctca tcttcttggt ggttcttctg gactatcaag gtatggtgcc cgtttgtcct 480
ctaattccag gatcatcaac aaccagcacc ggaccatgca aaacctgcac gactcctgct 540
caaggaacct ctatgtttcc ctcatgttgc tgtacaaaaac ctacggacgg aaactgcacc 600
tgtattccca tcccatcacc ttgggctttc gcaaaattcc tatgggagtg ggccctcagtc 660
cgtttctcct ggctcagttt actagtgcca tttgttcagt ggttcgtagg gctttccccc 720
actgtctggc tttcagttat atggatgatt tggttttggg ggccaagtct gtacaacatc 780
ttgagtccct ttatgccgct gttaccaatt ttcttttgtc ttgggtata catttaaacc 840
ctcaaaaaac aaaaagatgg ggatattccc ttaactttat gggatatgta attgggagtt 900
ggggcacatt gccacaggaa catattgtac aaaaaatcaa aatatgtttt aggaaacttc 960
ctgtaaacag gcctattgat tggaaagtct gtcaacgaat tgtgggtctt ttggggtttg 1020
ccgccccttt cacgcaatgt ggatattcctg ctttaatgcc tttatatgca tgtatacaag 1080
caaaacaggc ttttattttc tcgccaactt acaaggcctt tctgagtaaa cagtatttga 1140
acctttacc cgttgctcgg caacggcctg gtctgtgcca agtgtttgct gacgcaaccc 1200
ccactggttg gggcttgccc ataggccatc agcgcacgct tggcaccttt gtgtctcctc 1260
tgccgatcca tactcgggaa ctccatagcc cttgttttgc tcgcagcagg tctggggcaa 1320
aaactcatcg gactgacaat tctgtcgtgc tctcccgaat gtatacatca ttccatggc 1380
tgctaggctg tgctgccaac tggatcctgc gcgggacgtc ctttgtttac gtcccgtcgg 1440
cgtgaaatcc cgcggacgac ccctcccggg gccgcttggg gctctaccgc cgccttctcc 1500
gcctgttgta ccgaccgacc acggggcgca cctctcttta cgcggactcc cgtctgtgct 1560
cttctcatct gccggaccgt gtgcacttcc cttcacctct gcacgtcgca tggaaaccac 1620
cgtgaacgcc cacaggaacc tgccaaggt cttgcataag aggactcttg gactttcagc 1680
aatgtcaacg accgacctg aggcatactt caaagactgt gtgtttactg agtgggagga 1740

```

gttgggggag gaggttaggt taatgatcct tgtactagga ggctgtaggc ataaattggt 1800
gtgttcacca gcaccatgca actttttcac ctctgcctaa tcatctcatg ttcattgtcct 1860
actgttcaag cctccaagct gtgccttggg tggccttggg gcatggacat tgaccogtat 1920
aaagaatttg gagcttctgt ggagttactc tcttttttgc cttctgactt ctttccttct 1980
attcgagatc tctctgacac cgectctgct ctgtatcggg aggccttaga gtctccggaa 2040
cattgttcac ctccaccatac ggcactcagg caagctattc tgtgttgggg tgagttaatg 2100
aatctagcca cctgggtggg aagtaatttg gaagatccag catccaggga attagtagtc 2160
agctatgtca acgttaatat gggcctaaaa atcagacaac tattgtggtt tcacatttcc 2220
tgtcttactt ttgggagaga aactgttctt gaatatttgg tgtcttttgg agtgtggatt 2280
cgcactctc cgcgatatag accgcctaat gccctatct tatcaacct tccggaaact 2340
actgttgta gacgaagagg caggtcccct agaagaagaa ctccctcgcc tcgcagacga 2400
aggctcaat cgccgctgc cagaagatct caatctcggg aatctcaatg ttagtattcc 2460
ttggacacac aaggtgggaa actttacggg gctttattct tctacggtac cttgctttaa 2520
tcctaaatgg caaactcctt ctttctctga cattcatttg caggaggaca ttgttgatag 2580
atgtaagcaa tttgtggggc cccttacagt aatgaaaac agggactta aattaattat 2640
gcctgctagg ttttatccca atgttactaa atatttgccc ttagataaag ggatcaaacc 2700
gtattatcca gagtatgtag ttaatcatta ctccagacg cgacattatt tacacactct 2760
ttggaaggcg gggatcttat ataaaagaga gtccacacgt agcgcctcat tttgcgggtc 2820
accatattct tgggaacaag atctacagca tgggaggttg gtcttccaaa cctcgaagg 2880
gcatggggac aaatctttct gtcccacac cctgggatt cttcccgat catcagttgg 2940
accctgcatt caaagccaac tcagaaaatc cagattggga cctcaacccg cacaaggaca 3000
actggccgga cgccaacaag gtgggagtg gacattcgg gccagggttc acccctcccc 3060
atgggggact gttgggttg agccctcagg ctcagggcct actcacaact gtgccagcag 3120
ctctctctc tgcctccacc aatcggcagt taggaaggca gcctactccc ttatctccac 3180
ctetaagga cactcatct caggccatgc agtgg 3215

```

SEQ ID NO: 2

```

aactccacca cttccacca aactctcaa gatcccagag tcagggccct gtactttcct 60
gctggtggtc ccagttcagg aacagtgagc cctgctcaga atactgtctc tgccatatcg 120
tcaatcttat cgaagactgg ggaccctgta ccgaacatgg agaacatgc atcaggactc 180
ctaggacccc tgctcgtgtt accggcgggg ttttcttgt tgacaaaaat cctcacaata 240
ccacagagtc tagactcgtg gtggacttct ctcaagtttc tagggggaac acccgtgtgt 300
cgtggccaaa attcgcagtc ccaaatctcc agtcaactac caacctgttg tctccaatt 360
tgtcctggtt atcgtggat gtgtctcgg cgttttatca tttcctctg catcctgctg 420
ctatgcctca tcttcttgtt gttcttctg gactatcaag gtatggtgcc cgtttgtcct 480
ctaattccag gatcatcaac aaccagcacc ggaccatgca aaacctgcac gactcctgct 540
caaggaacct ctatgtttcc ctcatgttg tgtacaaaac ctacggacgg aaactgcacc 600
tgtattccca tcccatcacc ttgggcttc gcaaaattcc tatgggagtg ggccctcagtc 660
cgtttctcat ggctcagttt actagtcca tttgttcagt ggttcgtagg gctttcccc 720
actgtctggc tttcagttat gtggatgatt tggttttgg ggccaagtct gtacaacatc 780
ttgagtcct ttatgccgt gttaccaatt ttcttttgc tttgggtata catttaaacc 840
ctcacaacac aaaaagatgg ggatattccc ttaacttcat gggatagta attgggagtt 900
ggggcacatt gccacaggaa catattgtac aaaaaatcaa aatgtgtttt aggaaacttc 960

```

ctgtaaacag gcctattgat tggaaagtct gtcaacgaat tgtgggtctt ttggggtttg 1020
ccgcccttt cagcaatgt ggatccctg ctttaatgcc tttatatgca tgtatacaag 1080
caaaacaggc ttttattttc tcgccaactt acaaggcctt tctgagtaaa cagtatctga 1140
acctttaccc cggttctcgg caacggcctg gtctgtgcca agtgtttgct gacgcaaccc 1200
ccactggttg gggcttgccc ataggccatc agcgcacgag tggaaacctt gtgtctctcc 1260
tgccgatcca tactgcgaa ctctagccg cttgttttgc tcgcagcagg tctggggcaa 1320
aactcatcgg gactgacaat tctgtcgtgc tctcccgcaa gtatacatca tttccatggc 1380
tgctaggctg tgctgccaac tggatcctgc gcgggacgct ctttgtttac gtcccgtcgg 1440
cgctgaatcc cgcggacgac ccctcccggg gccgcttggg gctctaccgc ccgcttctcc 1500
gcctgttgta ccgaccgacc acggggcgca cctctcttta cgggactcc ccgtctgtgc 1560
cttctcatct gccggaccgt gtgcacttgc cttcacctct gcaactcgca tggaaaccac 1620
cgtgaacgcc cactggaacc tgcccaaggt cttgcataag aggactcttg gactttcagc 1680
aatgtcaacg accgacctg aggcatactt caaagactgt gtgttcaatg agtggggagga 1740
gttgggggag gaggtttaagt taatgatctt tgtactagga ggctgtaggc ataaattggt 1800
gtgttcacca gcaccatgca actttttcac ctctgcctaa tcatctcttg ttcattgctc 1860
actgttcaag cctccaagct gtgccttggg tggctttagg gcatggacat tgacacgtat 1920
aaagaatttg gagcttctgt ggaattactc tcttttttgc cttctgactt ctttccctct 1980
attegagatc tctcagacac cgcactgct ctgtatcggg aggccttaga gtctccgaa 2040
cattgttcac ctcaccatac gccactcagg caagctattc tgtgttgggg tgagttaatg 2100
aatctagcca cctgggtggg aagtaatttg gaagatcaag catccaggga tttagtagtc 2160
ggctatgtca acgtaatat gggcctaaaa ctcagacaac tattgtgggt tcacatttcc 2220
tgtcttactt ttggaagaga aactgttctt gaatatttgg tgtcttttgg agtgtggatt 2280
cgcactctc ccgcataatg accgcaaat gccctatct tatcaacact tcggaaact 2340
actgttgta gacgaagagg caggctcccct agaagaagaa ctccctcgc tcgcagacga 2400
aggctcaat ccgcgcgtcg cagaagatct aaatctcggg aatctcaatg ttagtattcc 2460
ttggacacac aaggtggaa actttacggg gctttattct tctacggtac cttgctttaa 2520
tcctaaatgg caaactcctt cttttcctga cattcatttg caggaggaca ttgttgatag 2580
atgtaagcaa ttgtgtgggc cccttacagt aaatgaaaat aggagactta aattaattat 2640
gcctgctagg ttttatccca atgttactaa atatttgcct ttagataaag ggatcaaacc 2700
gtattatoca gagtatgtag ttgatcatta cttccagacg cgcattatt tacacactct 2760
ttggaaggcg gggatcttat ataaaagaga gtccacacgt agccctcat tttgcggtc 2820
accatattct tgggaacaag atctacagca tgggaggttg gtcttccaaa cctcgaagaa 2880
gcactgggac aaactttct gtcccacatc ccctgggatt cttcccgat catcagttgg 2940
accctgcatt caaagccaac tcagaaaatc cagattggga cctcaacccg tacaaggaca 3000
actggcggga ccgcaacaag gtgggagtgg gagcattcgg gccagggttc accctcccc 3060
atgggggact gttgggttgg agccctcagg ctccaggctc actcacaact gtgcccagcag 3120
ctcctcctcc tgccctccacc aatcggcagt taggaaggca gcctactccc ttatctccac 3180
ctctaaggga cactcatct caggccatac agtgg 3215

SEQ ID NO: 5

aactccacca ctttccacca aactcttcaa gatccagag tcaggccctt gtactttcct 60
gctggtgct ccagttcagg aacagtgagc cctgctcaga atactgtctc tgccatatcg 120
tcaatcttat cgaagactgg ggaccctgta ccgaacatgg agaacatcgc atcaggactc 180

ctaggacccc	tgctcgtggt	accggcgggg	ttttccttgt	tgacaaaaat	cctcacaata	240
ccacagagtc	tagactcgtg	gtggacttct	ctcagtttct	tagggggaac	acccgtgtgt	300
cgtggccaaa	attcgcagtc	ccaaatctcc	agtcactcac	caacctgttg	tcctccaatt	360
tgtcctgggt	atcgctggat	gtgtctgcgg	cgttttatca	tattcctctg	catcctgctg	420
ctatgcctca	tottcttgtt	ggttcttctg	gactatcaag	gtatgttgcc	cgtttgcct	480
ctaattccag	gatcatcaac	aaccagcacc	ggaccatgca	aaacctgcac	gactcctgct	540
caaggaacct	ctatgtttcc	ctcatgttgc	tgtacaaaa	ctacggacgg	aaactgcacc	600
tgtattccca	tcccatcacc	ttgggcttcc	gcaaaattcc	tatgggagtg	ggcctcagtc	660
cgttttctcat	ggctcagttt	actagtgcga	tttgttcagt	ggttcgtagg	gctttccccc	720
actgtctggc	tttcagttat	gtggatgatt	tggttttggg	ggccaagtct	gtacaacatc	780
ttgagtccct	ttatgccgct	gttaccaatt	ttcttttctc	tttgggtata	catttaaacc	840
ctcacaaaa	aaaaagatgg	ggatattccc	ttaacttcat	gggatatgta	attgggagtt	900
ggggcacatt	gccacaggaa	catattgtac	aaaaaatcaa	aatgtgtttt	aggaaacttc	960
ctgtaaacag	gctattgat	tggaaagtct	gtcaacgaat	tgtgggtctt	ttggggtttg	1020
ccgccccttt	cacgcaatgt	ggatattcctg	ctttaatgcc	tttatatgca	tgtatacaag	1080
caaaacaggc	ttttattttc	tcgccaaactt	acaaggcctt	tctgagtaaa	cagtatctga	1140
acctttaccc	cgttgctcgg	caacggcctg	gtctgtgcc	agtgtttct	gacgcaaccc	1200
ccactgggtg	gggcttgccc	ataggccatc	agcgcagtcg	tggaaacctt	gtgtctcctc	1260
tgccgatcca	tactgcggaa	ctcctagccg	cttgttttgc	tcgcagcagg	tctggggcaa	1320
aactcatcgg	gactgacaat	tctgtcgtgc	tctcccga	gtatacatca	tttccatggc	1380
tgctaggctg	tgctgccaac	tggatcctgc	gccggacgtc	ctttgtttac	gtcccgtcgg	1440
cgctgaatcc	cgcggacgac	ccctcccggg	gcccgttggg	gctctaccgc	ccgcttctcc	1500
gcctgttgta	ccgaccgacc	acggggcgca	cctctcttta	cgcggaactc	ccgtctgtgc	1560
cttctcatct	gcccgaacct	gtgcaacttc	cttcaacctc	gcaactgcga	tggaaaccac	1620
cgtgaacgcc	cactggaacc	tgcccaaggt	cttgcataag	aggactcttg	gactttcagc	1680
aatgtcaacg	accgaccttg	aggcatactt	caaagactgt	gtgttcaatg	agtgaggagga	1740
gttgggggag	gagtttaagt	taatgatctt	tgtactagga	ggctgtaggc	ataaattggt	1800
gtgttcacca	gcaccatgca	actttttcac	ctctgcctaa	tcactctctg	ttcatgtcct	1860
actgttcaag	cctccaagct	gtgccttggg	tggctttagg	gcatggacat	tgacacgtat	1920
aaagaatttg	gagcttctgt	ggaattactc	tcttttttgc	cttctgactt	ctttccctct	1980
attcgagatc	tctcagacac	cgccactgct	ctgtatcggg	aggccttaga	gtctccggaa	2040
cattgttcac	ctcaccatac	ggcactcagg	caagctattc	tgtgttgggg	tgagttaatg	2100
aatctagcca	cctgggtggg	aagtaatttg	gaagatcaag	catccaggga	tttagtagtc	2160
ggctatgtca	acgttaatat	gggcctaaaa	ctcagacaa	tattgtgggt	tcacatttcc	2220
tgtcttactt	ttggaagaga	aactgttctt	gaatatttgg	tgtcttttgg	agtggtgatt	2280
cgcactctct	ccgcatatag	accgccaat	gcccctatct	tatcaacact	tcgggaaact	2340
actgttgta	gacgaagagg	caggctcccct	agaagaagaa	ctccctcgcc	tcgcagacga	2400
aggctcaat	cgcgcgctcg	cagaagatct	aaatctcggg	aatctcaatg	ttagtattcc	2460
ttggacacac	aaggtgggaa	actttacggg	gctttattct	tctacggtac	cttgctttaa	2520
tcctaaatgg	caaactcctt	cttttcctga	cattcatttg	caggaggaca	ttgttgatag	2580
atgtaagcaa	ttgtgtgggc	cccttacagt	aaatgaaaat	aggagactta	aattaattat	2640
gcctgctagg	ttttatccca	atgttactaa	atatttgccc	ttagataaag	ggatcaaacc	2700
gtattatcca	gagtatgtag	ttgatcatta	cttcagacg	cgacattatt	tacacactct	2760
ttggaaggcg	gggatcttat	ataaaagaga	gtccacacgt	agcgcctcat	tttgcgggtc	2820
accatattct	tgggaacaag	atctacagca	tgggaggttg	gtcttccaaa	cctcgaaaag	2880
gcatggggac	aaatctttct	gtcccacatc	ccctgggatt	cttcccgat	catcagttgg	2940
accctgcatt	caaaaccaac	tcagaaaatc	cagattggga	cctcaacccg	tacaaggaca	3000
actggccgga	cgccaacaag	gtgggagtg	gagcattcgg	gccagggttc	acccctcccc	3060
atgggggact	gttgggttgg	agccctcagg	ctcagggtct	actcacaact	gtgccagcag	3120
ctcctctccc	tgctccacc	aatcggcag	taggaaggca	gcctactccc	ttatctccac	3180
ctctaaggga	cactcatcct	caggccatac	agtg			3215

Клеточная культура.

Клетки HepG2 получили от Американской коллекции типовых структур (г. Манассас, штат Вирджиния, США; ATCC, № кат. HB-8065) и хранили в увлажненных инкубаторах при 37°C и 5% CO₂ в полной среде, содержащей модифицированную по способу Дульбекко среду Игла (DMEM) (Fisher Scientific (Life Technologies); г. Уолтэм, штат Массачусетс, США; № кат. 11995-065), 10% эмбриональной бычьей сыворотки (FBS) (Life Technologies, № кат. 10082-147), 100 ед/мл пенициллина, 10 мкг/мл стрептомицина и 0,25 мкг/мл фунгизона (Life Technologies, № кат. 15240-062).

Транзиторная трансфекция.

Клетки HepG2 высевали в покрытые коллагеном 96-луночные планшеты (BIOCOAT™; Fisher Scientific, № кат. 354407) с плотностью 20000 клеток/луночка и проводили их закрепление в течение ночи при 37°C и 5% CO₂. Клетки были совместно подвергнуты трансфекции плазидами HBV (100 нг/луночка)

и плазмидной экспрессии *Gaussia* (10 нг/лунка) (THERMO SCIENTIFIC™, Fisher Scientific, № кат. 16148) с использованием реагента трансфекции Lipofectamine LTX Plus в соответствии с рекомендациями изготовителя (Life Technologies, № кат. 15338-100). Подвергнутые трансфекции смеси отделяли на следующий день, клетки дважды промывали полной средой и обрабатывали последовательно разбавленными соединениями при конечной концентрации диметилсульфоксида (ДМСО) 0,5%. Клетки инкубировали с соединениями в течение трех дней, после чего внутриклеточную ДНК HBV экстрагировали из клеток и определяли уровни секретируемой люциферазы *Gaussian* из среды с использованием аналитического набора *Gaussia Flash Luciferase* (THERMO SCIENTIFIC™, Fisher Scientific, № кат. 16158). Для экстракции внутриклеточной ДНК HBV клетки однократно промывали 100 мкл фосфатно-солевым буферным раствором Дульбекко (Life Technologies, № кат. 14190-144) и лизировали 0,33% NP-40 (THERMO SCIENTIFIC™, Fisher Scientific, № кат. 85124) посредством инкубирования в течение 30 мин при комнатной температуре (110 мкл/лунка). Turbo DNase готовили 5-кратным разбавлением в буферном растворе Turbo DNase (Life Technologies, № кат. AM2238), и нуклеазу S7 (Roche № кат. 10-107-921-001, поставляемую Sigma-Aldrich; г. Сент-Луис, штат Миссури, США) готовили 50-кратным разбавлением в буферном растворе CUTSMART® (New England Biolabs; г. Ипсуич, штат Массачусетс, США; № кат. B7204S), содержащем 25 мкМ CaCl₂ (GBiosciences; г. Сент-Луис, штат Миссури, США; № кат. R033). Ядра гранулировали посредством центрифугирования и супернатант (35 мкл) переносили в свежий 96-луночный планшет и обрабатывали 2 единицами Turbo DNase и 10 единицами нуклеазы S7 при 37°C в течение 60 мин, после чего фермент инактивировали при 75°C в течение 15 минут. Инкапсидированную ДНК HBV разбавляли 60 мкл воды, соответствующей требованиям молекулярной биологии (GBiosciences № кат. 786-293) и экстрагировали посредством инкубирования в 50 мкл буферного раствора для лизиса (Affymetrix, № кат. QS0010), содержащего 2,5 мкг протеазы K (Affymetrix; г. Санта-Клара, штат Калифорния, США; № кат. 14600) при 50°C в течение 40 мин. ДНК HBV денатурировали в течение 30 мин при 25°C с добавлением 2,5 М NaOH (Sigma, № кат. S5881) до образования конечной концентрации 0,2 М в присутствии 1 мкл зондов ДНК HBV (Affymetrix, № кат. SF-10326). Денатурированную ДНК нейтрализовали добавлением 2 М HEPES (Sigma, № кат. H3375) до образования конечной концентрации 0,3 М и регистрировали с использованием аналитического набора QuantiGene (Affymetrix, № кат. QS0010). Средний фоновый сигнал от лунок, содержащих только питательную среду, вычитали из всех других проб и рассчитывали процент ингибирования в каждой концентрации соединения посредством нормализации по сигналам от клеток, обработанных ДМСО 0,5%, с использованием уравнения E1:

$$(E1): \% \text{ ингибирования} = (\text{ДМСО}_{\text{cp}} - X_i) / \text{ДМСО}_{\text{cp}} \times 100\%,$$

где ДМСО_{cp} представляет собой средний сигнал, рассчитанный в лунках, которые обрабатывали ДМСО в качестве контроля (контроль с ингибированием 0%);

X_i представляет собой сигнал, измеренный в отдельных лунках.

Значения EC₅₀, т.е. эффективные концентрации, которые обеспечивали ингибирующий эффект в 50% случаев, определяли с помощью нелинейного подбора, используя программу Graphpad Prism (г. Сан-Диего, штат Калифорния, США) и уравнение E2:

$$(E2): Y = Y_{\min} + (Y_{\max} - Y_{\min}) / (1 + 10^{(\text{LogEC}_{50} - X) \times \text{наклон}}),$$

где Y представляет собой значения процента ингибирования;

X представляет собой логарифм концентраций соединения.

Для определения репликационно-компетентных вариантов HBV скорректированные с учетом фона значения для ДНК HBV по результатам анализа QuantiGene нормализовали с использованием величин активности люциферазы *Gaussian*, чтобы учесть любые различия в эффективности трансфекции. Нормализованные значения для ДНК HBV, полученные при анализе клеток, подвергнутых трансфекции вариантами HBV, затем сопоставляли с величинами, полученными при трансфекции диким типом HBV, причем репликационная компетентность дикого типа HBV принимали равной 100%.

Пример 1.2. Относительная репликационная компетентность вариантов HBV, устойчивых к нуклеозидам.

Были сконструированы пять плазмид экспрессии HBV, представляющих панель вариантов HBV, устойчивых к нуклеозидам, которые наиболее часто наблюдали у инфицированных HBV пациентов, получавших нуклеозидные лекарственные средства. Панель устойчивых к нуклеозидам HBV включает в себя пять вариантов HBV со следующими одиночными, двойными или тройными мутациями в белке полимеразы HBV: (1) L180M/M204V, (2) N236T, (3) A181V, (4) A181V/N236T и (5) L180M/M204V/N236T. A181V, N236T и A181V/N236T вводили в основную цепь ДНК HBV, полученную из клинического изолята генотипа В (Genbank AY220698). Секвенирование вариантов A181V, N236T и A181V/N236T подтвердило предполагаемые изменения аминокислот в конструкторе дикого типа генома В HBV. Для введения тройной мутации N236T вводили в основную цепь ДНК HBV, полученную из устойчивого к LMV клинического изолята (Genbank AY220697; SEQ ID NO: 5 (см. табл. 3)). Ранее сообщалось, что устойчивый к LMV клинический изолят содержал ряд дополнительных аминокислотных изменений в пределах генома HBV по сравнению с изолятом, полученным до лечения LMV (Zhang J.M. et al. 2005. J. Med. Virol 77:203-208). Секвенирование вариантов L180M/M204V и

L180M/M204V/N236T подтвердило дополнительное изменение аминокислот в положении 271 в пределах домена обратной транскриптазы, что соответствовало ранее опубликованной последовательности из устойчивого к LMV клинического изолята (Genbank AY220697; SEQ ID NO: 5).

Перечисленные плазмиды были использованы для трансфекции клеток HepG2, и количество внутриклеточной инкапсидированной ДНК HBV, которая была образована в результате репликации HBV, определяли на 3 день после трансфекции. Плазмиду экспрессии люциферазы *Gaussia* совместно трансфицировали с HBV (*Gaussia-Luc*: HBV в соотношении 1:10), чтобы обеспечить возможность нормализации любых различий в эффективности трансфекции. Нормализованный сигнал ДНК HBV, полученный в клетках, подвергнутых трансфекции HBV дикого типа, соответствовал 100% относительной репликационной компетентности. Вариант N236T демонстрировал близкую репликационную компетентность к HBV дикого типа, тогда как репликационная компетентность других четырех вариантов показала изменения от близкого до двукратно превышающего уровня по сравнению с диким типом. Репликационная компетентность всех вариантов HBV была приемлемой для проведения исследования противовирусной активности с использованием нуклеозидных аналогов и соединения 1.

Пример 1.3. Варианты HBV были устойчивы по отношению к нуклеозидным аналогам, но оставались чувствительными к соединению 1.

Варианты HBV с мутациями нуклеозидной устойчивости вначале оценивали с точки зрения их чувствительности к ингибирующему эффекту нуклеозидных аналогов. Как и ожидалось на основании опубликованных данных (Yang et al. 2005. *Antivir Ther* 10:625-633; Brunelle et al. 2005. *Hep* 41:1391-1398), оба варианта HBV rtL180M/M204V и rtL180M/M204V/N236T были устойчивы по отношению к ингибированию ламивудином (LMV) и энтекавиром (ETV): LMV ингибировал HBV дикого типа со средним значением EC₅₀ 0,53 мкМ, но не ингибировал репликацию любого из двух вариантов вплоть до самых высоких тестируемых концентраций LMV (100 мкМ), тогда как противовирусная активность ETV была снижена в 31 и 14 раз по отношению к вариантам rtL180M/M204V и rtL180M/M204V/N236T соответственно (фиг. 1 и табл. 4).

Таблица 4
Противовирусная активность соединения 1, LMV, ETV и TDF
в клетках HepG2, подвергнутых транзientной трансфекции
устойчивыми к нуклеозидам вариантами

Соединение	WT EC ₅₀ [мкМ]	Кратность изменения				
		rtL 180M/M204V	rtL 180M/M204V/ N236T	rtA181V	rtN236T	rtA181V/ N236T
LMV	0,53 ± 0,12	> 190	> 190	1,7 ± 0,9 ^{ns}	1,0 ± 0,5 ^{ns}	4,8 ± 2,3 ^a
ETV	0,0014 ± 0,0004	31 ± 16 ^a	14 ± 4 ^a	2,2 ± 0,5 ^a	0,67 ± 0,22 ^{ns}	1,8 ± 0,6 ^{ns}
TDF	0,032 ± 0,015	1,1 ± 0,3 ^{ns}	2,9 ± 1,5 ^b	1,4 ± 0,05 ^{ns}	2,2 ± 1,0 ^b	2,8 ± 1,4 ^b
Соед. 1	0,31 ± 0,10	1,3 ± 0,6 ^{ns}	1,4 ± 0,5 ^{ns}	0,82 ± 0,19 ^{ns}	0,85 ± 0,40 ^{ns}	0,85 ± 0,26 ^{ns}

EC₅₀ и кратность изменения приведены в форме среднее значение ± стандартное отклонение (CO) по результатам по меньшей мере трех независимых исследований.

* Среднее кратные изменения и CO кратного изменения рассчитывали по отдельным значениям кратных изменений мутантных вариантов по сравнению со средним значением EC₅₀ для варианта дикого типа.

^a По сравнению с диким типом, значение p в t-критерии <0,01.

^b Значение p в t-критерии <0,05.

^{ns} Значение p в t-критерии >0,05.

Дизопроксилфумарат тенофовира (TDF) проявлял аналогичную противовирусную активность по отношению к HBV дикого типа и вариантам rtL180M/M204V и rtA181V (средние значения EC₅₀, равные 0,032, 0,034 и 0,043 мкМ соответственно), но демонстрировал среднее снижение противовирусной активности в диапазоне от 2,2 до 2,9 раз по отношению к вариантам HBV, содержащим мутацию rtN236T как в единичной форме, так и в комбинации с rtL180M/M204V или rtA181V (фиг. 1; табл. 4). Такие относительные кратные изменения, связанные с мутацией N236T, были аналогичны ранее опубликованным значениям кратных изменений (Delaney et al. 2006. *Antimicrob Agents Chemother* 50: 2471-2477).

HBV, содержащий мутацию rtN236T, сохранял чувствительность к ингибированию LMV и ETV, аналогичную HBV дикого типа (табл. 4). Незначительное увеличение средних значений EC₅₀ (около в 2 раза) наблюдали для LMV и ETV при тестировании по отношению к варианту rtA181V (табл. 4). Комбинация мутаций от rtN236T до rtA181V в вариант двойного мутанта приводила в среднем к увеличениям в

4,8 и 1,8 раза значений EC_{50} для LMV и ETV соответственно (табл. 4).

Все пять устойчивых к нуклеозидам вариантов HBV были чувствительны к ингибированию соединением 1 с противовирусными значениями EC_{50} , близкими к HBV дикого типа. Средние кратные изменения EC_{50} варьировались в диапазоне от 0,82 до 1,4 раз, что указывает на отсутствие возникновения перекрестной устойчивости к ингибитору капсиды HBV соединения 1 у протестированных в настоящем документе мутаций, придающих устойчивость к нуклеозидам (табл. 4).

Как показано в данном примере, анализ фенотипирования с использованием клеток HepG2, подвергнутых транзientной трансфекции нуклеозидными аналогами, продемонстрировал возможность существования перекрестной устойчивости между различными классами нуклеозидных аналогов, в том числе LMV, ETV и TDF. Напротив, соединение 1 сохраняло активность по отношению к устойчивым к нуклеозидам вариантам, а потому не проявляло перекрестной устойчивости с другими нуклеозидными аналогами.

Пример 2. Жизнеспособность первичных гепатоцитов человека при наличии соединения 1 и отдельных нуклеозидных аналогов или их комбинации.

В этом примере жизнеспособность первичных гепатоцитов человека (PHH) определяли при наличии соединения 1 и отдельных нуклеозидных аналогов или их комбинации. Жизнеспособность клеток определяли по относительной концентрации внутриклеточного аденозинтрифосфата (АТФ) в обработанных тем или иным соединением клетках по сравнению с необработанными клетками.

Жизнеспособность PHH была аналогичной в необработанных клетках и клетках, обработанных либо 300 мкМ ламивудина (LMV), 30 мкМ тенофовира (TFV) или 30 мкМ энтекавира (ETV). В клетках, обработанных соединением 1, отмечали зависимое от дозы снижение жизнеспособности клеток; средние значения $meanCC_{50}$ варьировались от 16 до 82 мкМ. Значения CC_{50} , полученные для соединения 1 в присутствии 300 мкМ ламивудина (LMV), 30 мкМ тенофовира (TFV) или 30 мкМ энтекавира (ETV), были аналогичны полученным для клеток, обработанных только соединением 1.

Пример 2.1. Материалы и методы.

Соединения.

Соединение 1 получали посредством синтеза. Ламивудин, тенофовир и энтекавир были приобретены у Toronto Research Chemicals (г. Торонто, Канада).

Клеточная культура.

Криоконсервированные первичные гепатоциты человека от отдельных доноров (идентификаторы первичных гепатоцитов: NuM4038, NuM4055A и NuM4059) были приобретены у Triangle Research Labs (TRL; Research Triangle Park, штат Сев. Каролина, США). Клетки размораживали с использованием среды размораживания гепатоцитов (TRL, № кат. MCHT50) в соответствии с рекомендациями производителя. После центрифугирования клетки ресуспендировали в обогащенной среде высевания гепатоцитов (TRL, № кат. MP250). Клетки наносили на 96-луночные планшеты с покрытием коллагеном типа I (Corning; г. Корнинг, штат Нью-Йорк, США; № кат. 356407) с плотностью 40000 клеток на лунку и выдерживали в увлажняемых инкубаторах при 37°C и 5% CO_2 в течение ночи перед добавлением тестируемых соединений.

Анализы жизнеспособности клеток.

Для каждого донора готовили три 96-луночных планшета, чтобы оценить эффект воздействия увеличения концентрации соединения 1 на жизнеспособность гепатоцитов либо при индивидуальной обработке, либо в комбинации с нуклеозидными аналогами. В каждом планшете клетки инкубировали с соединением 1 отдельно с двойным воспроизведением или с соединением 1 в присутствии LMV, TFV или ETV с тройным воспроизведением. Индивидуальное воздействие нуклеозидных аналогов на жизнеспособность гепатоцитов также определяли с тройным воспроизведением для каждого донора. Проводили полулогарифмическое разбавление соединения 1 в ДМСО (Sigma, № кат. D2650) и добавляли его к первичным гепатоцитам человека индивидуально или в комбинации с LMV (30 и 300 мкМ), TFV (30 мкМ) или ETV (30 мкМ). Индивидуальные препараты или их комбинации добавляли к первичным гепатоцитам человека при конечной концентрации ДМСО (Sigma D2650) 0,5% для всего диапазона концентраций. Клетки инкубировали с соединениями в течение трех суток, после чего среду удаляли и добавляли свежую среду, содержащую соединения, и инкубировали в течение еще трех суток. В качестве контроля без добавления соединений использовали первичные гепатоциты человека, обработанные 0,5% ДМСО, и полученные значения затем применяли для определения уровня ингибирования 0%. Фоновый сигнал определяли как среднее значение для лунок, содержащих только культуральную среду. Жизнеспособность клеток отслеживали с использованием реагента для определения жизнеспособности клеток CellTiter-Glo в соответствии с протоколом изготовителя (Promega; г. Мэдисон, штат Висконсин, США; G7573). Сигнал хемилюминесценции, пропорциональный количеству клеточного АТФ, измеряли с помощью планшетного считывателя Victor X4 (Perkin Elmer; г. Уолтэм, штат Массачусетс, США). Средний фоновый сигнал от лунок, содержащих только среду, вычитали из всех остальных образцов и рассчитывали процент ингибирования по уравнению E1 (как в примере 1):

$$(E1): \% \text{ ингибирования} = (DMCO_{cp} - X_i) / DMCO_{cp} \times 100\%,$$

где $DMCO_{cp}$ представляет собой средний сигнал, рассчитанный в лунках, которые обрабатывали

0,5% ДМСО в качестве контроля (контроль с ингибированием 0%);

X_i представляет собой сигнал, измеренный в отдельных лунках.

Значения CC_{50} определяли по данным % ингибирования, полученным при различных концентрациях соединений, при нелинейной обработке с помощью программного обеспечения Graphpad Prism и уравнения ЕЗ в случаях, где значения % ингибирования превышали 50% при наибольшей протестированной концентрации:

$$(ЕЗ): Y = Y_{\min} + (Y_{\max} - Y_{\min}) / (1 + 10^{(\text{Log}CC_{50} - X) \times \text{наклон}}),$$

где Y представляет собой значения процента ингибирования;

X представляет собой логарифм концентраций соединения.

Пример 2.2. Эффект воздействия соединения 1 или нуклеозидных аналогов на жизнеспособность клеток с использованием первичных гепатоцитов человека.

Первичные гепатоциты человека от трех различных доноров (TRL HuM4038, HuM4055A и HuM4059) инкубировали с возрастающими концентрациями соединения 1. Клетки от тех же трех доноров также инкубировали с LMV (30 и 300 мкМ), TFV (30 мкМ) или ETV (30 мкМ). Анализ жизнеспособности клеток был основан на уровнях внутриклеточного АТФ через 6 дней после обработки лекарственным средством. Наблюдали зависимость от концентрации снижения жизнеспособности клеток при инкубировании гепатоцитов с соединением 1: значения CC_{50} для соединения 1 в диапазоне от 16 до 82 мкМ (табл. 3). Ранее отмеченные значения CC_{50} для соединения 1 с использованием свежих (BioreclamationIVT) и криоконсервированных первичных гепатоцитов (доноры TRL HuM4038 и Invitrogen Hu1457) находились в диапазоне от 14 до 27 мкМ. Не было замечено снижения жизнеспособности клеток при обработке гепатоцитов 30 или 300 мкМ LMV, 30 мкМ TFV или 30 мкМ ETV (табл. 5).

Таблица 5

Эффект воздействия соединения 1, LMV, TFV или ETV на жизнеспособность клеток для первичных гепатоцитов человека

Соединение	HuM4038	HuM4038	HuM4055A	HuM4059
	CC_{50} [мкМ]	CC_{50} [мкМ]	CC_{50} [мкМ]	CC_{50} [мкМ]
Соед. 1	16	26	19	82
LMV	> 30	> 300	> 300	> 300
TFV	> 30	> 30	> 30	> 30
ETV	> 30	> 30	> 30	> 30

Пример 2.3. Комбинированный эффект воздействия соединения 1 с нуклеозидными аналогами на жизнеспособность клеток с использованием первичных гепатоцитов человека.

Чтобы определить эффект комбинирования соединения 1 и нуклеозидных аналогов на жизнеспособность клеток, первичные гепатоциты человека обрабатывали возрастающими концентрациями соединения 1 в комбинации с фиксированными концентрациями LMV (300 мкМ), TFV (30 мкМ) или ETV (30 мкМ). Как показано на фиг. 2-4, наличие LMV, TFV или ETV не влияло на профили отклика на дозу для соединения 1 при тестировании для трех различных доноров. Соответствующие значения CC_{50} для соединения 1 были аналогичными как в присутствии, так и в отсутствие нуклеозидных аналогов (табл. 6-8).

Таблица 6

Эффект воздействия соединения 1 при индивидуальном использовании и в комбинации с 300 мкМ LMV на жизнеспособность первичных гепатоцитов человека

Идентификатор донора	Соед. (I)	Соед. (I)+LMV	Кратность изменения CC_{50} моно/комбинация
	CC_{50} [мкМ]	CC_{50} [мкМ]	
HuM4038	26	22	1,2
HuM4055A	19	19	1,0
HuM4059	83	83	1,0

Таблица 7

Эффект воздействия соединения 1 при индивидуальном использовании и в комбинации с 30 мкМ TFV на жизнеспособность первичных гепатоцитов человека

Идентификатор донора	Соед. (I) [мкМ]	Соед. (I)+TFV CC50 [мкМ]	Кратность
			изменения CC50 моно/комбинация
HuM4038	16	23	0,7
HuM4055A	19	19	1,0
HuM4059	83	80	1,0

Таблица 8

Эффект воздействия соединения 1 при индивидуальном использовании и в комбинации с 30 мкМ ETV на жизнеспособность первичных гепатоцитов человека

Идентификатор донора	Соед. (I) [мкМ]	Соед. (I)+ETV CC50 [мкМ]	Кратность
			изменения CC50 моно/комбинация
HuM4038	16	14	1,1
HuM4055A	19	21	0,9
HuM4059	83	81	1,0

В этом примере жизнеспособность первичных гепатоцитов человека (PHH) определяли при наличии соединения 1 и отдельных нуклеозидных аналогов или их комбинации. Жизнеспособность клеток определяли по относительной концентрации внутриклеточного АТФ в обработанных тем или иным соединением клетках по сравнению с необработанными клетками. Жизнеспособность PHH была аналогичной в необработанных клетках и клетках, обработанных либо 300 мкМ ламивудина (LMV), 30 мкМ тенофовира (TFV) или 30 мкМ энтекавира (ETV). В клетках, обработанных соединением 1, отмечали зависимость от дозы снижение жизнеспособности клеток; средние значения CC_{50} варьировались от 16 до 82 мкМ. Значения CC_{50} , полученные для соединения 1 в присутствии 300 мкМ ламивудина (LMV), 30 мкМ тенофовира (TFV) или 30 мкМ энтекавира (ETV) были аналогичны полученным для клеток, обработанных только соединением 1.

Пример 3. Эффект воздействия комбинации ингибитора капсида HBV соединения 1 с нуклеозидными аналогами или другими ингибиторами капсида HBV на ингибирование репликации ДНК HBV в клетках HepG2.2.15.

В настоящем примере была продемонстрирована аддитивность комбинации модулятора капсида HBV соединения 1 с LMV по результатам анализа с использованием MacSynergy и CalcuSyn. Комбинация соединения 1 с TFV или ETV демонстрировала аддитивный эффект, как было показано с помощью MacSynergy, а также от незначительной до умеренной синергии по результатам анализа с помощью CalcuSyn. Комбинация двух различных ингибиторов капсида HBV демонстрировала общую аддитивную противовирусную активность. Жизнеспособность клеток была сохранена выше 85% во всех пробах, обработанных наибольшими концентрациями соединения как по отдельности, так и в комбинации.

Пример 3.1. Материалы и методы.

Клетки HepG2.2.15 обрабатывали возрастающими концентрациям соединения 1 (0,05-5 мкМ) в сочетании с возрастающими концентрациями либо ламивудина (LMV), тенофовира (TFV), энтекавира (ETV) или Bay 41-4109 (0,01-5 мкМ) в течение шести дней. Секретированную ДНК HBV определяли в ходе анализа Quantigene, а жизнеспособность клеток оценивали по результатам анализа CellTiter-glo. Синергический эффект измеряли в рамках анализа MacSynergy и анализа CalcuSyn.

Пример 3.2. Результаты.

На фиг 7 представлен эффект воздействия соединения 1 в комбинации с нуклеозидными аналогами. Здесь же приведены графики синергического воздействия с доверительным интервалом 95% по результатам анализа MacSynergy с использованием трех различных аналитических планшетов для клеток HepG2.2.15, обработанных соединением 1 в комбинации с LMV (фиг. 7А), TFV (фиг. 7В) или ETV (фиг. 7С).

В табл. 9 приведены объемы синергии/антагонизма для соединения 1 в комбинации с нуклеозидными аналогами с прогнозируемым MacSynergy эффектом. Объемы синергии/антагонизма с доверительным интервалом 95% <25 мкМ 2% считали незначимыми, в диапазоне от 25 до 50 мкМ 2% - малыми, от 50 до 100 мкМ 2% - умеренными и >100 мкМ 2% рассматривали как заметную синергию/антагонизм. Как было показано, соединение 1 демонстрировало аддитивные эффекты в комбинации с LMV, TFV или ETV при использовании MacSynergy.

Таблица 9

Комбинация соединения 1 и	Синергия (мкМ ² %)	Антагонизм (мкМ ² %)	Эффект, прогнозируемый MacSynergy
LMV	5,1	-14,3	Добавка
TFV	18,5	-7,3	Добавка
ETV	1,0	-16,5	Добавка

В табл. 10 приведены значения показателя аддитивности (CI) для соединения 1 в комбинации с нуклеозидными аналогами. Полученные результаты показывают, что соединение 1 в комбинации с LMV демонстрирует аддитивный эффект при использовании CalcuSyn, а также от незначительной до умеренной синергии при комбинировании соединения 1 с TFV или ETV.

Таблица 10

Комбинация соединения 1 и	Значения CI			Суммарное значение CI	Эффект, прогнозируемый CalcuSyn
	ED50	ED75	ED90		
LMV	1,0	0,8	0,8	0,9 ± 0,1	Добавка
TFV	0,8	0,8	0,8	0,8 ± 0,06	От незначительной до умеренной синергии
ETV	1,0	0,5	0,5	0,7 ± 0,4	От незначительной до умеренной синергии

На фиг. 8 представлен эффект воздействия соединения 1 в комбинации с другими модуляторами капсида. График синергического воздействия с доверительным интервалом 95% по результатам MacSynergy для трех различных планшетов клеток HepG2.2.15, обработанных соединением 1 в комбинации с Bay 41-4109 (фиг. 8).

В табл. 11 приведены объемы синергии/антагонизма для соединения 1 в комбинации с другим модулятором капсида. По результатам применения MacSynergy соединение 1 демонстрировало аддитивный эффект в комбинации с Bay 41-4109 (формула B).

Таблица 11

Комбинация соединения 1 и	Синергия (мкМ ² %)	Антагонизм (мкМ ² %)	Эффект, прогнозируемый MacSynergy
Bay 41-4109	2,3	-3,9	Добавка

В табл. 10 представлены значения CI для соединения 1 в комбинации с другим модулятором капсида Bay 41-4109, которые показывают, что комбинация демонстрирует аддитивный эффект, как было предсказано при использовании CalcuSyn.

Таблица 12

Комбинация соединения 1 и	Значения CI			Суммарное значение CI	Эффект, прогнозируемый CalcuSyn
	ED50	ED75	ED90		
Bay 41-4109	1,1	1,1	1,1	1,1 ± 0,1	Добавка

Пример 4. Эффект воздействия комбинации ингибитора капсида HBV соединения 2 и соединения 3 с нуклеозидными аналогами на ингибирование репликации ДНК HBV в клетках HepG2.2.15.

В настоящем примере был продемонстрирован эффект от аддитивного до синергического для комбинации модулятора капсида HBV соединения 2 или соединения 3 с TFV или ETV по результатам анализа с помощью MacSynergy.

Пример 4.1. Материалы и методы.

Анти-HBV активность комбинаций соединения 2 и соединения 3 с нуклеоз(т)идными аналогами ETV или TFV оценивали в ходе 6-дневного анализа противовирусной активности против HBV с исполь-

зованием количественной ПЦР для обнаружения ДНК HBV в супернатанте клеточной культуры в качестве индикатора. Эффект комбинации анализировали с помощью программного обеспечения Mac Synergy II. Кроме того, определяли активность анти-HBV ETV и TFV при тестировании в качестве индивидуальных агентов в клетках HepG2.2.15 (табл. 16).

В процессе тестирования противовирусной активности клетки HepG2.2.15 культивировали в среде RPMI1640 и количество FBS снижали до 2%. Клетки наносили с плотностью 50000 клеток/лунку на 96-луночный планшет.

Через день после посева клеток HepG2.2.15 супернатант отделяли и добавляли к клеткам 200 мкл среды с тестируемыми соединениями, разбавленными в шахматном порядке. Через три дня среду с тестируемым соединением обновляли и инкубировали клетки при наличии соединения в течение еще трех дополнительных дней. По завершении обработки соединением 150 мкл супернатанта клеточной культуры и 50 мкл PBS добавляли в 96-луночный блок экстракции ДНК с использованием наборов MagNA Pure 96 DNA и Viral NA Small Volume. ДНК HBV определяли с использованием количественной ПЦР в реальном времени (количественная ПЦР). ДНК HBV количественно определяли в ходе анализа ПЦР в реальном времени с использованием набора LightCycler480 Probes Master (Roche) с праймерами 5'-GTGTCTGCGCGCTTTTATCA-3' (сенсовый) и 5'-GACAAACGGGCAACATACCT-3' (антисенсовый, SEQ ID NO: 7). Зонд HBV 5'-CCTCTKCATCCTGCTGCTATGCCTCATC-3' (SEQ ID NO: 8) содержит флуоресцентный репортерный краситель (FAM) на конце 5' зонда и тушител (TAMRA) на конце 3'. ПЦР проводили следующим образом: посредством денатурации при 95°C в течение 10 мин с последующими 40 циклами амплификации при 95°C в течение 15 секунд и при 60°C в течение 1 мин. Тестирование цитотоксичности соединений проводили для HepG2.2.15 параллельно с использованием такого же плана эксперимента как и при анализе противовирусной активности. Набор ATP lite от Perkin Elmer использовали для обнаружения АТФ в качестве маркера цитотоксичности используемого при обработке соединения.

Значения процента ингибирования, полученные для каждой комбинации концентрации соединения рассчитывали как среднее от 3 до 5 планшетов для репликации для одной и той же комбинации в каждом эксперименте. Для надежного выявления статистических выбросов для каждой точки данных рассчитывали отклонение от среднего для остальных четырех репликаций. Как и ожидалось, распределение таких отклонений для всех точек данных оказалось приблизительно нормальным и с центром в нуле, но с длинными хвостами распределения, что указывало на наличие значительных выбросов. Чтобы определить отсечения для их исключения, использовали критерий Тьюки для выбросов, который устанавливает пределы на первом квартиле за вычетом 1,5-кратного интерквартильного диапазона ($Q1 - 1,5 * (Q3 - Q1)$) и на втором квартиле плюс 1,5-кратный интерквартильный диапазон ($Q3 + 1,5 * (Q3 - Q1)$). Для симметричного фильтрования выбросов в качестве отсечения использовали максимум абсолютных значений таких пределов. Выбросом считали и исключали из расчетов любую точку данных, для которой абсолютное отклонение от среднего в 4 других репликациях превышало такое отсечение. Удаление выбросов проводили только в экспериментах 2 и 3. Анти-HBV активность различных комбинаций анти-HBV агентов оценивали с использованием модели Bliss-Independence, основанной на алгоритме, предложенном в работе Prichard and Shipman (Prichard M.N., Shipman C. Jr. A three-dimensional model to analyze drug-drug interactions. *Antiviral Res.* 1990; 14(4-5):181-205), с использованием программного обеспечения MacSynergy™ II. В данной модели теоретический аддитивный эффект рассчитывают по кривым отклика на дозу для индивидуальных соединений по уравнению $Z = X + Y \times (1 - X)$, где X и Y отражают ингибирование, достигаемое только лекарственным средством 1 и только лекарственным средством 2 соответственно, а Z отражает эффект, достигаемый при использовании комбинации лекарственного средства 1 и лекарственного средства 2. Теоретическую аддитивную поверхность вычитают из фактической экспериментальной поверхности, которая выглядит как горизонтальная плоскость при 0% ингибирования, если комбинация была аддитивной. Любой пик выше такой плоскости указывает на синергию, причем любой прогиб ниже такой поверхности указывает на антагонизм. Для статистической оценки данных использовали нижние пределы 95% доверительных интервалов (ДИ) для экспериментальной поверхности отклика на дозу. Рассчитывали объем пика или прогиба для количественной оценки суммарной формируемой синергии или антагонизма. Для определения эффекта комбинации анализировали значения синергии и антагонизма при 95% ДИ в соответствии с руководством для Mac Synergy II (с которым можно ознакомиться по ссылке <http://www.uab.edu/images/pediatrics/ID/MacSynergy.pdf>).

Таблица 15

Диапазоны концентраций различных соединений,
используемые в каждом эксперименте

№ эксперимента	Диапазон концентраций (нМ)			
	Соединение 2	Соединение 3	ETV	TFV
1	1000-0,24	1000-0,24	25-0,024	250-0,24
2	250-3,9	Н/П	25-0,10	250-1,0
3	250-3,9	Н/П	25-0,10	250-1,0

Таблица 16

Сводные данные по результатам синергии для комбинации
соединения 2 или соединения 3 с соединениями ETV или TFV

Формулы и комбинации анти-HBV агентов	Повторные измерения для каждого эксперимента ^a	Объемы синергии (нижний предел 95% ДИ) (мкМ ² %) ^b	Объемы антагонизма (нижний предел 95% ДИ) (мкМ ² %) ^b	Эффект комбинации ^c
Соединение 2+ETV (эксперимент 1)	3	0	-21,92	Незначительные синергия/антагонизм (аддитивность)
Соединение 2+TFV (эксперимент 1)	3	1,13	-10,98	Незначительные синергия/антагонизм (аддитивность)
Соединение 2+ETV (эксперимент 2)	5	14,66	-2,7	Незначительные синергия/антагонизм (аддитивность)
Соединение 2+TFV (эксперимент 2)	5	273,83	-0,55	Сильная синергия
Соединение 2+ETV (эксперимент 3)	5	332,45	-15,1	Сильная синергия
Соединение 2+TFV (эксперимент 3)	5	413,62	-6,19	Сильная синергия
Соединение 3+ETV (Эксперимент 1)	3	79,1	-13,75	Умеренная синергия
Соединение 3+TFV (Эксперимент 1)	3	144,51	-2,61	Сильная синергия

Таблица 17

Активность анти-HBV ETV и TFV при тестировании в качестве индивидуальных агентов в клетках HepG2.2.15

Соединение	Медиана EC ₅₀ , нМ	№ повторного эксперимента	Класс ингибитора
ETV	0,07	2	Нуклеозидный аналог
TFV	15	1	Нуклеозидный аналог

Описанный выше анализ цитотоксичности АТФ проводили в ходе эксперимента 1. На основании необработанных данных (не показаны) соединения не проявляют токсичности в любых комбинациях.

На фиг. 11А-11С и фиг. 12А-12С показан эффект соединения 2 в комбинации с нуклеозидными аналогами ETV и TFV. Приведены графики синергического воздействия с доверительным интервалом 95%

по результатам анализа MacSynergy с использованием трех различных аналитических планшетов для клеток HepG2.2.15, обработанных соединением 2 в комбинации с ETV (фиг. 11A-11C) и TFV (фиг. 12A-12C).

На фиг. 13 и 14 показан эффект соединения 3 в комбинации с нуклеозидными аналогами ETV и TFV. Приведены графики синергического воздействия с доверительным интервалом 95% по результатам анализа MacSynergy с использованием трех различных аналитических планшетов для клеток HepG2.2.15, обработанных соединением 3 в комбинации с ETV (фиг. 13) и TFV (фиг. 14).

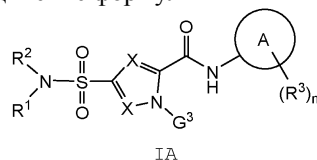
На фиг. 15A-15D приведен % ингибирования HBV соединением 2 в комбинации с нуклеозидными аналогами ETV и TFV. На графике на фиг. 15A приведен % ингибирования HBV в описанных диапазонах концентраций соединения 2 при концентрации ETV, равной нулю. На графике на фиг. 15B приведен % ингибирования HBV в описанных диапазонах концентраций ETV при концентрации соединения 2, равной нулю. На графике на фиг. 15C приведен % ингибирования HBV в описанных диапазонах концентраций соединения 2 при концентрации TFV, равной нулю. На графике на фиг. 15D приведен % ингибирования HBV в описанных диапазонах концентраций TFV при концентрации соединения 2, равной нулю.

Объем изобретения не ограничен конкретными вариантами осуществления и примерами, описанными в настоящем документе. В действительности специалистам в данной области будут очевидны различные модификации изобретения помимо описанных модификаций из предшествующего описания и сопровождающих фигур. Предполагается, что такие модификации включены в объем приложенной формулы изобретения.

Все ссылки (например, на публикации, или патенты, или заявки на патент), приведенные в настоящем документе, полностью включены в настоящий документ путем ссылки и для всех целей в той же мере, что и в случае, если каждая индивидуальная ссылка (например, публикация, или патент, или заявка на патент) была конкретно и индивидуально указана как полностью включаемая в настоящий документ путем ссылки для всех целей. Другие варианты осуществления входят в прилагаемую формулу изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Комбинированный продукт, обладающий анти-HBV активностью, содержащий терапевтически эффективное количество аллостерического модулятора основного белка (СрАМ) и терапевтически эффективное количество ингибитора обратной транскриптазы, в котором аллостерический модулятор основного белка представляет собой соединение формулы IA



или его фармацевтически приемлемую соль, его гидрат или его сольват,

где A представляет собой фенил;

R¹ представляет собой H или C₁-C₆-алкил;

R² представляет собой C₁-C₆-алкил, необязательно и независимо содержащий один или более заместителей в виде галогена, C₁-C₆-алкокси, оксо, C₁-C₆-алкила, OH, CN, CFH₂, CF₂H или CF₃;

R³ представляет собой независимо для каждого случая галоген, C₁-C₆-алкил, C₁-C₆-алкокси, циано, C₁-C₆-алкенил, C₁-C₆-алкинил или OH;

X представляет собой CR⁴;

G³ представляет собой H или C₁-C₆-алкил;

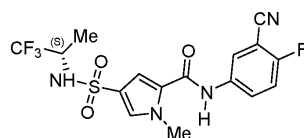
R⁴ представляет собой независимо для каждого случая H, галоген, C₁-C₃-алкил или циано;

n равно 0, 1, 2 или 3;

аллостерический модулятор основного белка представляет собой аллостерический модулятор основного белка, который вызывает сборку капсидов, которые по существу являются пустыми с точки зрения их вирусного содержания;

где ингибитор обратной транскриптазы является энтекавиром или тенофовиром или их фармацевтически приемлемыми солями.

2. Комбинированный продукт по п.1, в котором соединение формулы IA представляет собой соединение 2



Соединение 2

или его фармацевтически приемлемую соль, его гидрат или его сольват.

3. Комбинированный продукт по п.1 или 2, в котором ингибитор обратной транскриптазы является энтекавиром или его фармацевтически приемлемой солью.

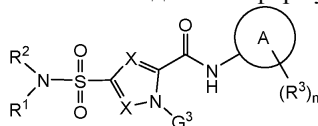
4. Комбинированный продукт по п.1, в котором ингибитор обратной транскриптазы является тенофовиром.

5. Комбинированный продукт по любому из пп.1-4, в котором СрАМ формулы IA и ингибитор обратной транскриптазы находятся в одном составе.

6. Комбинированный продукт по любому из пп.1-4, в котором СрАМ формулы IA и ингибитор обратной транскриптазы находятся в разных составах.

7. Применение комбинированного продукта по любому одному из пп.1-4 для лечения инфекции HBV у пациента.

8. Фармацевтическая композиция, обладающая анти-HBV активностью, содержащая аллостерический модулятор основного белка (СрАМ) и ингибитор обратной транскриптазы, где аллостерический модулятор основного белка представляет собой соединение формулы IA



IA

или его фармацевтически приемлемую соль, его гидрат или его сольват,

где A представляет собой фенил;

R¹ представляет собой H или C₁-C₆-алкил;

R² представляет собой C₁-C₆-алкил, необязательно и независимо содержащий один или более заместителей в виде галогена, C₁-C₆-алкокси, оксо, C₁-C₆-алкила, OH, CN, CFH₂, CF₂H или CF₃;

R³ представляет собой независимо для каждого случая галоген, C₁-C₆-алкил, C₁-C₆-алкокси, циано, C₁-C₆-алкенил, C₁-C₆-алкинил или OH;

X представляет собой CR⁴;

G³ представляет собой H или C₁-C₆-алкил;

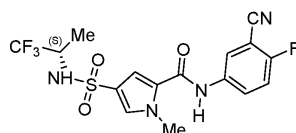
R⁴ представляет собой независимо для каждого случая H, галоген, C₁-C₃-алкил или циано;

n равно 0, 1, 2 или 3;

аллостерический модулятор основного белка представляет собой аллостерический модулятор основного белка, вызывающий сборку капсидов, которые по существу являются пустыми с точки зрения их вирусного содержания, и фармацевтически приемлемый носитель;

где ингибитор обратной транскриптазы является энтекавиром или тенофовиром или их фармацевтически приемлемыми солями.

9. Фармацевтическая композиция по п.8, в которой соединение формулы IA представляет собой соединение 2



Соединение 2

или его фармацевтически приемлемую соль, его гидрат или его сольват.

10. Фармацевтическая композиция по п.8 или 9, в которой ингибитор обратной транскриптазы является энтекавиром или его фармацевтически приемлемой солью.

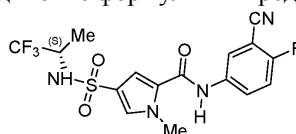
11. Композиция по п.8, в которой ингибитор обратной транскриптазы является тенофовиром.

12. Применение фармацевтической композиции по любому одному из пп.8-11 для лечения инфекции HBV у пациента.

13. Способ лечения инфекции HBV у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту комбинированного продукта по любому одному из пп.1-7 или фармацевтической композиции по любому одному из пп.8-12.

14. Способ по п.13, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества комбинированного продукта по п.1 или фармацевтической композиции по п.8.

15. Способ по п.14, в котором соединение формулы IA представляет собой соединение 2



Соединение 2

или его фармацевтически приемлемую соль, его гидрат или его сольват.

16. Способ по любому из пп.13-15, в котором ингибитор обратной транскриптазы является энтека-

виром или его фармацевтически приемлемой солью.

17. Способ по любому из пп.13-16, в котором СрАМ формулы IA и ингибитор обратной транскриптазы находятся в одном составе.

18. Способ по любому из пп.13-16, в котором СрАМ формулы IA и ингибитор обратной транскриптазы находятся в разных составах.

19. Способ по любому одному из пп.13-18, в котором пациент невосприимчив к лечению нуклеозидным агентом или не поддается лечению.

20. Способ по любому одному из пп.13-18, в котором пациент является пациентом, ранее не получавшим лечение.

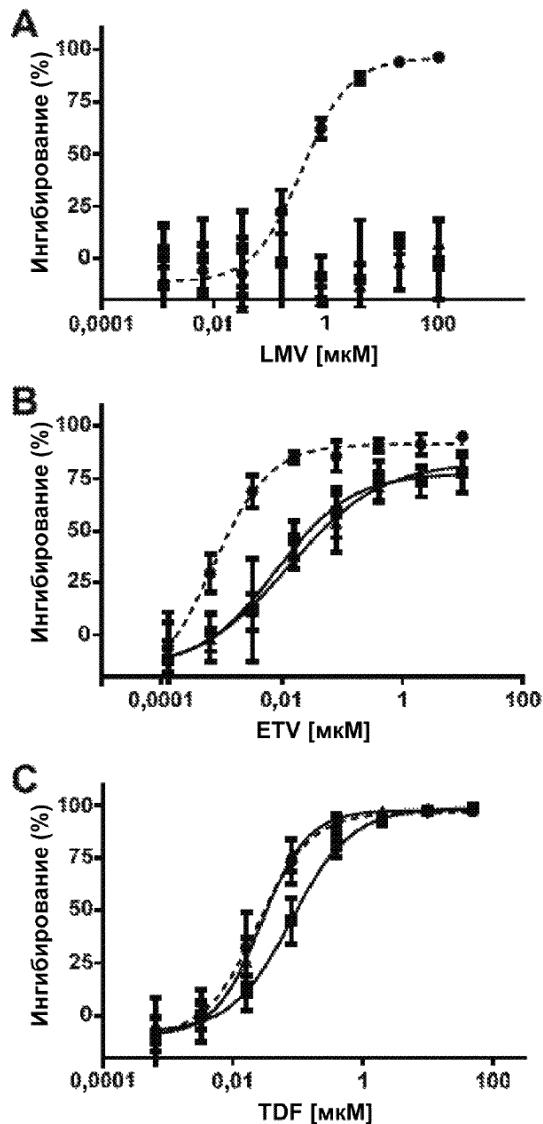
21. Способ по любому одному из пп.13-18, в котором введение СрАМ формулы IA и ингибитора обратной транскриптазы происходит за период времени менее 48 недель.

22. Способ по любому одному из пп.13-18, в котором пациент является пациентом, хронически инфицированным HBV.

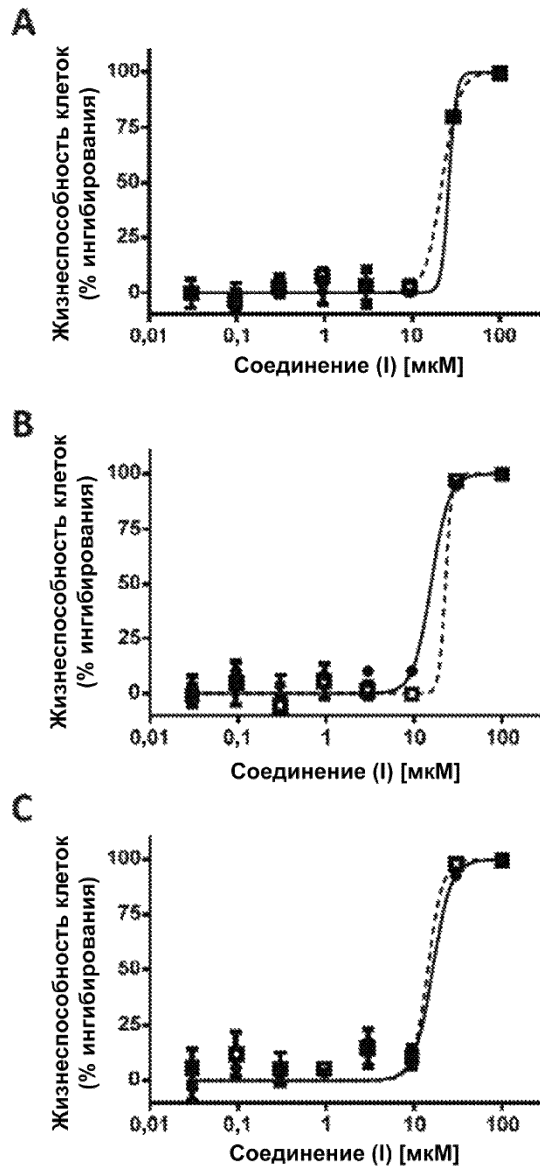
23. Способ по любому одному из пп.13-18, дополнительно включающий введение дополнительного агента против вируса HBV.

24. Способ по п.23, в котором дополнительный агент против вируса HBV представляет собой пегилированный интерферон альфа-2а.

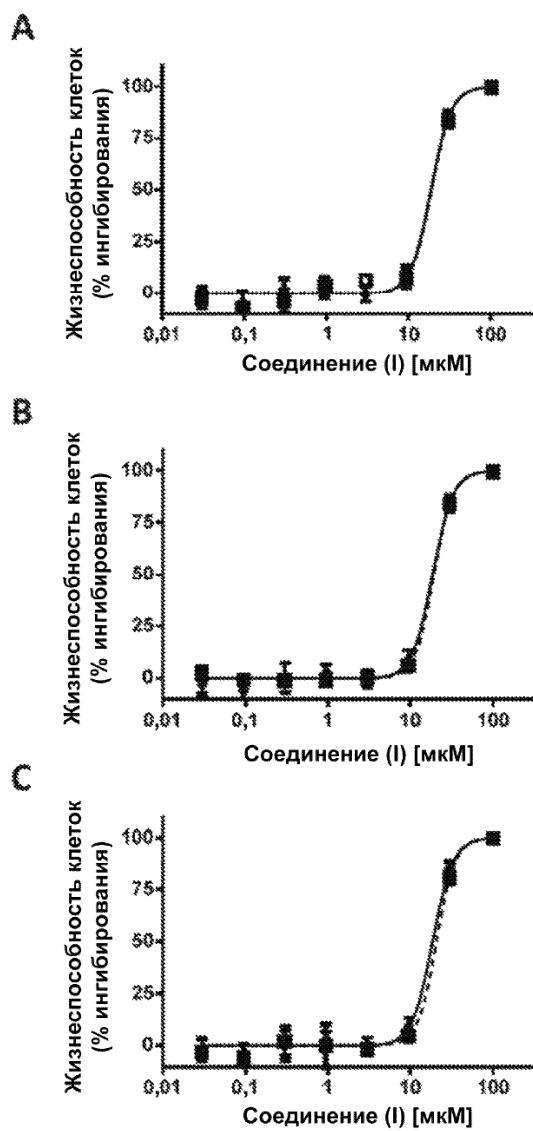
25. Способ по любому из пп.13-15, в котором ингибитор обратной транскриптазы является тенофовиром или его фармацевтически приемлемой солью.



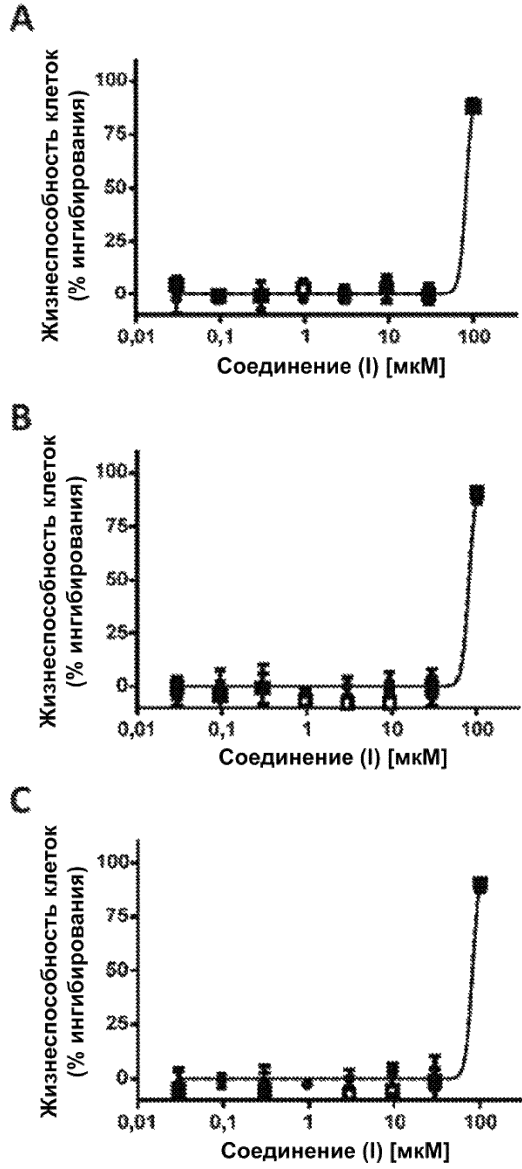
Фиг. 1



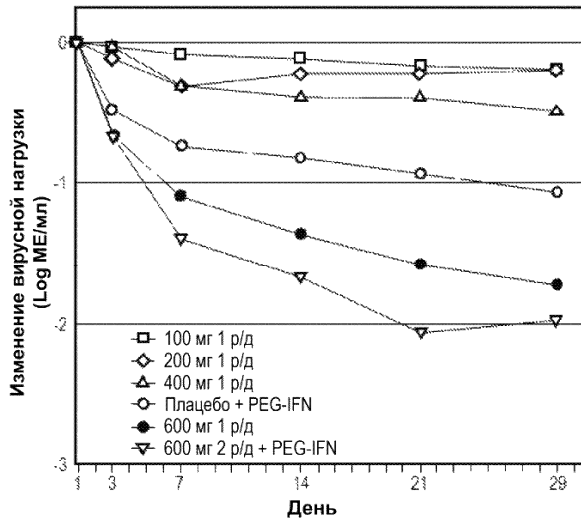
Фиг. 2



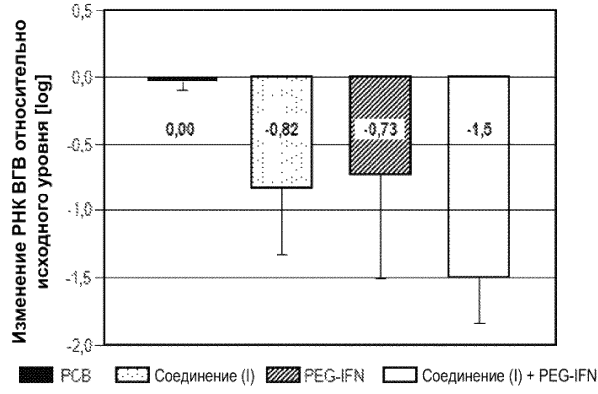
Фиг. 3



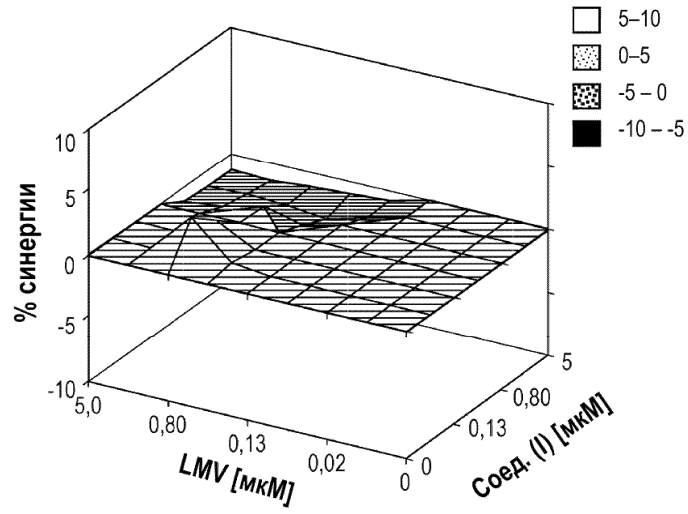
Фиг. 4



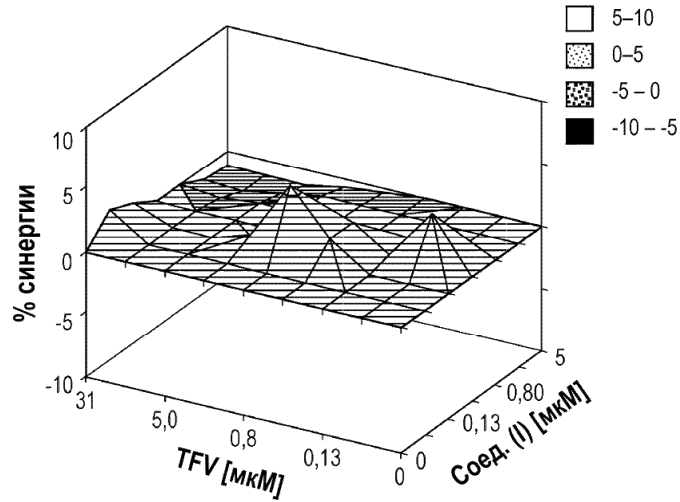
Фиг. 5



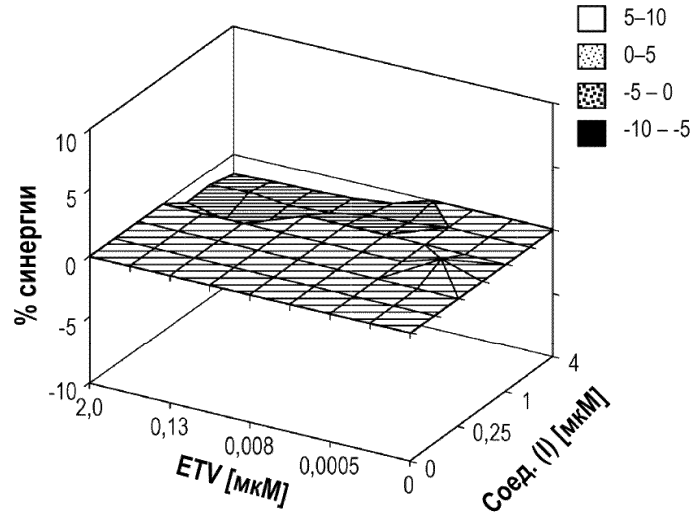
Фиг. 6



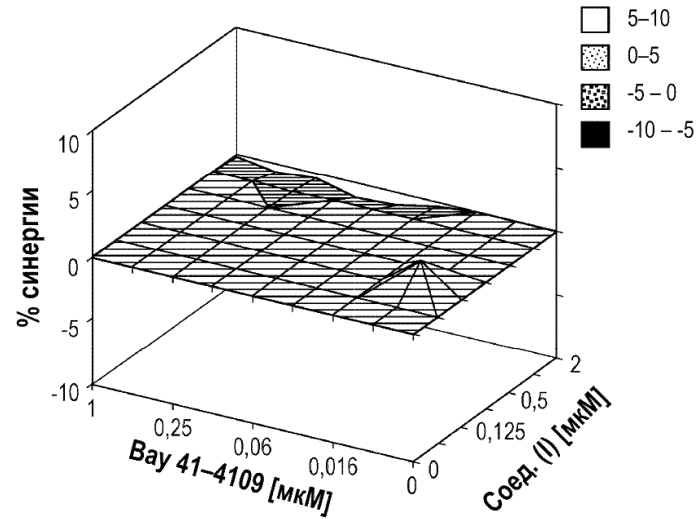
Фиг. 7А



Фиг. 7В

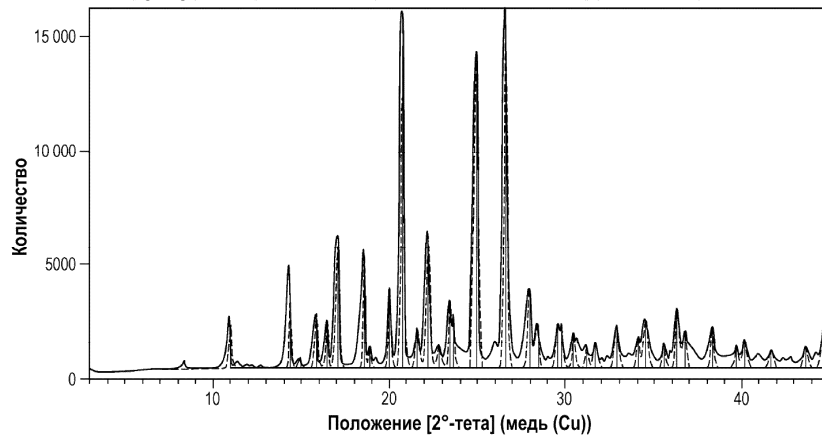


Фиг. 7С



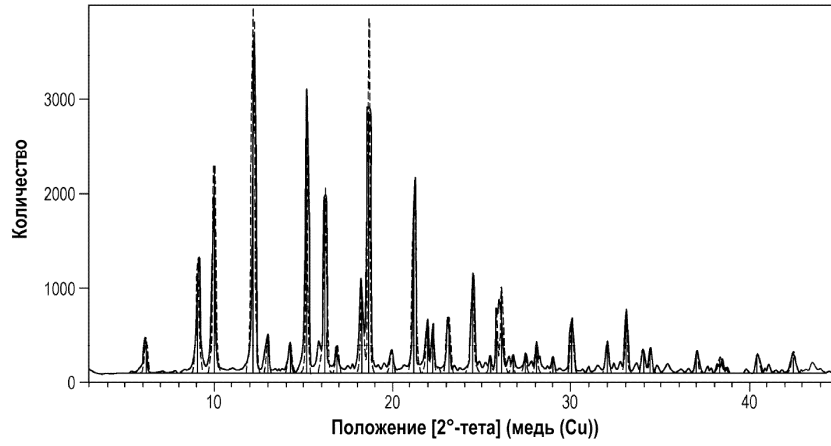
Фиг. 8

Структура порошковой рентгеновской дифракции: форма XVI

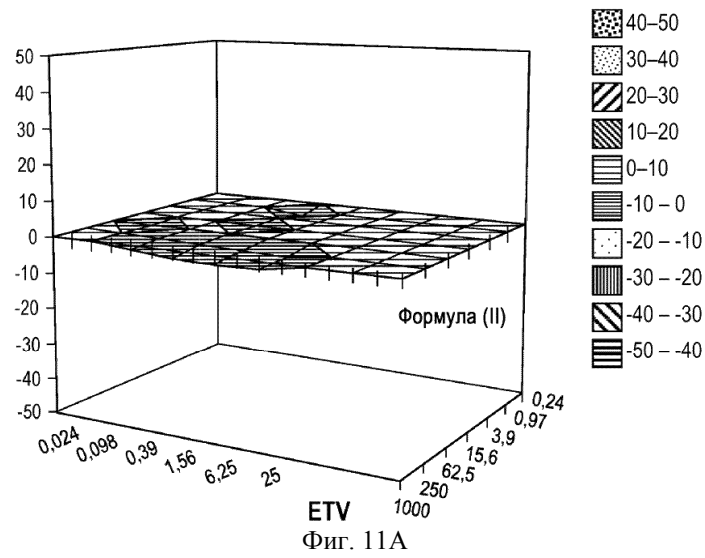


Фиг. 9

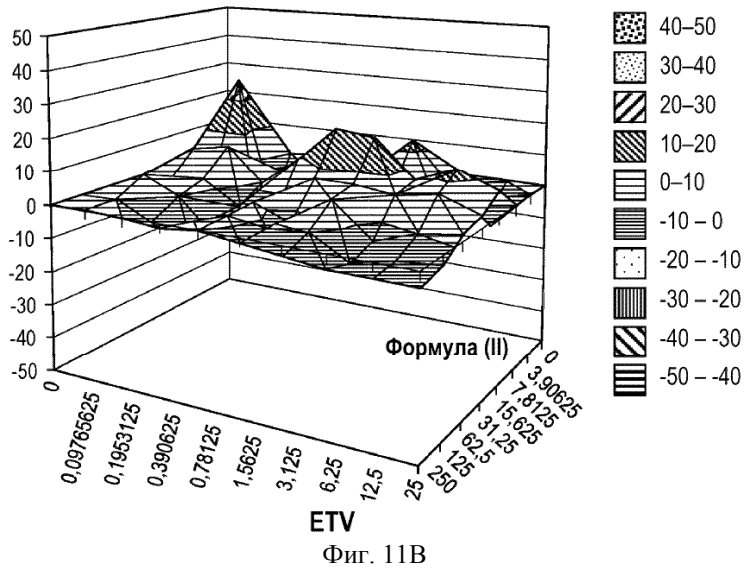
Структура порошковой рентгеновской дифракции: форма III



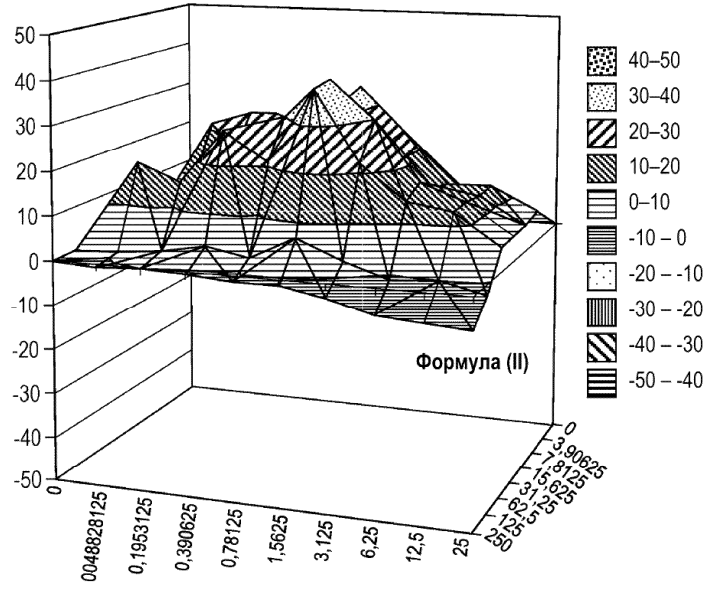
Фиг. 10



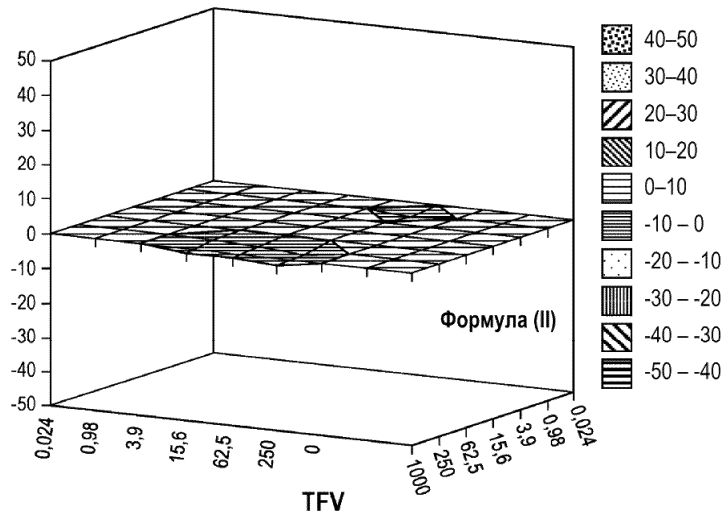
Фиг. 11А



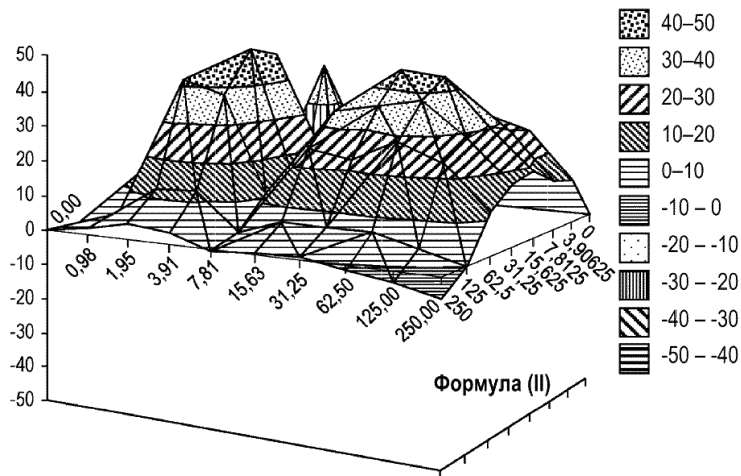
Фиг. 11В



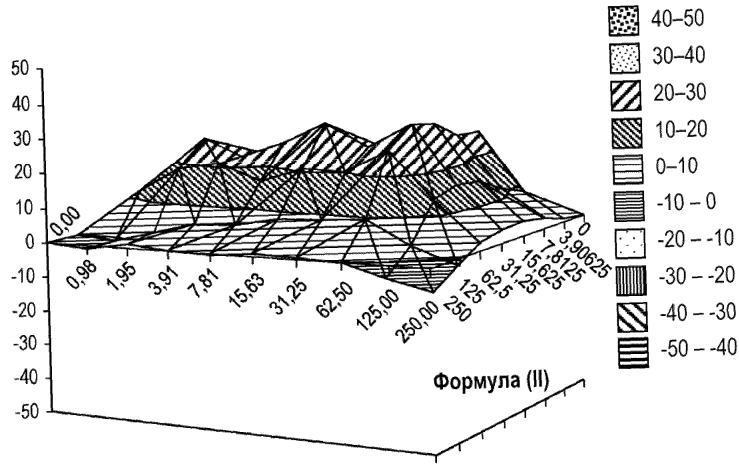
ETV
Фиг. 11С



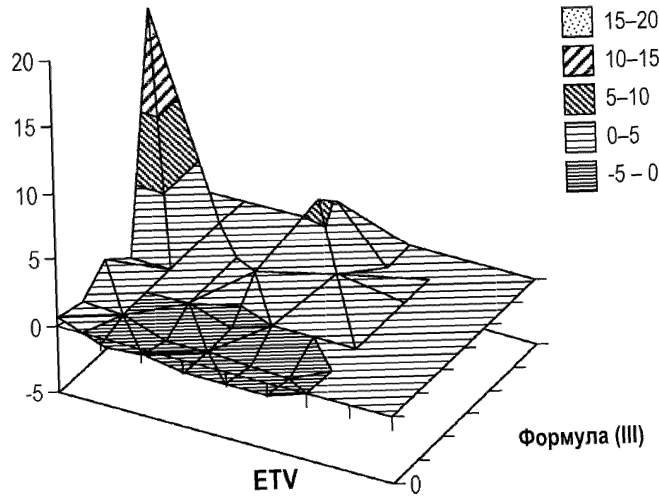
TFV
Фиг. 12А



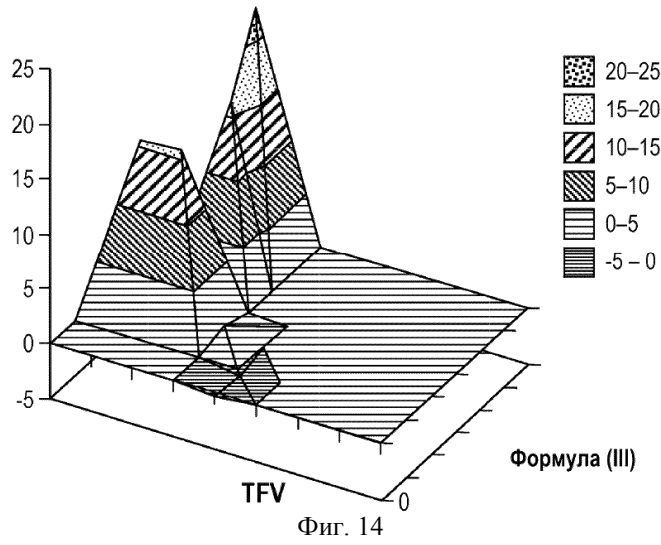
TFV
Фиг. 12В



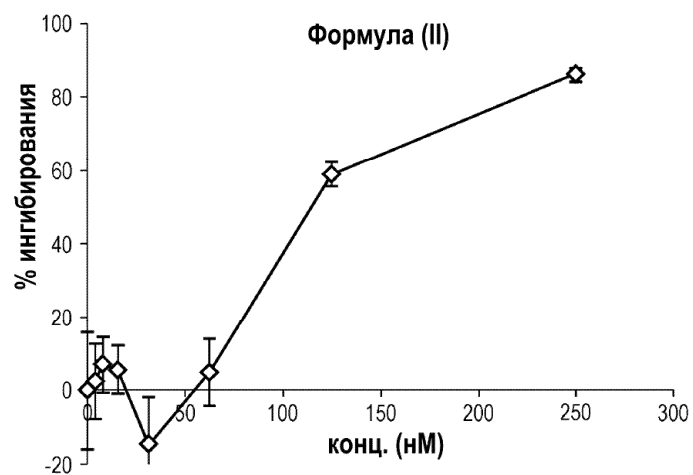
TFV
Фиг. 12С



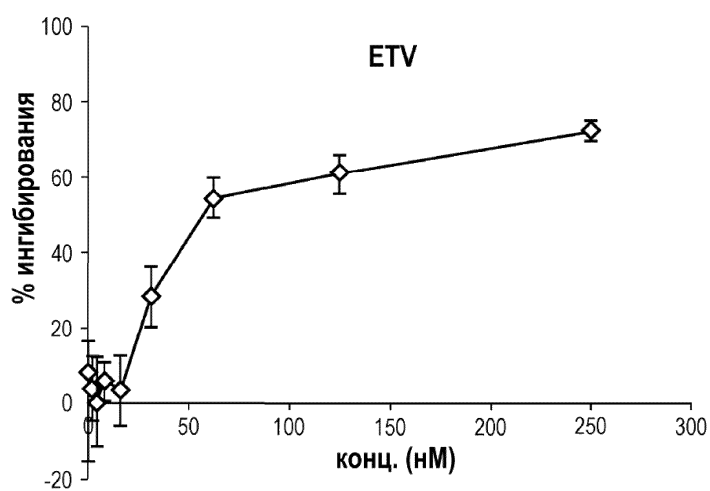
ETV
Фиг. 13



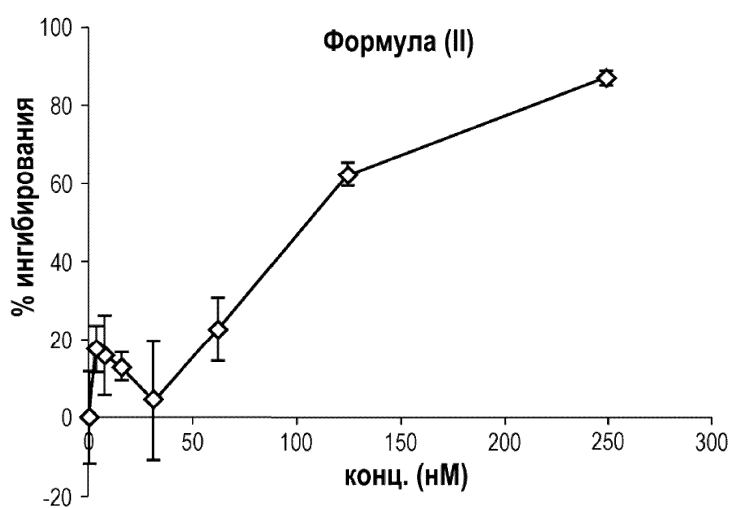
TFV
Фиг. 14



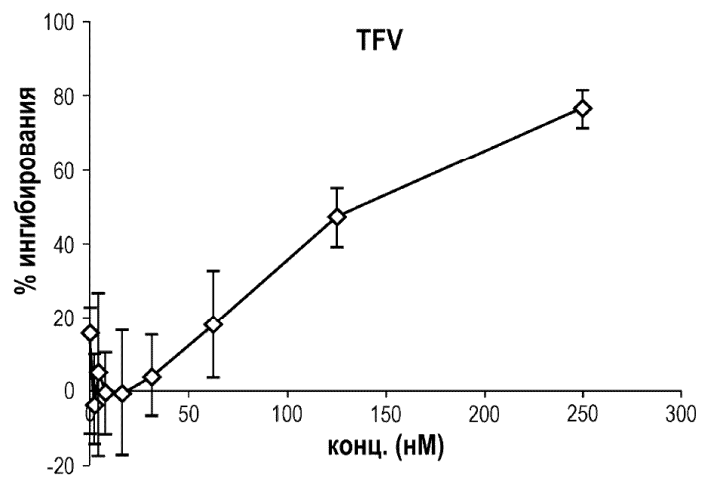
Фиг. 15А



Фиг. 15В



Фиг. 15С



Фиг. 15D

