



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 (11)證書號數：TW I454263 B

(45)公告日：中華民國 103 (2014) 年 10 月 01 日

(21)申請案號：098131293

(22)申請日：中華民國 98 (2009) 年 09 月 16 日

(51)Int. Cl. : A61K31/4709 (2006.01)

C07D417/14 (2006.01)

A61P31/14 (2006.01)

(30)優先權：2008/09/17 美國

61/097,753

2008/10/28 美國

61/109,033

2009/04/23 美國

61/171,935

(71)申請人：百靈佳殷格翰國際股份有限公司 (德國) BOEHRINGER INGELHEIM
INTERNATIONAL GMBH (DE)

德國

(72)發明人：黃 大衛 HUANG, DAVID (US)；史丹曼 哥哈德 G STEINMANN, GERHARD G.
(DE)；史特恩 傑瑞 O STERN, JERRY O. (US)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

US 20050020503A1

1998 年 11 月 19 日, McHutchison, J.G., et al., " Interferon alfa-2b
Alone or in Combination with Ribavirin as Initial Treatment for
Chronic Hepatitis C", N. Eng. J. Med., 1998, Vol.339, No.21, P.
1485-1492.2006 年 02 月 01 日, " Treating Chronic Hepatitis C with Pegylated
Interferon alfa-2a (40 KD) and Ribavirin in Clinical Practice",
Aliment. Pharmacol. Ther., 2006, Vol.23, P.397-408.

審查人員：林桂滿

申請專利範圍項數：15 項 圖式數：2 共 0 頁

(54)名稱

用於治療 H C V 感染之組合療法

COMBINATION THERAPY FOR TREATING HCV INFECTION

(57)摘要

本發明係關於一種療法組合，其包括(a)如文中所述之化合物(1)，或其醫藥上可接受的鹽、(b)干擾素 α 及(c)利巴韋林(ribavirin)。該化合物(1)為一種 HCV NS3 絲胺酸蛋白酶之強力的選擇性抑制劑。本發明亦關於一種使用該等治療組合為患者治療 HCV 感染或緩解其一種或多種症狀之方法。

The present invention relates to therapeutic combinations comprising (a) Compound (1), or a pharmaceutically acceptable salt thereof, as herein described, (b) an interferon alfa and (c) ribavirin. Compound (1) is a selective and potent inhibitor of the HCV NS3 serine protease. The present invention also relates to methods of using such therapeutic combinations for treating HCV infection or alleviating one or more symptoms thereof in a patient.

(無元件符號說明)

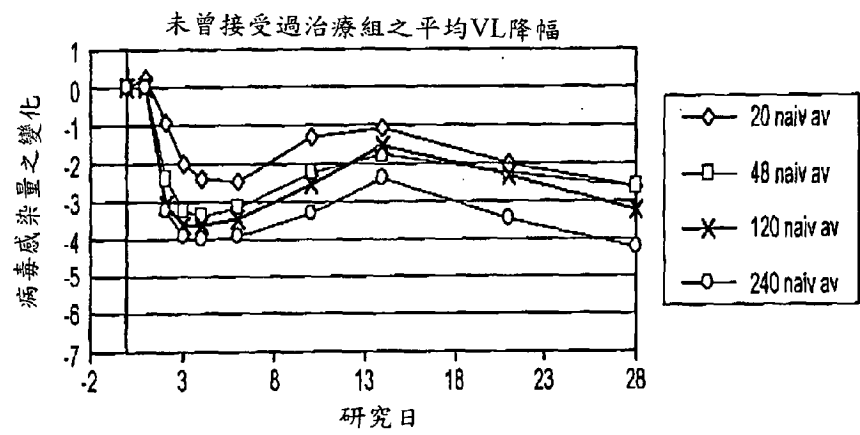
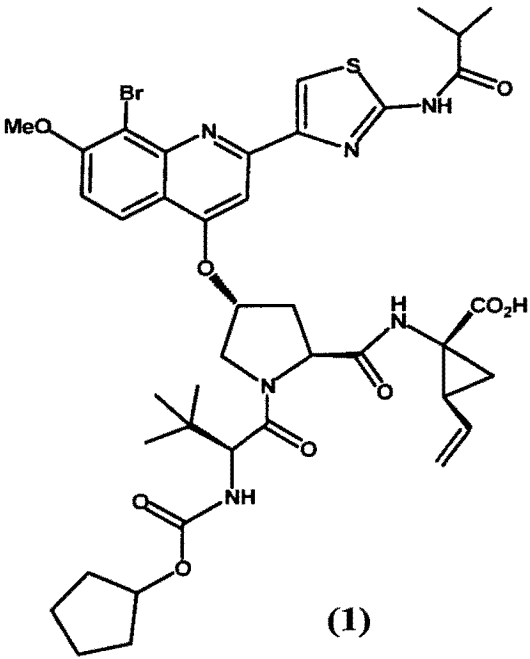


圖 1



六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於一種療法組合，其包括如文中所述之化合物(1)、干擾素 α 及利巴韋林(ribavirin)。本發明亦關於一種使用該等療法組合為患者治療HCV感染或緩解其一或多種症狀之方法。本發明亦提供一種包括本發明療法組合之套組。

本申請案主張下列之先前美國臨時申請案之權利：2008年9月17日申請之61/097,753、2008年10月28日申請之61/109,033、及2009年4月23日申請之61/171,935。

【先前技術】

C型肝炎病毒(HCV)感染為全球性人類健康問題，僅在美國每年即有約150,000例新報告病例。HCV為單股RNA病毒，其係在大多數非A、非B型輸血後及移植後肝炎病例中之鑒定出的病原體，亦係急性偶發性肝炎之常見原因。估計超過50%之感染HCV之患者變成慢性感染且其中20%在20年內發展成肝硬化。

已證實多種干擾素，特定言之， α -干擾素可用於治療慢性HCV：例如干擾素- α -2a(ROFERON®-A)、干擾素- α -2b(INTRON®-A)、複合干擾素(INFERGEN®)，以及彼等之聚乙二醇化形式及其他干擾素，如聚乙二醇化干擾素- α -2a(PEGASYS®)與聚乙二醇化干擾素- α -2b(PEG-INTRON®)。大多數患者對干擾素- α 治療沒有反應，而在有反應者中，在中斷治療後6個月內存在高復發率(Liang等人，J. Med.

Viol. 40:69, 1993)。

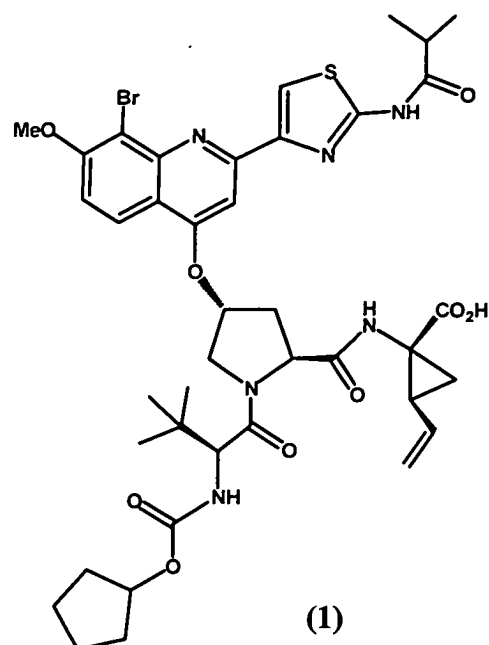
已在臨床試驗中顯示，當與干擾素- α 組合使用時，利巴韋林(一種對抗多種RNA與DNA病毒具廣譜活性之鳥嘌呤核苷類似物)可有效對抗慢性HCV感染(參見例如Poynard等人，Lancet 352:1426-1432, 1998; Reichard等人，Lancet 351:83-87, 1998)，且已證實下列組合療法可用於治療HCV：REBETRON®(干擾素- α -2b加利巴韋林，Schering-Plough)、PEGASYS®RBV®(聚乙二醇化干擾素- α -2a加利巴韋林組合療法，Roche)，亦參見Manns等人，Lancet 358:958-965 (2001)及Fried等人，2002, N. Engl. J. Med. 347:975-982。然而，即使使用該組合療法，病毒反應率仍然等於或低於50%。

更進一步，通常該等療法會出現相關之明顯副作用。利巴韋林之缺點包括致畸胎活性、影響精子發育、溶血、疲勞、頭痛、失眠、噁心及/或厭食。併用或不併用利巴韋林之干擾素 α 與許多副作用相關。在治療期間，必須小心監視患者之類似流感症狀、抑鬱、皮疹及異常血液計數。接受干擾素 α -2b加利巴韋林治療之患者不應有嚴重肝臟功能失調之併發症，且在小心追蹤試驗時，該等受檢者僅考慮接受C型肝炎治療。

某些用於治療HCV感染之含干擾素之組合療法亦揭示於下列美國專利申請公開案：US 2005/0112093、US 2005/0129659、及US 2008/0138316。

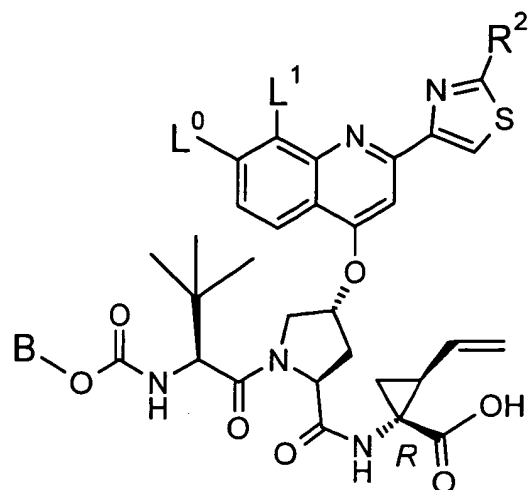
已知以下化合物(1)可作為HCV NS3絲胺酸蛋白酶之選

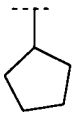
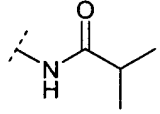
擇性強力抑制劑，且適用於治療HCV感染：



化合物(1)屬於美國專利案 6,323,180 B1、及美國專利申請公開案 2005/0020503 與 2005/0267151 中所揭示之非環肽系列之 HCV 抑制劑。化合物(1)特別以化合物 1055 號揭示於美國專利申請公開案第 2005/0020503 號，及以化合物 1008 號揭示於美國專利申請公開案第 2005/0267151 號。可根據以上所引用參考案中找到之一般製法製得化合物(1)、及其醫藥調配物，所有參考案之全文係以引用的方式併入文中。化合物(1)之較佳形式包括結晶形式，特定言之結晶鈉鹽形式，其可如本文實例部份所述製得。

亦已知化合物(1)具有以下另一種化學結構式，該結構式等同於上述結構式：



其中 B 為  ; L^0 為 $\text{MeO}-$; L^1 為 Br ; 及 R^2 為  。

雖然已發現化合物 (1) 通常可有效降低病毒感染量與治療 HCV 感染，但是已觀察到一定量之病毒抗性且造成病毒反彈。例如，吾人已觀察到作為單一療法之每日一次對未曾接受過治療患者投與 14 天之化合物 (1) 出現強力且非常快速之抗病毒效力，隨後，在 5-6 天後形成一定量的抗性。

因此，在用於治療及預防 HCV 感染之領域上仍舊需要一種替代性療法。

【發明內容】

本發明提供一種為患者治療 HCV 感染或緩解其一或多種症狀之方法，其包括對患者一起投與包括如文中定義之化合物 (1)、或其醫藥上可接受之鹽，與如文中所定義之干擾素 α 及利巴韋林之療法組合之步驟。作為療程之一部份之該三種活性物組合可同時或分開投與。

本發明進一步提供一種套組，其包括含化合物 (1) 或其醫藥上可接受的鹽之第一醫藥組合物、含干擾素 α 之第二

醫藥組合物、及含利巴韋林之第三醫藥組合物。

【實施方式】

定義

「化合物(1)」定義如上。

「干擾素」意指抑制病毒複製與細胞增殖且調節免疫反應之高度同源性物種特異性蛋白質家族之成員。基於人類干擾素之細胞起源與抗原性將其分成三類： α -干擾素(白細胞)、 β -干擾素(成纖維細胞)、 γ -干擾素(B細胞)。已發展出每一類之重組形式且可自商品購得。每一類之亞型係基於抗原/結構特徵分類。藉由分離與定序編碼該等肽之DNA而鑒定出至少24種具有不同胺基酸序列之干擾素 α (分成A至H亞型)。本申請案中可相互交換使用術語「 α -干擾素」(α -interferon)、「阿發-干擾素」(alfa-interferon)、「干擾素 α 」(interferon alfa)，以描述該組之成員。在本發明之操作中可使用天然產生與重組之 α -干擾素，包括複合干擾素。

適用於本發明之干擾素- α 包括但不限於重組干擾素 α -2b(諸如 Intron®-A 干擾素與 VIRAFERON®)、重組干擾素 α -2a(諸如 Roferon® 干擾素)、重組干擾素 α -2c(諸如 Berofer® α 2 干擾素)、干擾素 α -n1(一種天然 α 干擾素之純化摻合物)(諸如 Sumiferon®或 Wellferon® 干擾素 α -n1 (INS))、或複合 α 干擾素(諸如彼等闡述於美國專利第4,897,471與4,695,623號中者)或干擾素 α -n3(一種天然 α 干擾素之混合物)(諸如 Alferon®)。較佳使用干擾素 α -2a或 α 2b。干擾素

α 2b之製造闡述於美國專利第4,530,901號。

術語「干擾素 α 」進一步意欲包括彼等「聚乙二醇化」類似物，其意指干擾素 α 經聚乙二醇修飾之共軛物，以干擾素 α -2a及-2b較佳。較佳的聚乙二醇干擾素 α -2b共軛物為PEG₁₂₀₀₀-干擾素 α -2b。如文中所用，術語「PEG₁₂₀₀₀-IFN α 」意指根據國際專利申請案第WO 95/13090號製得，且在干擾素 α -2a或-2b胺基與平均分子質量為12000之聚乙二醇之間含有胺基甲酸酯連接基的共軛物。

藉由使PEG共聚物與IFN α -2b分子中離胺酸殘基之 ϵ -胺基連接而製得較佳的PEG₁₂₀₀₀-干擾素 α -2b。單一PEG₁₂₀₀₀分子經胺基甲酸酯連接基與IFN α -2b分子上游離胺基共軛連接。該共軛物之特徵為所連接PEG₁₂₀₀₀之分子量。該PEG₁₂₀₀₀-IFN α -2b共軛物經調配成用於注射之凍乾粉。共軛連接IFN α 與PEG之目的為藉由顯著延長其血漿半衰期而改善該蛋白質之遞送，且因此提供延長的IFN α 活性。

可用於本發明之特別佳之干擾素 α 共軛物為聚乙二醇化 α 干擾素，例如聚乙二醇化干擾素 α -2a、聚乙二醇化干擾素 α -2b、聚乙二醇化複合干擾素或聚乙二醇化純化干擾素 α 產物。聚乙二醇化干擾素 α -2a闡述於例如歐洲專利案第EP 0 593 868號，且可購得例如名為PEGASYS®(Hoffmann-La Roche)之商品。聚乙二醇化干擾素 α -2b闡述於例如美國專利案第5,908,621號與WO 98/48840，且可購得例如名為PEG-INTRON® A(Schering Plough)之商品。聚乙二醇化複合干擾素闡述於WO 96/11953。較佳的聚乙二醇化 α 干擾素

為聚乙二醇化干擾素 α -2a與聚乙二醇化干擾素 α -2b。聚乙二醇化複合干擾素亦較佳。

術語「干擾素 α 」進一步包括其他干擾素 α 共軛物，其可經偶聯干擾素 α 與水溶性聚合物而製得。該等聚合物之非限制性列表包括其他聚氧化烯烴均聚物，諸如聚乙二醇(PEG)、聚丙二醇、聚氧乙烯化多元醇、其共聚物及其嵌段共聚物。另一種基於聚氧化烯烴聚合物之替代物可有效使用非抗原性材料，諸如葡聚糖、聚乙烯基吡咯酮、聚丙烯醯胺、聚乙烯基醇、基於碳水化合物之聚合物等。該等干擾素 α -聚合物共軛物闡述於美國專利案第4,766,106號、美國專利案第4,917,888號、歐洲專利申請案第0 236 987號、歐洲專利申請案第0510 356、0 593 868及0 809 996號(聚乙二醇化干擾素 α -2a)及國際公開案第WO 95/13090號。

術語「干擾素 α 」進一步包括干擾素 α 之融合蛋白質，例如干擾素 α -2a、干擾素 α -2b、複合干擾素或純化干擾素 α 之相互融合蛋白質產物。如美國專利6,972,322及國際公開案WO 2005/003296與WO 2005/077042所述，某些較佳的融合蛋白質包括干擾素(例如干擾素 α -2b)與白蛋白。與人類白蛋白共軛之較佳干擾素為Albuferon®，其係利用白蛋白融合技術所產生之更長效形式干擾素 α 。Albuferon®產生自人類白蛋白與干擾素 α 之基因融合。亦包括複合干擾素，諸如INFERGEN®。

術語「醫藥上可接受的鹽」意指通式(1)化合物之鹽，其在完整的醫藥判斷範圍內，適於與人類及較低等動物之

組織接觸使用，且無過度毒性、刺激性、過敏反應、等，具有合理之收益/風險比例，通常為水或油可溶或可分散，且有效用於彼等所需之用途上。

該術語包括醫藥上可接受的酸加成鹽與醫藥上可接受的鹼加成鹽。適宜鹽之列表可在例如 S. M. Birge 等人，J. Pharm. Sci., 1977, 66, 第 1-19 頁中找到。

術語「醫藥上可接受的酸加成鹽」意指彼等保留游離酸之生物效力與性質，且非為生物性或其他不合需要的鹽，其利用諸如氫氯酸、氫溴酸、硫酸、胺基磺酸、硝酸、磷酸，等等無機酸或利用諸如乙酸、三氟乙酸、己二酸、抗壞血酸、天冬胺酸、苯磺酸、苯甲酸、丁酸、樟腦酸、樟腦磺酸、肉桂酸、檸檬酸、二葡萄糖酸、乙磺酸、麩胺酸、乙醇酸、甘油磷酸、半磺酸、己酸、甲酸、反丁烯二酸、2-羥基乙烷-磺酸(羥乙磺酸)、乳酸、羥基馬來酸、蘋果酸、丙二酸、苯乙醇酸、茱基磺酸、甲烷磺酸、萘磺酸、菸鹼酸、2-萘磺酸、草酸、雙羥萘酸、果膠酸、苯基乙酸、3-苯基丙酸、三甲基乙酸、丙酸、丙酮酸、水楊酸、硬脂酸、琥珀酸、磺胺酸、酒石酸、對甲苯磺酸、十一烷酸，等等有機酸形成。

術語「醫藥上可接受的鹼加成鹽」意指彼等保留游離酸之生物效力與性質，且非為生物上或其他不合需要之鹽，其利用諸如氨，或銨或金屬陽離子(諸如鈉、鉀、鋰、鈣、鎂、鐵、鋅、銅、錳、鋁、等)之氫氧化物、碳酸鹽、或碳酸氫鹽之無機鹼形成。特別佳者為銨鹽、鉀鹽、

鈉鹽、鈣鹽及鎂鹽。衍生自醫藥上可接受的有機無毒鹼之鹽包括一級、二級及三級胺類、四級胺化合物、經取代的胺(包括天然產生之經取代的胺)、環胺及鹼性離子交換樹脂，諸如甲基胺、二甲基胺、三甲基胺、乙基胺、二乙基胺、三乙基胺、異丙基胺、三丙基胺、三丁基胺、乙醇胺、二乙醇胺、2-二甲基胺基乙醇、2-二乙基胺基乙醇、二環己基胺、離胺酸、精胺酸、組胺酸、咖啡鹼、哈巴胺、膽鹼、甜菜鹼、乙二胺、葡萄糖胺、甲基葡萄糖胺、可可鹼、嘌呤、哌嗪、哌啶、N-乙基哌啶、四甲基銨化合物、四乙基胺化合物、吡啶、N,N-二甲基苯胺、N-甲基哌啶、N-甲基嗎啉、二環己基胺、二苯甲基胺、N,N-二苯甲基苯乙胺、1-二苯羥甲胺、N,N'-二苯甲基乙二胺、聚胺樹脂、等。特別佳之有機無毒鹼為異丙基胺、二乙基胺、乙醇胺、三甲基胺、二環己基胺、膽鹼、及咖啡鹼。

「利巴韋林」指獲自 ICN Pharmaceuticals, Inc.(Costa Mesa, Calif.)之1- β -D-呋喃核糖基-1H-1,2,4-三唑-3-甲鹽胺，且闡述於第11版Merck Index，化合物第8199號。其製造及調配闡述於美國專利第4,211,771號。較佳之市售利巴韋林產品包括REBETOL®與COPEGUS®。該術語進一步包括其衍生物或類似物，諸如彼等闡述於美國專利第6,063,772、6,403,564及6,277,830號中者。例如，衍生物或類似物包括經修飾之利巴韋林，諸如5'-胺基酯、ICN Pharmaceutical之利巴韋林之L-對映異構體(ICN 17261)、利巴韋林之2'-去氧衍生物與利巴韋林之3-甲脒衍生物、韋

拉密汀(viramidine)(過去稱為利巴密汀(ribamidine))等。

如文中所用之術語「療法組合」意指一或多種活性藥物(亦即具有治療用途之化合物)之組合。本發明療法組合中之各化合物通常呈包括該化合物與醫藥上可接受載劑之醫藥組合物。本發明療法組合中之化合物可作為療程之一部份，同時或分開投與。

本發明具體實施例

根據一般實施例，本發明為患者提供一種治療HCV感染或緩解其一或多種症狀之方法，其包括對患者投與包括如文中定義之化合物(1)、或其醫藥上可接受之鹽，以及干擾素 α 與利巴韋林之療法組合之步驟。在另一項實施例中，本發明教示以文中定義之化合物(1)、或其醫藥上可接受的鹽、干擾素 α 、及利巴韋林，於製備醫藥套組，為患者治療C型肝炎病毒(HCV)感染或緩解其一或多種症狀上之用途。雖然希望該組合療法可有效對抗所有HCV基因型，但是已證實其對治療HCV基因型-1(包括基因亞型-1a與1b)感染上尤其有效。

接受本發明組合療法之患者群體可進一步分為「未曾接受過治療」患者(亦即過去未曾接受過任何針對HCV感染之治療之患者)與「曾接受過治療」患者(亦即過去曾接受過針對HCV之治療之患者)。這兩類患者均可接受本發明之組合療法。曾接受過治療的較佳特定患者為彼等過去曾經接受過干擾素加上利巴韋林療法，但對該療法沒有反應之曾接受過治療的患者(文中稱為「沒有反應者」)。該等

沒有反應者包括三個特定患者群：(1)在干擾素加上利巴韋林治療期間之HCV RNA濃度之最大降低程度 $<1 \times \log_{10}$ 之患者(「無反應者」)，(2)在干擾素加上利巴韋林治療期間之HCV RNA濃度之最大降低程度 $\geq 1 \times \log_{10}$ ，但從未達到低於偵測濃度之HCV RNA濃度之患者(「部份反應者」)，及(3)在干擾素加上利巴韋林療法期間獲得病毒學反應，但在治療期間(不適應之患者除外)或在治療完成後，病毒感染量反彈之患者(「復發者」)。如將於下文詳述者，利用本發明組合療法之療程治療某些沒有反應患者，已獲得令人特別吃驚之結果。

根據另一項實施例，本發明提供一種為有此需要的患者降低HCV-RNA濃度之方法，其包括對該患者投與根據本發明之療法組合之步驟。本發明方法較佳係使患者之HCV-RNA濃度降低至低於可測得之濃度。文中術語「低於可測得之濃度」及「低於偵測濃度」可交換使用，且具有與低於HCV RNA之可測得濃度之相同含義。如本發明中使用之HCV RNA之可測得濃度意指根據WHO國際標準之定量、多循環反轉錄酶PCR方法所測，每毫升患者血清至少50個國際單位(UI)(Saladanha J, Lelie N與Heath A, Establishment of the first international standard for nucleic acid amplification technology (NAT) assays for HCV RNA. WHO Collaborative Study Group. Vox Sang 76:149-158, 1999)。該等方法於相關技術中熟知。在較佳實施例中，本發明方法將患者之HCV-RNA濃度降低至低於每毫升血

清 25 IU，更佳者降低至低於每毫升血清 10 IU。

標準干擾素加上利巴韋林療法之常用治療時期為：針對 HCV 基因型-1 感染之至少 48 週，及針對 HCV 基因型-2 及 3 之至少 24 週。然而，再加上化合物(1)、或其醫藥上可接受的鹽之本發明三重組合療法，治療時期可能縮短許多。利用本發明之三重組合療法，計畫之治療期包括至少 4 週，較佳為至少 12 週，例如：約 12 週至約 24 週，雖然亦有可能治療長達及甚至超過 48 週。因此，其他實施例包括治療至少 24 週與至少 48 週。吾人希望針對不同 HCV 基因型(例如 HCV 基因型-2、3 或 4)之時間期相似。亦希望以本發明三重組合療法為初始療程，隨後繼續僅含干擾素與利巴韋林之二重組合療法。因此，初始三重且隨後兩重之組合療法之可能情況包括例如：(1)4 週之三重組合療法，隨後為 20 至 44 週之僅含干擾素加利巴韋林之療法；(2)12 週之三重組合療法，隨後為 12 至 36 週之僅含干擾素加利巴韋林之療法；及(3)24 週之三重組合療法，隨後為 12 至 24 週之僅含干擾素加利巴韋林之療法。

療法組合之第一種組分(稱為化合物(1)或其醫藥上可接受的鹽)係包括於組合物中。該組合物包括化合物(1)、或其醫藥上可接受的鹽、及醫藥上可接受的佐劑或載劑。針對化合物(1)、或其醫藥上可接受的鹽可使用的常用醫藥組合物闡述於美國專利申請公開案 2005/0020503。

通常化合物(1)或其醫藥上可接受的鹽可以投與至少 40 mg/日之劑量(單劑或分成小劑量)。關於劑量與範圍之其

他實施例可包括(單劑或分成小劑量)：

- (a) 至少 48 mg/日
- (b) 至少 100 mg/日
- (c) 至少 120 mg/日
- (d) 至少 200 mg/日
- (e) 至少 240 mg/日
- (f) 至少 360 mg/日
- (g) 至少 480 mg/日
- (h) 自約 40 mg/日至約 480 mg/日
- (i) 自約 48 mg/日至約 240 mg/日
- (j) 自約 100 mg/日至約 300 mg/日
- (k) 自約 120 mg/日至約 300 mg/日
- (l) 自約 120 mg/日至約 240 mg/日
- (m) 自約 240 mg/日至約 480 mg/日
- (n) 約 48 mg/日
- (o) 約 120 mg/日
- (p) 約 240 mg/日
- (q) 約 360 mg/日
- (r) 約 480 mg/日

雖然化合物(1)或其醫藥上可接受的鹽可以每日投與一劑或分成小劑量投與，然而以每日投與一次日劑量較佳。如熟習此項技術者咸瞭解，可能需要低於或高於上述劑量。任一特定患者之特定劑量及治療療程將取決於多種因素，包括年齡、體重、一般健康狀況、性別、飲食、投藥

時間、排泄率、藥物組合、感染的嚴重度及過程、患者對感染的處置與治療醫生的判斷。通常，該藥物最需要以通常可提供抗病毒性效力結果，但不引起任何有害或不良之副作用之濃度投與。

該療法組合之第二種組分(亦即干擾素 α)係包括於醫藥組合物中。該組合物通常為可注射調配物，其包括干擾素 α 與醫藥上可接受的佐劑或載劑，且係相關技術中所熟知者，包括許多市售干擾素 α 調配物。參見例如多種市售干擾素- α 產品，及多種專利案，及其他關於上文所引用之干擾素 α 之文獻。

可用於組合之干擾素- α 類型已在上文定義部份中列出。在一項較佳實施例中，干擾素 α 為聚乙二醇化干擾素 α 。在另一項實施例中，干擾素 α 為聚乙二醇化干擾素 α -2a或聚乙二醇化干擾素 α -2b。在一項特別佳之實施例中，干擾素 α 為PEGASYS®或PEG-INTRON®。

當使用已知之市售干擾素 α 產品時，該等產品可呈用於治療HCV感染之干擾素加上利巴韋林之組合療法所制定之標示劑量投與。當然，採用本發明之三重組合療法時，可能使用較低劑量之干擾素 α ，例如顯著低於現行標準干擾素加上利巴韋林之療法所使用者，其中可達到與現行標準療法相同或更佳之效力，但通常與該療法相關之副作用卻減少。

在一項實施例中，每週一至三次(較佳每週一次或兩次)非經腸投與干擾素 α 。對於聚乙二醇化干擾素 α ，通常係每

週一次投與，且週總劑量範圍為：例如，若為聚乙二醇化干擾素 α -2b，則約0.5 $\mu\text{g/kg/週}$ 至約2 $\mu\text{g/kg/週}$ ；而對於聚乙二醇化干擾素 α -2a，劑量係取決於受檢者之體重，且通常為約90至200 $\mu\text{g/週}$ ，更佳為約160至約200 $\mu\text{g/週}$ 。在與利巴韋林之組合中，與約600-1200 mg/日，特定言之與800-1200 mg/日經口投與之利巴韋林一起投藥之聚乙二醇化干擾素 α -2b之標準劑量為約1.5 $\mu\text{g/kg/週}$ ，及聚乙二醇化干擾素 α -2a之標準劑量為約180 $\mu\text{g/週}$ 。

根據另一項實施例，聚乙二醇化干擾素 α -2b之投藥劑量如下：

- (a) 約0.5 $\mu\text{g/kg/週}$ 至約2 $\mu\text{g/kg/週}$ ；
- (b) 約1 $\mu\text{g/kg/週}$ 至約2 $\mu\text{g/kg/週}$ ；
- (c) 約1.5 $\mu\text{g/kg/週}$ 至約2 $\mu\text{g/kg/週}$ ；
- (d) 約1.5 $\mu\text{g/kg/週}$

根據另一項實施例，聚乙二醇化干擾素 α -2a之投藥劑量如下：

- (a) 約90至約200 $\mu\text{g/週}$ ；
- (b) 約160至約200 $\mu\text{g/週}$ ；
- (b) 約180 $\mu\text{g/週}$

本療法組合之第三種組分(亦即利巴韋林)係包括於醫藥組合物中。該等組合物通常包括利巴韋林及醫藥上可接受之佐劑或載劑，且係相關技術中所熟知者，其包括許多市售利巴韋林調配物。包括利巴韋林之調配物亦揭示於例如美國專利案4,211,771中。

可用於該組合之利巴韋林類型已於上文定義部份中列出。在一項較佳實施例中，利巴韋林為REBETOL®或COPEGUS®，且其係以用於治療HCV感染之干擾素加上利巴韋林之組合療法所指出之標示劑量投與。當然，採用本發明為三重組合療法時，可能使用較低劑量之利巴韋林，例如低於現行標準干擾素加上利巴韋林之療法所使用者，其中可達到與現行標準療法相同或更佳之效力，但通常與該療法相關之副作用卻減少。

根據多項實施例，利巴韋林之投藥劑量如下(單劑或分成小劑量)：

- (a) 400 mg/日至約1200 mg/日；
- (b) 約800 mg/日至約1200 mg/日；
- (c) 約1000 mg/日至約1200 mg/日；
- (d) 約1000 mg/日
- (e) 約1200 mg/日
- (f) 約300 mg/日至約800 mg/日
- (g) 約300 mg/日至約700 mg/日
- (h) 500 mg/日至約700 mg/日
- (i) 400 mg/日至約600 mg/日
- (j) 約400 mg/日
- (k) 約600 mg/日
- (l) 約800 mg/日

根據一項實施例，利巴韋林組合物包括呈調配物之利巴韋林，其適於每日一次、每日兩次、每日三次、每日四

次、每日五次、或每日六次投與。例如，若療法組合包括約1000 mg/日劑量之利巴韋林，且需要每日投與五次，則療法組合將包括呈調配物之利巴韋林，例如含有例如約200 mg利巴韋林之錠劑。

對於本發明之化合物(1)或其醫藥上可接受的鹽，加干擾素 α 加利巴韋林之三重組合療法，本發明涵蓋且包括上文所述之多種較佳實施例及亞實施例之所有組合。

例如，在一項實施例中，本發明涵蓋一種為患者治療C型肝炎病毒(HCV)感染或緩解其一或多種症狀之方法，其包括對患者投與療法組合之步驟，該療法組合包括：

- (a) 每日約48 mg至約480 mg劑量之化合物(1)或其治療上可接受的鹽；
- (b) 約160至約200 μg /週劑量之聚乙二醇化干擾素 α -2a，或約0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ /週至約2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ /週劑量之聚乙二醇化干擾素 α -2b；及
- (c) 約400 mg/日至約1200 mg/日劑量之利巴韋林。

在另一項實施例中，本發明涵蓋一種為患者治療C型肝炎病毒(HCV)感染或緩解其一或多種症狀之方法，其包括對患者投與療法組合之步驟，該療法組合包括：

- (a) 每日約48 mg至約480 mg劑量之化合物(1)或其治療上可接受的鹽；
- (b) 約180 μg /週劑量之聚乙二醇化干擾素 α -2a；及
- (c) 約1000 mg/日至約1200 mg/日劑量之利巴韋林。

在另一項實施例中，本發明涵蓋一種為患者治療C型肝炎

炎病毒(HCV)感染或緩解其一或多種症狀之方法，其包括對患者投與療法組合之步驟，該療法組合包括：

- (a) 每日約48 mg至約480 mg劑量之化合物(1)或其治療上可接受的鹽；
- (b) 約1.5 µg/kg/週劑量之聚乙二醇化干擾素α-2b；及
- (c) 約800 mg/日劑量之利巴韋林。

其他實施例包括上述實施例中任一例，且其中：

- (a) HCV感染為基因型-1，且患者為未曾接受過治療之患者；或
- (b) HCV感染為基因型-1，且患者為曾接受過治療，但對干擾素加利巴韋林之組合療法沒有反應之患者。

其他實施例包括上述實施例中任一例，且其中化合物(1)或其醫藥上可接受的鹽為每日投與一次，且干擾素α為每週投與一次及利巴韋林為每日投與兩次。

根據本發明之另一項實施例，本發明之治療療程包括對患者投與至少約4週，更佳至少約12週或至少約24週之：

- (i)每日一次之治療有效量之化合物(1)或其醫藥上可接受的鹽；
- (ii)每週一次之治療有效量之干擾素α；及
- (iii)每日兩次之治療上有效量之利巴韋林。

根據另一項實施例，本發明提供一種用於治療患者HCV感染之套組。本發明套組可包括本發明任一種療法組合。

該套組進一步包括指示該療法組合用法之說明書。可按各種類別或種類之患者的需要或按其他臨床相關因素(諸如年齡、體重、併發疾病/病症、HCV感染之嚴重性及階段、對先前治療有反應或沒有反應、副作用傾向、等)而調整套組。

根據另一項實施例，本發明提供一種套組，其包括：

- (a) 包括化合物(1)或其醫藥上可接受的鹽之第一種醫藥組合物；
- (b) 包括干擾素 α 之第二種醫藥組合物；
- (c) 包括利巴韋林之第三種醫藥組合物；及
- (d) 指示使用上述組合物用法之說明書。

另外，在以本發明涵蓋之組合療法治療期間，觀察到抑制HCV病毒抗性之令人驚奇的結果。在未曾接受過治療之所有劑量組中觀察到病毒感染量降低之大多數患者中，作為單一療法投與之化合物(1)(鈉鹽)在治療頭14天期間即導致快速的病毒感染量反彈。相反地，曾接受過治療的19名患者中，在接受28天與聚乙二醇化干擾素 $\alpha 2a$ 及利巴韋林(PegIFN/RBV)組合之每日一次(qd)48 mg(n=6)、120 mg(n=7)、或240 mg(n=6)劑量之化合物(1)(鈉鹽)時，僅在48 mg劑量組之2/6患者，及120 mg劑量組之1/7患者中觀察到病毒量反彈。請注意，在頭28天內，在曾接受過治療之劑量組中，接受每日一次之與PegIFN/RBV組合之240 mg化合物(1)(鈉鹽)治療時，未觀察到反彈。

因此，在其他實施例中，在本發明組合療法期間出現有

限的或不出現病毒抗性。在更特定實施例中，在本發明組合療法期間，可編碼HCV NS3蛋白酶且在R155及/或D168及/或A156之一或多處發生胺基酸取代之HCV變異株之出現受到限制或不出現。

其他實施例包括上述實施例中之任一例，且其中：

- (a) HCV感染為基因型-1a，且患者為未曾接受過治療之患者；或
- (b) HCV感染為基因型-1a，且患者為曾接受過治療且對干擾素加上利巴韋林之組合療法沒有反應之患者；

且其中在本發明組合療法期間，出現有限的或不出現可編碼NS3蛋白酶胺基酸R155處經取代的變異株。

其他實施例包括上述實施例中之任一例，且其中：

- (a) HCV感染為基因型-1b，且患者為未曾接受過治療之患者；或
- (b) HCV感染為基因型-1b，且患者為曾接受過治療且對干擾素加上利巴韋林之組合療法沒有反應之患者；

且其中，在本發明組合療法期間，出現有限的或不出現可編碼在NS3蛋白酶胺基酸D168處經取代的變異株。

實例

I. 製備化合物(1)之方法

製備非晶型化合物(1)之方法可於US 6,323,180 B1、及美國專利申請公開案第2005/0020503與2005/0267151號中

找到。下列實例1至5提供一種製備可用於本發明之其他形式之化合物(1)之方法。

實例1-製備A結晶型之化合物(1)

添加非晶型化合物(1)(批次7, 13.80 g)至1000 ml三頸燒瓶中。添加無水乙醇(248.9 g)至該燒瓶中。伴隨攪拌下, 以每小時攝氏60度加熱燒瓶之內容物至約攝氏74度。(固體在攝氏74度下不溶解)。隨後伴隨攪拌且保持攝氏74度之溫度, 連續4小時, 以線性方式連續添加水(257.4 g)至所得漿液中。在完成添加水後, 以每小時攝氏8度, 使溫度以線性方式連續降至室溫, 且隨後伴隨攪拌在室溫下放置6小時。藉由過濾, 收集所得固體, 並以50 ml之1/1(w/w)EtOH/水洗滌。由N₂抽吸通過濾餅, 使濕固體在漏斗上乾燥。(該樣本之XRPD分析說明其圖譜與EtOH溶劑類似)。隨後在真空(P=25, 以Hg表示)及攝氏65-70度下及氮氣氣流中, 乾燥固體1.5小時。藉由XRPD, 確定所得固體(12.6 g, 95.5%準確產率)係A型化合物(1)。

實例2-製備化合物(1)之鈉鹽-方法1

添加2.1 g非晶型化合物(1)之鈉鹽與8.9 g丙酮至小玻璃瓶中, 並在室溫下攪拌3小時。漿液經濾除母液, 且所得固體在20分鐘之氮氣氣流中乾燥20分鐘。收得1.51 g之化合物(1)鈉鹽晶體。

實例3-製備化合物(1)之鈉鹽-方法2

在250 ml反應器中添加15.6 g A型化合物(1)與175 ml丙酮及3.6 ml水, 並加熱至攝氏53度, 溶解固體。添加900

μl 之 10.0 N NaOH 至反應器，並在該溶液中接種 A 型晶種。在攝氏 53 度下攪拌已接晶種之溶液 10 分鐘。添加第二份 900 μl 之 10.0 N NaOH，並在攝氏 53 度下攪拌該系統 30 分鐘，經過該步驟形成漿液。以每小時攝氏 15 度之冷卻速率使漿液冷卻至攝氏 19 度，並在攝氏 19 度下放置一晚。過濾最終所得漿液，並以 15 ml 丙酮洗滌濕固體。在攝氏 52 度及真空下，在氮氣氣流中乾燥固體 1 小時，且隨後使固體暴露於實驗室空氣一小時。收集 12.1 g 化合物 (1) 晶型鈉鹽固體。

實例 4-製備化合物 (1) 之鈉鹽-方法 3

在反應器中添加 25.4 Kg 非晶型化合物 (1)、228 L THF 及 11.1 Kg 10 重量 % NaOH(aq)。在攝氏 25 度下混合該等組分，溶解所有固體。過濾所得溶液，並以 23 L THF 洗滌反應器與濾器。採用常壓蒸餾，在攝氏 65 度下移除 180 L 溶劑。添加 195 L MIBK，並藉由真空蒸餾，在約攝氏 44 度下移除 166 L 溶劑。再次添加 161 L MIBK 與 0.41 Kg 水至反應器，且加熱該內容物至攝氏 70 度。在攝氏 70 度下，添加 255 g 化合物 (1) 鈉鹽晶種，並以 1.5 小時時間添加 1.42 L 水。在添加水後，漿液置於攝氏 70 度下 45 分鐘，且在隨後 1 小時，使其冷卻至攝氏 45 度。過濾所得漿液，並以 64 L 含約 0.8 重量 % 水之 MIBK 洗滌。濕濾餅在攝氏 55 度下乾燥，產生約 25 Kg 之化合物 (1) 鈉鹽晶體。

實例 5-製備化合物 (1) 之鈉鹽-方法 4

在反應器中添加 2.00 g 非晶型化合物 (1)、9.96 g THF 及

0.11 g水，並在周溫下攪拌，直至固體溶解。伴隨攪拌該溶液，逐滴添加0.820 ml之21重量% NaOEt之乙醇溶液，得到A溶液。在第二反應器中添加15.9 g之n-BuAc與160 μ l水，並加熱至攝氏65度(B溶液)。在攝氏65度下添加2.56 g A溶液至B溶液，且在所得混合物中接種40 mg化合物(1)鈉鹽晶種。在攝氏65度下，靜置經接晶種之混合物45分鐘。分四次添加2.56 g之B溶液至A溶液，且每次隨後靜置45分鐘。在最後一次添加並靜置後，在1小時內，使漿液冷卻至攝氏50度並過濾。以6 ml含0.5重量%水之n-BuAc洗滌濕濾餅。利用氮氣沖刷，在真空與攝氏50度下乾燥所得固體。收得化合物(1)晶型鈉鹽固體。

II. 臨床結果

下文所述之臨床試驗中，投與之藥物產品為化合物(1)鈉鹽之口服液。化合物(1)鈉鹽係呈粉末提供給一或多個臨床點，以利用共同提供之溶劑製成口服液。該溶劑亦作為安慰劑。

實例6-未曾接受過治療之患者之臨床試驗

呈單一療法及與聚乙二醇化干擾素 α 2a(P)與利巴韋林(R)組合提供之化合物(1)鈉鹽(一種新穎之HCV NS3蛋白酶抑制劑)對罹患慢性基因型-1 C型肝炎病毒感染之未曾接受過治療的患者的安全性及抗病毒活性。

背景：化合物(1)鈉鹽為HCV NS3蛋白酶抑制劑(EC50為3-6 nM)。由多組上升劑量研究法(a multiple rising dose study)評估對罹患慢性基因型-1 HCV感染且未曾接受過治

療之患者(pts)之安全性與抗病毒活性，其係作為單一療法投與14天，隨後以與P+R之三重組合療法再投與14天。

方法：將34名(法國、德國、西班牙、美國)Metavir纖維化評分為0至3且未經任何干擾素或R療法治療之患者隨機分配(2位安慰劑：6或7位活性成份)至四個每日一次(qd)化合物(1)鈉鹽之劑量組：20 mg(n=8)、48 mg(n=9)、120 mg(n=9)、或240 mg(n=8)。化合物(1)鈉鹽係作為單一療法提供14天。對第10天之病毒感染量(VL)降幅 $<1 \log_{10}$ 之患者，在第14天後停止提供化合物(1)鈉鹽。對第10天之VL降幅 $\geq 1 \log_{10}$ 之患者，在第15天繼續提供化合物(1)鈉鹽，並增加P(180 $\mu\text{g}/\text{週}$)+R(以體重為基準計)，以形成三重組合療法，直到第28天。主要終點為直到第14天，VL降幅 $\geq 2 \log_{10}$ 時之任何時間點。以Roche COBAS® TaqMan® 分析法(LLoQ 25 IU/mL)測定血漿HCV-RNA濃度。在第28天後，由研究者判斷患者是否繼續接受標準護理治療，亦即P+R。

結果：33名患者為白人，1名為亞洲人，27名為男性，平均年齡 $=48.9 \pm 11.1$ 歲，平均體重為 79.1 ± 17.5 kg，且基線VL中間值(範圍)為6.8 (4.7-7.7) $\log_{10}$ 。在劑量組之間不存在顯著人口統計學差異。化合物(1)鈉鹽之耐受性良好。單一療法期間，無患者因不良反應(AE)而中斷治療。觀察到的AE通常係針對P+R。在開始P+R 6天後，20 mg劑量組中有一位出現嚴重AE，即虛弱無力。所有患者中均觀察VL快速降低，且最大降幅通常出現在開始化合物(1)鈉鹽後2-

4天。除了20 mg組中之一名患者外，化合物(1)鈉鹽之所有患者均在單一療法期間達到 $> 2 \log_{10}$ 之VL降幅。對於20 mg、48 mg、120 mg、及240 mg組，14天單一療法期間之VL最大降幅中間值(範圍)分別為3.0(1.5-3.9)、3.6(3.1-3.8)、3.7(3.3-4.1)、及4.2(3.6-4.8) $\log_{10}$ IU/ml。安慰劑之VL無顯著變化。在單一療法之頭14天，所有劑量組之大多數患者均在治療期間觀察到VL反彈。

結論：作為單一療法投與14天且隨後與P+R組合再投與14天之化合物(1)鈉鹽之耐受性良好，且在未曾接受過治療之患者中誘發強力且快速的抗病毒效應。

圖1說明本研究法中四個患者劑量組之HCV病毒感染量的平均變化，亦即由罹患慢性基因型-1 HCV感染且未曾接受過治療之患者接受以化合物(1)鈉鹽作為單一療法投與14天，隨後以化合物(1)鈉鹽、聚乙二醇化干擾素 α -2a及利巴韋林之組合療法再投與14天治療。在該圖示中，病毒感染量之變化係以IU/ml $\log_{10}$ 個單位表示，且四個患者劑量組係標示如下：

「20 naiv av」=20 mg劑量組之平均病毒感染量變化

「48 naiv av」=48 mg劑量組之平均病毒感染量變化

「120 naiv av」=120 mg劑量組之平均病毒感染量變化

「240 naiv av」=240 mg劑量組之平均病毒感染量變化

治療未曾接受過治療患者期間之變異株之出現

在基線及治療期間反彈時之NS3/4A蛋白酶族群之定序顯示，可選拔出導致活體外化合物(1)鈉鹽抗性之變異株。

在治療劑量組之治療期間，觀察到相對於原型參考物(即基因型-1a：AF009606或亞基因型-1b：AJ238799)，在NS3蛋白質結構域內關鍵殘基上有顯著變化。詳細內容請參見下表1至4。在所有表格中，GI表示HCV亞基因型，及第一天表示其線序列且所指出之胺基酸取代則出現在自然發生之NS3多型之關鍵殘基上。可在治療期間之不同日子觀察到可能編碼藥物抗性之與藥物抗性相關之其他變化。

表1 獲自未曾接受過治療之20 mg劑量組患者之基於族群之胺基酸序列中，關鍵殘基上之主要變異(相對於原型參考物)

患者	GI	治療天數					
		1	6	14	28	56	168
20N1	1b	I71V + Q86P	I71V + Q86P	I71V + Q86P	ND	ND	ND
20N2	1b	無	BLD	D168V	R155[K,Q,R] + D168[D,V]	R155[K,Q,R] + D168[D,V]	BLD
20N3*	1b	Q86A + V1170I	Q86A + V1170I	Q86A + V1170I	BLD	BLD	BLD
20N4	1a	無	V1170[L]	R155K	R155K	R155K	BLD
20N5	1b	Q80L +	Q80L + D168	Q80L + D168 + D168G	BLD	BLD	BLD
20N6	1a	無	無	無	ND	ND	ND
20N7	1a	無	R155K	R155K	R155K	R155K	R155K
20N8	1a	無	R155[R,K]	R155K	R155K	R155K	BLD

ND = 在關鍵殘基位置未觀察到取代

BLD = 基於PCR擴增之序列長度

*GI = 1b/1a

*在序列中V1170L變異未顯示

表 2 未序接受過治療之 48 mg 劑量組患者之基於族群之氨基酸序列中，關鍵殘基上之主要變異 (相對給亞型參考的)

患者	Gt	治療天數		
		1	14	28
48N1	1a	I54[L.S]	I54[L.S]	ND
48N2	1b	I71V + Q86P	I71V + Q86P + I70[L.V]	ND
48N3	1b	P89S	P89S + D168V	P89S + D168V
48N4	1b	I71V	I71V + D168V	I54[L.A] + I71V + D168V
48N5	1a	無	R155K	R155K
48N6	1b	無	D168[L.L.A.V]	D168[L.L.A.V]
48N7	1b	無	BI D	BI D
48N8	1a	Q80K	Q80K + R155K	BI D
48N9	1b	I71V + Q80[Q.R]	I71V + Q80[Q.R] + R155[R.W] + D168[D.A]	ND

無：在所述位置未記錄到變異

BI D：低俗突變比例受限

ND：未檢測

表 3 獲自未曾接受過治療之 120 mg 劑量組患者之基於族群之胺基酸序列中，關鍵胺基上之主要變異 (相對於曲那參考物)

患者	Gr	治療天數			
		1	14	28	84
120N1	1a	Q80K	Q80K	ND	ND
120N2	1	D168D E	D168D F	ND	ND
120N3	1a	無	R155K	BLD	BLD
120N4	1a	Q80K	BLD	ND	ND
120N5	1b	無	D168V	BLD	BLD
120N6	1b	P89I	P89I + D168V	P89I + D168V	P89I + D168V
120N7	1a	無	R155K	BLD	BLD
120N8	1b	無	D168V	D168V	BLD
120N9	1b	Q80P	Q80P + A156[L.A] + D168[D.V]	Q80P + D168[D.L] A.V]	Q80P + R155K

無：在該位置無氨基酸被检测到

BLD：基於定序讀取之結果

ND：未檢測到

表4 源自未曾接受過治療之240 mg劑量組患者之基於族群之胺基酸序列中，關鍵殘基上之主要變異(相對於亞型參考物)

患者	Gr	治療天數			
		1	14	28	84
240N1	1b	Q80L, Q86P	Q80L, Q86P	ND	ND
240N2	1b	無	無	ND	ND
240N3	1a	V36I/A ₁ , Q89K	V36I, Q89K, R155K	ND	V36I, Q89K, R155K
240N4	1b	無	BLD	BLD	BLD
240N5	1b	P89A	P89A, D168V	P89A, D168V	BLD
240N6	1	無	D168V	D168V	BLD
240N7	1b	無	D168V	BLD	BLD
240N8	1a	Q89P	BLD	BLD	BLD

無：在整個療程並未觀察到取代

BLD：低於PCR檢測及定序檢測之限值

ND：未檢測

實例7-對曾接受過治療之患者之臨床研究

與聚乙二醇化干擾素α-2a(P)及利巴韋林(R)之組合療法一起投與28天之化合物(1)試驗(一種研製之HCV NS3蛋白抑制劑)對曾患慢性基因型-1 C型肝炎病毒血症而曾接受過P+R治療之患者的安全性及抗病毒活性。

注意：化合物(1)試驗為HCV NS3蛋白抑制劑，其EC50為

3-6 nM)。由多組上升劑量研究法評估對罹患慢性基因型-1 C型感染且接受過P+R治療之患者(pts)接受與P+R之組合療法投與28後天之安全性與抗病毒活性。

方法：指定19名(法國、德國、西班牙、美國)Metavir纖維化評分為0至3且過去曾接受過P+R組合療法，但病毒治療失敗之患者接受28天與P(180 μ g/週)+R(以體重為基準計)組合之每日一次(qd)48 mg(n=6)、120 mg(n=7)、或240 mg(n=6)劑量之化合物(1)鈉鹽。對所有的患者追蹤研究藥物之安全性與可耐受性。主要終點為直到第28天之HCV病毒感染量(VL)自基線降低 $\geq 2 \log_{10}$ 時之任何時間點。利用Roche COBAS® TaqMan®分析法(LLOQ 25 IU/mL)測定血漿HCV-RNA濃度。在本研究中之曾接受過治療之患者包括P+R無反應者與部份反應者。28天後，由研究者判斷患者是否繼續接受標準護理治療，亦即P+R。

結果：19名患者為白人、11名為男性、平均年齡為 48 ± 9 歲，平均體重為 81 ± 15 kg，且基線VL中間值(範圍)為 $6.9(5.9-7.4) \log_{10}$ 。在劑量組之間不存在顯著的人口統計學差異。化合物(1)鈉鹽之耐受性良好，且在本研究患者中未觀察到嚴重或重性不良反應(AE)。AE為P+E之典型反應。一名受檢者因AE(焦慮)而中斷治療。在所有患者中均觀察到VL隨劑量快速降低。所有接受化合物(1)鈉鹽+P+R之患者均因三重組合療法而使VL降低 $> 2 \log_{10}$ 。對於48 mg、120 mg、及240 mg劑量組，28天組合療法期間之VL最大降幅中間值(範圍)分別為 $4.8(3.4-5.9)$ 、 $5.2(3.9-6.0)$ 、及

5.3(4.8-6.1) $\log_{10}$ IU/ml。在投與化合物(1)鈉鹽+P+R之頭28天期間，在2/6之48 mg劑量組患者及1/7之120 mg劑量組患者中觀察到治療期間之病毒量反彈。在該等患者中，對治療期間基線時及病毒反彈時之NS3/4A蛋白酶族群定序顯示，可選拔出在NS3蛋白酶域出現化合物(1)鈉鹽活體外抗性之變異株。120 mg劑量組中有一名患者未顯示病毒反彈，但直至第28天仍保持約500個複本IU/ml VL並編碼R155K突變株；該病毒感染量樣本係低於吾人之表型抗性分析之檢測下限。

在240 mg每日一次劑量組中，未在28天BI 201335治療期間觀察到反彈：在第28天，5/6患者之VL < 25 IU/mL。在第28天，第六名患者之VL離基線下降4.7 $\log_{10}$ ，且在下次門診(第42天)時之VL為< 25 IU/ml。

結論：在與P+R之組合療法中之每日一次，投與28天之化合物(1)鈉鹽之耐受性良好，且在曾接受過治療之患者中誘發強力且快速之抗病毒效應。

圖2說明本研究法三個患者劑量組中之HCV病毒感染量之平均變化，亦即接受28天以化合物(1)鈉鹽、聚乙二醇化干擾素 α -2a與利巴韋林形成組合療法治療之罹患慢性基因型-1 HCV感染且曾接受過治療之患者。在該圖示中，病毒感染量之變化係以IU/ml $\log_{10}$ 個單位表示，且四個患者劑量組標記如下：

「48 NR av」=48 mg劑量組之平均病毒感染量變化

「120 NR av」=120 mg劑量組之平均病毒感染量變化

240 mg QD 及 240 mg 劑量組之平均病毒載量降低
與本研究法中患者之病毒反應(病毒載量降低)相關之
其他參數顯示於下表(此處 QD 一天一次，且 QD 每日一次；
N 患者數量；定量下限 意指每 ml 血清中少於 25
IU)

1220. 接受過治療患者之病毒學應答

	48 mg QD N=6	120 mg QD N=7	240 mg QD N=6
第 1 天之前 大降低(*log10)	4.4 (3.4-4.9)	4.5 (3.6-5.2)	4.8 (4.2-5.1)
第 6 天之平均 降低(*log10)	3.8	4.0	4.2
第 14 天之平均 降低(*log10)	4.1	4.3	4.8
在第 28 天低於 定量限	3 (50%)	4 (57%)	5 (83%)

治療曾接受過治療患者期間之變異株之出現
在多個劑量組之治療期間，相對於亞型參考物(亞型
1a：AF009606或亞型 1b：AJ238799)，在 NS3 蛋白酶域內
之關鍵殘基上出現顯著變化。詳細情況請參見下表 1 至 4。
在所有表格中，Gt 代表 HCV 亞基因型，且第一天代表基線
序列，且所指出之氨基酸取代係出現在自然發生之 NS3 多
型之關鍵殘基上。在治療期間之不同日子觀察到其他可能
編碼藥物抗性或與藥物抗性相關之其他變化。

表 5 自曾接受過治療之 48 mg 劑量組之基於族群之胺基酸序列中，關鍵殘基上之主要變異 (相對於亞型參考物)

患者	Gt	治療天數			
		1	14	28	168
48H11	1a	Q80K	Q80K	Q80K, R155K	Q80K, R155K
48H12	1a	Q84I	BLD	BLD	BLD
48H13	1a	Q86R	BLD	BLD	BLD
48H14	1b	無	D168V	D168V	R155P, K170Q
48H15	1b	Q86	BLD	BLD	BLD
48H16	1b	Q86	BLD	BLD	Q86P, R155K

無：在該位置未觀察到取訊

BLD：低於 PCR 擴增與定序之檢測限值

表 6 曾接受過治療之 120 mg 劑量組之基於族群之胺基酸序列中，關鍵殘基上之主要變異 (相對於亞型參考物)

患者	Gt	治療天數		
		1	14	28
120H11	1a	Q80K	Q80K, R155K	Q80K, R155K
120H12	1a	Q89Y	BLD	BLD
120H13	1b	Q86P, P89S	BLD	BLD
120H14	1b	Q86A	BLD	BLD
120H15	1b	P89P, S177	BLD	BLD
120H16	1a	無	BLD	BLD
120H17	1a	無	R155K	R155K

無：在該位置未觀察到取訊

BLD：低於 PCR 擴增與定序之檢測限值

1 在 1 患者 (120H14) 中發現 Q86A 變異

表 1 未曾接受過治療之 240 mg 劑量組之基質序列之胺基酸序列中，關鍵殘基上之主要變異 (相對於重組參考物)

患者	Gr	治療天數	
		1	28
24011-1	1a	無	BLD
24011-2	1a	無	BLD
24011-3	1a	無	BLD
24011-4	1b	無	BLD
24011-5	1b	Q86P	BLD
24011-6	1a	無	BLD

無：在所述位置未觀察到取代物

BLD：未於 PCR 擴增與定序之樣品中

總體評定

該等結果證實未曾接受過治療患者接受 14 日作為單一療法每日一次投與之化合物 (1) 鈉鹽治療時的強力且非常快速之抗病毒效應，在進行 5 至 6 天之單一療法後，該後序效應為抗病毒抗性形成，且病毒反染量增加。然而在第 14 天開始本發明三重組合療法 (化合物 (1) 鈉鹽，與聚乙二醇化干擾素 α 2a 及利巴韋林) 時，病毒反染量逐步下降，此證實本發明三重組合療法對未曾接受過治療患者之抗病毒效應 (參見圖 6)。

當對曾接受過治療患者 (對於接受索加利巴韋林無反應者與部份反應者) 每日一次投與 28 天之與聚乙二醇化干擾素 α

2a及利巴韋林組合之化合物(1)鈉鹽時，其結果證實相同的強力且非常快速的抗病毒效應，但抗性形成減少。參見圖示2。吾人本來預期第五天後，在該等曾接受過治療但沒反應之患者中應出現類似的病毒抗性，因為所選擇的該等患者係對聚乙二醇化干擾素加利巴韋林療法沒有反應。然而，病毒抑制作用仍繼續發生。

簡言之，已顯示本發明之三重組合療法可有效降低罹患慢性基因型-1C型肝炎病毒感染的未曾接受過治療與曾接受過治療之患者的病毒感染量，且至少在一些患者中，使其保持在低於可檢測濃度，該濃度之定義為：根據WHO國際標準之定量、多循環逆轉錄酶PCR技術所測，每毫升患者血清中低於50個國際單位。在較佳實施例中，本發明之三重組合療法可有效使HCV基因型-1感染患者之病毒感染量降低至低於每毫升血清10個國際單位。

非常令人驚奇的結果包括：

(1) 相較於未曾接受過治療患者(其中出現病毒抗性者)僅接受相同劑量之化合物(1)鈉鹽之效應(參見圖示1之頭14天)，曾接受過治療患者在接受標準劑量之與聚乙二醇化干擾素 α 2a及利巴韋林組合之化合物(1)鈉鹽治療時，未在早期形成抗性(例如：在編碼NS3之胺基酸R155及/或D168上出現取代之變異株)(圖示2)。吾人本來預期在第五天後，在甚至已添加聚乙二醇化干擾素 α 2a及利巴韋林之情況下，曾接受過治療患者仍將出現類似的病毒抗性，因為所選出的該等患者對先前的聚乙二醇化干擾素加利巴韋林

之組合療法沒有反應；及

(2) 與聚乙二醇化干擾素及利巴韋林組合之僅120 mg QD(每日一次)之劑量使超過50%之曾接受過治療患者中，誘發病毒減少至低於定量濃度(其定義為每毫升血清低於25 IU)，該等患者先前對聚乙二醇化干擾素加利巴韋林療法沒有反應(參見表格)。

實例8-鑒定HCV NS3變異株之方法

病毒RNA提取法及PCR擴增法

自HCV感染之受檢者血漿中分離出病毒RNA，且利用Superscript™ III單步驟RT-PCR系統(Invitrogen)及兩個橫跨NS2之3276與NS4B之5650位點的基因特異性引子首先合成含有完整NS3-NS4A區域之2.4 kbp之DNA片段。在純化首次PCR產物後，利用KOD Hot Start DNA聚合酶(Novagen)產生2.3或0.7 kpb(分別橫跨整個NS3/NS4A或僅NS3蛋白酶域)之兩種不同的第二輪、半巢式PCR產物。RT-PCR擴增方法之偵測限度使該分析限定至VL約為1000 IU/ml之患者樣本。

序列分析

隨後使用2.3 kbp之DNA產物，採用Big Dye® Terminator V3.1(Applied Biosystems)及ABI Prism® 3130XL Genetic Analyzer (Applied Biosystems)，對整個NS3-NS4A 2055 nt區域直接進行基於族群之定序法。利用10個引子獲得序列，以達到涵蓋NS3-NS4A區域之至少90%雙股。以SeqScape® v2.5(Applied Biosystems)分析所得核苷酸序

列。

使用 0.7 kbp DNA 片段產生涵蓋 NS3 第一段 181 aa 之 543 nt NS3 蛋白酶區域之基於選殖 (Invitrogen 之 ZeroBlunt® TOPO® Cloning Kit) 之序列；對於每個樣本挑出 96 個純系，並利用通用引子與 ABI Prism® Big Dye™ Terminator Cycle PCR 定序。每一純系進行兩遍單一次定序，利用 Mutation Surveyor™ v3.0 (Softgenetics LLC) 進行分析，得到涵蓋 543 nt 區域之 90-100% 雙股。每一患者樣本中，彼等具有低品質序列或含有缺失、插入或終止密碼子之純系並不包括於進一步分析，其使得受分析之純系數量在 74 至 89 之間不等 (中間值及平均值為 80 個純系)。

由所得序列與根據其各亞型先前在試驗篩選期間利用 Truegene™ HCV 5'NC 基因型分析法所確定之參考序列比較。以 AF009606 作為 1a 亞型之參考物且以 AJ238799 作為 1b 亞型之參考物。特別關注導致 NS3 蛋白酶域中 15 個位點發生胺基酸取代之突變。過去曾有報告指出該等位點有潛力產生對本組化合物之抗性。該等位點為：36、41、54、71、80、86、89、109、111、155、156、168、170、176 及 178 (參考：[1.] Tong X, Bogen S, Chase R, Girjavallabhan V, Guo Z, Njoroge FG, Prongay A, Saksena A, Skelton A, Xia E, Ralston R. Characterization of resistance mutations against HCV ketoamide protease inhibitors. Antiviral Res. 2008 March 77(3):177-185 [2.] Lagacé L, Marquis M, Bousquet C, Do F, Gingras R, Lamarre D, Lamarre L,

Maurice R, Pause A, Pellerin C, Spickler C, Thieault D, 及 Kukolj G. BILN 2061 and beyond: pre-clinical evaluation of HCV subgenomic replicon resistance to a NS3 protease inhibitor. In Framing the Knowledge of Therapeutics for Viral Hepatitis. RF Schinazi and ER Schiff (eds).P263-278 IHL press, 2006 [3.]Koev G, Kati W. The emerging field of drug resistance. Expert Opinion Invest Drugs 17(3), 303-319, 2008 (P08-03895)。

藥物敏感性評估

修飾包括螢光素酶報導子基因與經馴化之 Con-1 NS3/NS5B 區域之雙順反子 HCV 複製子穿梭載體 (pIT2)，產生在 NS3 密碼子 11 與 225 上之兩個獨特限制酶切割位點 (*Mlu* I 與 *Spe* I)，因此可插入分離自 HCV 感染患者血漿樣本中之相容 NS3 擴增子。使用自患者血漿之經純化 RNA (亦用於產生供基於族群及基於純系定序之片段) 合成之首輪 PCR 產物來擴增具有引子對之 0.65 kbp 片段，該等引子對分別含有供插進該穿梭載體之獨特的 *Mlu* I 與 *Spe* I 限制酶切割位點。由擴增子黏接入 pIT2 穿梭載體，並使用重組質體 DNA 產生 HCV 亞基因組複製子 RNA 轉錄本 (Promega 之 T7 Ribomax™ 套組)。隨後藉由電穿孔法，使該活體外轉錄之 RNA 暫時轉染進入 Huh-7.5 細胞，隨後在 96 孔平板上培養細胞 24 小時，並以一定濃度範圍之化合物 (1) 鈉鹽 (或 IFN- α) 處理 72 小時。在培養終點，在培養平板每一孔內利用 Bright-Glo™ 作為發光定量受質 (CPS)，測定螢光素酶活性，以反

映HCV RNA之複製數量。以下列公式計算含有抑制劑之每一孔中之抑制程度(抑制%)：抑制% = $100 - [100 \times \text{CPS(抑制劑)}/\text{CPS(對照組)}]$ 。藉由SAS之非線性迴歸路徑NLIN流程決定產生抑制50% HCV RNA複製(EC_{50})時之濃度。由突變株NS3之 EC_{50} 與基線 EC_{50} 比較，並用於產生倍數變化。

治療中病毒反彈樣本中之主要基因型-1a抗性突變係編碼R155K取代，且藉由純系序列分析，在該位點測得其他次要變異。R155K變異導致對BI 201335之敏感度降低，其 EC_{50} 值範圍為1.8-6.5 μM 。基因型-1b病毒主要編碼D168上之變異，其主要取代物為纈胺酸，且藉由敏感性純系定序法測得其他次要變異。D168變異之 EC_{50} 值範圍為3.6-15 μM 。該型態可部份歸因於在基因型-1a(單個核苷酸轉變密碼子成為離胺酸)與基因型-1b(需要兩個核苷酸取代來編碼成離胺酸之變異)中R155密碼子對抗性之不同突變阻礙。

【圖式簡單說明】

圖1說明四位患者劑量組之罹患慢性基因型-1 HCV感染且未曾接受過治療之患者中之HCV病毒感染量之平均變化，患者接受14天之作為單一療法之化合物(1)鈉鹽，以及隨後另14天之化合物(1)鈉鹽、聚乙二醇化干擾素 α -2a與利巴韋林之組合療法的治療。

圖2說明三位患者劑量組之罹患慢性基因型-1 HCV感染且曾接受過治療之患者中之HCV病毒感染量之平均變化，患者接受28天之作為組合療法之化合物(1)鈉鹽、聚乙二醇化干擾素 α -2a與利巴韋林的治療。

公告本

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號： 98131293

※申請日： 98.9.16

※IPC 分類：A61K^{31/4709} 2006.01

一、發明名稱：(中文/英文)

用於治療HCV感染之組合療法

C01D417/14

A61P^{31/14}

2006.01

2006.01

COMBINATION THERAPY FOR TREATING HCV INFECTION

二、中文發明摘要：

本發明係關於一種療法組合，其包括(a)如文中所述之化合物(1)，或其醫藥上可接受的鹽、(b)干擾素 α 及(c)利巴韋林(ribavirin)。該化合物(1)為一種HCV NS3絲胺酸蛋白酶之強力的選擇性抑制劑。本發明亦關於一種使用該等治療組合為患者治療HCV感染或緩解其一種或多種症狀之方法。

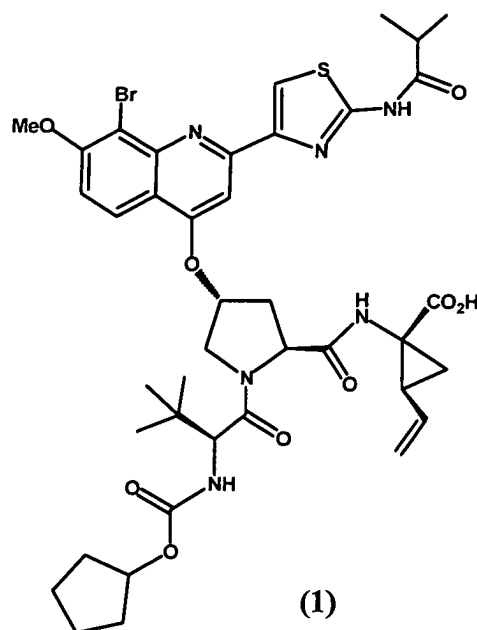
三、英文發明摘要：

The present invention relates to therapeutic combinations comprising (a) Compound (1), or a pharmaceutically acceptable salt thereof, as herein described, (b) an interferon alfa and (c) ribavirin. Compound (1) is a selective and potent inhibitor of the HCV NS3 serine protease. The present invention also relates to methods of using such therapeutic combinations for treating HCV infection or alleviating one or more symptoms thereof in a patient.

七、申請專利範圍：

1. 一種治療患者之C型肝炎病毒(HCV)感染或緩解其一種或多種症狀之療法組合，其包括：

(a)一種下式(1)化合物(1)或其醫藥上可接受的鹽：



(b)干擾素 α ；及

(c)利巴韋林(ribavirin)。

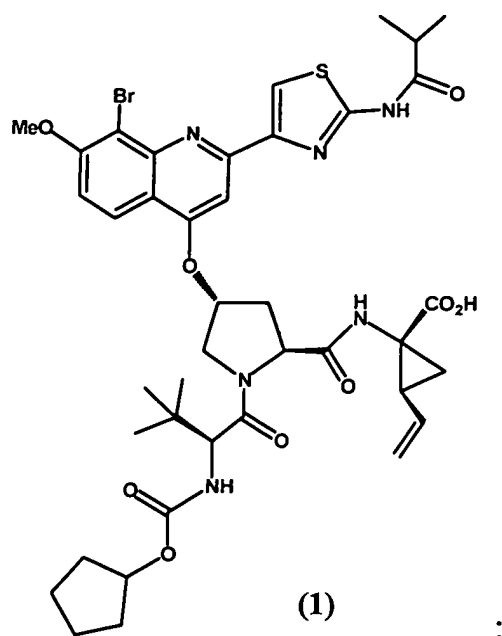
2. 如請求項1之組合，其中該HCV感染為基因型-1。
3. 如請求項1之組合，其中該患者為未曾接受過治療的患者。
4. 如請求項1之組合，其中該患者對使用利巴韋林及干擾素 α 之組合療法沒有產生反應。
5. 如請求項1之組合，其中該患者因接受治療而使HCV-RNA濃度降至低於可檢測濃度。
6. 如請求項1之組合，其投與至少4個星期。
7. 如請求項1之組合，其用於投藥，以提供每日至少40 mg

劑量之通式(1)化合物或其醫藥上可接受的鹽。

8. 如請求項1之組合，其用於投藥，以提供選自400 mg/日、600 mg/日、800 mg/日、1000 mg/日、及1200 mg/日劑量之利巴韋林。
9. 如請求項1之組合，其用於投藥，以提供每週一次之干擾素 α 。
10. 如請求項1之組合，其中該干擾素 α 為聚乙二醇化干擾素 α 。
11. 如請求項10之組合，其中該聚乙二醇化干擾素 α 為以約90至約200 μg /週之劑量投與之聚乙二醇化干擾素 α -2a，或為以約0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ /週至約2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ /週之劑量投與之聚乙二醇化干擾素 α -2b。
12. 如請求項1之組合，其用於投藥，以提供每日約48 mg至每日約240 mg劑量之通式(1)化合物或其醫藥上可接受的鹽，其中該HCV感染為基因型-1，該患者對使用利巴韋林與干擾素之組合療法沒有反應，且該干擾素 α 為聚乙二醇化干擾素 α -2a或聚乙二醇化干擾素 α -2b。
13. 如請求項1之組合，其用於投藥，以提供每日一次之通式(1)化合物或其醫藥上可接受的鹽；每日兩次之利巴韋林；及每週一次之干擾素 α 。
14. 如請求項1之組合，其用於投藥，以限制或不引起HCV變異株出現，該等HCV變異株編碼的HCV NS3蛋白酶在R155、D168、或A156中一或多個位點處出現胺基酸取代。

15. 一種套組，其包括：

(a) 第一醫藥調配物，其包括下列通式(1)化合物或其醫藥上可接受的鹽：



(b) 包括干擾素 α 之第二醫藥調配物；及

(c) 包括利巴韋林之第三醫藥組合物。

八、圖式：

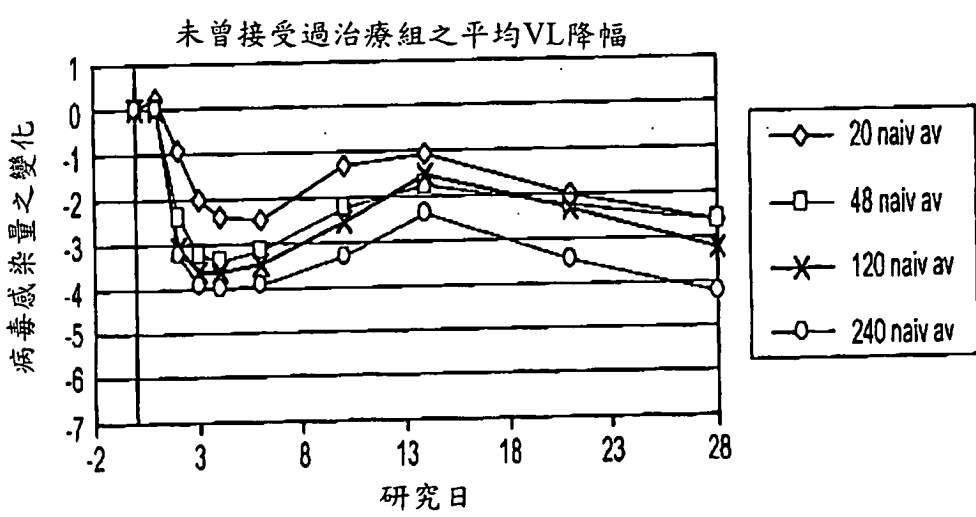


圖 1

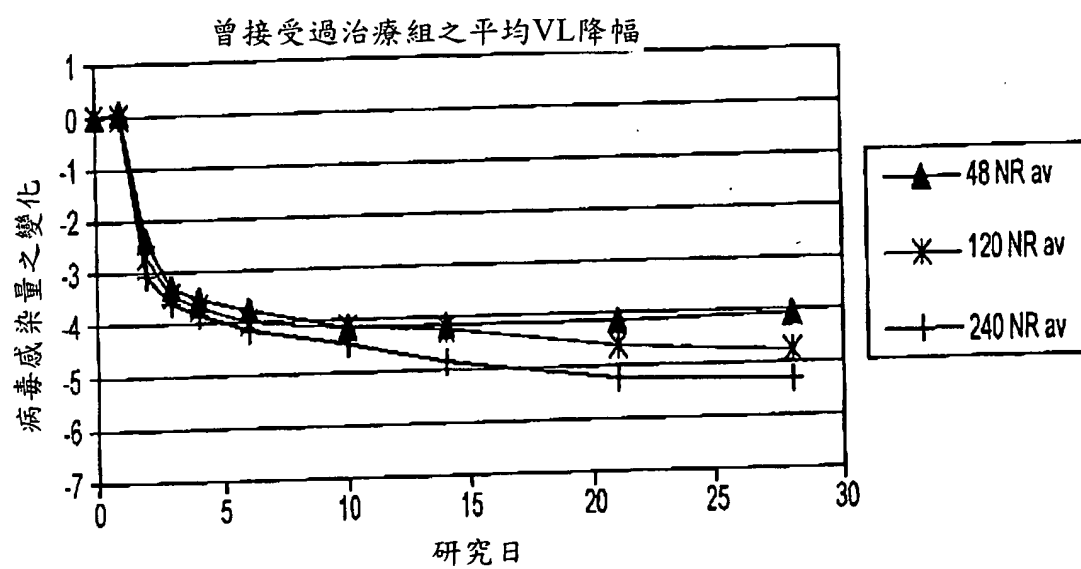


圖 2

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 (1) 圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

