



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0029577
(43) 공개일자 2017년03월15일

- | | |
|---|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 <i>A61K 31/7088</i> (2006.01) <i>A61K 31/522</i> (2006.01)
 <i>A61K 31/675</i> (2006.01) <i>A61K 31/683</i> (2006.01)
 <i>A61K 31/7125</i> (2006.01) <i>A61K 45/06</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
 <i>A61K 31/7088</i> (2013.01)
 <i>A61K 31/522</i> (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2017-7003538</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2015년07월07일
 심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2017년02월08일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/CA2015/050626</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2016/004525
 국제공개일자 2016년01월14일</p> <p>(30) 우선권주장
 62/022,846 2014년07월10일 미국(US)
 62/091,943 2014년12월15일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인
 레플리코르 인코포레이티드
 캐나다 에이치4피 2알2 퀘벡 몬트리올 스위트
 다-101 로얄마운트 애비뉴 6100</p> <p>(72) 발명자
 베일런트 앤드류
 캐나다 에이치8와이 3이6 퀘벡 록스보로 일레븐스
 스트리트 74</p> <p>(74) 대리인
 유미특허법인</p> |
|---|--|

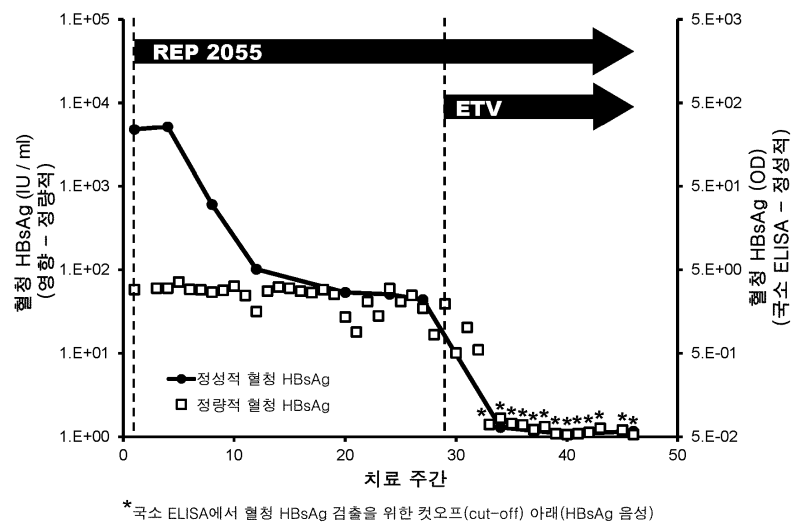
전체 청구항 수 : 총 38 항

(54) 발명의 명칭 B형 간염 및 D형 간염 바이러스 감염의 치료 방법

(57) 요약

B형 간염 바이러스 감염 또는 B형 간염 바이러스/간염 델타 바이러스 동시-감염을 치료하기 위한 방법으로서, 적어도 1종의 포스포로티오에이트화된 핵산 폴리머를 포함하는 제1 약제학적으로 허용가능한 제제 및 적어도 1종의 뉴클레오사이드/뉴클레오타이드 유사체 HBV 폴리머라제 저해제를 포함하는 제2 약제학적으로 허용가능한 제제를 상기 치료를 필요로 하는 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 방법이 개시되어 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 31/675 (2013.01)

A61K 31/683 (2013.01)

A61K 31/7125 (2013.01)

A61K 45/06 (2013.01)

A61K 2300/00 (2013.01)

Y10S 514/894 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

적어도 1종의 포스포로티오에이트화된 핵산 폴리머의 킬레이트 착물을 포함하는 제1 약제학적으로 허용가능한 제제, 및

적어도 1종의 뉴클레오사이드/뉴클레오타이드 유사체 HBV 폴리머라제 저해제를 포함하는 제2 약제학적으로 허용가능한 제제를 포함하고,

대상체에서 HBV 감염 또는 HBV/HDV 동시-감염을 치료하기 위한, 조성물.

청구항 2

서열번호 2;

서열번호 10;

서열번호 13;

서열번호 1, 3 내지 9, 11, 12 및 14 내지 20;

서열 AC의 반복을 포함하는 20 내지 120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고뉴클레오타이드;

서열 CA의 반복을 포함하는 20 내지 120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고뉴클레오타이드;

서열 TG의 반복을 포함하는 20 내지 120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고뉴클레오타이드; 및

서열 GT의 반복을 포함하는 20 내지 120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고 뉴클레오타이드로부터 선택된 하나 이상의 핵산 폴리머의 킬레이트 착물을 포함하는 제1 약제학적으로 허용가능한 제제; 및
라미부딘;

아데포비르 디피복실;

엔테카비르;

텔비부딘;

테노포비르 디소프록실 푸마레이트;

엔트리시타빈;

클레부딘;

베시포비르;

테노포비르 알라페나미드 푸마레이트;

AGX-1009;

엘부시타빈;

라고시클로비르 발락테이트;

프라데포비르 메실레이트;

발토르시타빈; 및

HBV 폴리머라제를 저해하는 임의의 뉴클레오사이드/뉴클레오타이드 유사체

중 하나 이상을 포함하는 제2 약제학적으로 허용가능한 제제를 포함하는, HBV 감염 또는 HBV/HDV 동시-감염을 치료하기 위한 조성물.

청구항 3

청구항 1 또는 청구항 2에 있어서, 상기 핵산 폴리머가 적어도 1종의 2' 리보스 변형을 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 4

청구항 1 내지 청구항 3 중 어느 한 항에 있어서, 상기 핵산 폴리머가 2' 변형을 갖는 모든 리보스를 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 5

청구항 1 내지 청구항 4 중 어느 한 항에 있어서, 상기 핵산 폴리머가 적어도 1종의 2' 0 메틸 리보스 변형을 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 6

청구항 1 내지 청구항 5 중 어느 한 항에 있어서, 상기 핵산 폴리머가 2' 0 메틸 변형을 갖는 모든 리보스를 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 7

청구항 1 내지 청구항 6 중 어느 한 항에 있어서, 상기 핵산 폴리머가 적어도 1종의 5' 메틸시토신을 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 8

청구항 1 내지 청구항 7 중 어느 한 항에 있어서, 상기 핵산 폴리머가 5' 메틸시토신으로서 존재하는 모든 시토신을 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 9

청구항 1 내지 청구항 8 중 어느 한 항에 있어서, 상기 핵산 폴리머가 적어도 1종의 2' 0 메틸 리보스 변형 및 적어도 1종의 5' 메틸시토신을 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 10

청구항 1 내지 청구항 9 중 어느 한 항에 있어서, 상기 핵산 폴리머가 2' 0 메틸 변형을 갖는 모든 리보스 및 5' 메틸시토신으로서 존재하는 모든 시토신을 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 11

청구항 1 내지 청구항 10 중 어느 한 항에 있어서, 상기 킬레이트 착물이 칼슘 킬레이트 착물인, 조성물.

청구항 12

청구항 1 내지 청구항 10 중 어느 한 항에 있어서, 상기 킬레이트 착물이 마그네슘 킬레이트 착물인, 조성물.

청구항 13

청구항 1 내지 청구항 10 중 어느 한 항에 있어서, 상기 킬레이트 착물이 칼슘/마그네슘 킬레이트 착물인, 조성물.

청구항 14

청구항 1 내지 청구항 13 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 및 제2 약제학적으로 허용가능한 제제가 동일한 약제학적 조성물 내에서 제형화된, 조성물.

청구항 15

청구항 1 내지 청구항 13 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 및 제2 약제학적으로 허용가능한 제제가 별도의 약제학적 조성물 내에서 제형화된, 조성물.

청구항 16

청구항 1 내지 청구항 13 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 및 제2 약제학적으로 허용가능한 제제가 동시에 투여되는, 조성물.

청구항 17

청구항 1 내지 청구항 13 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 및 제2 약제학적으로 허용가능한 제제가 상이한 경로로 투여되는, 조성물.

청구항 18

청구항 1 내지 청구항 17 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 및 제2 약제학적으로 허용가능한 제제는 경구 섭취, 에어로졸 흡입, 피하 주사, 정맥내 주사 및 정맥내 주입 중 하나 이상을 사용하여 투여되는 것인, 조성물.

청구항 19

적어도 1종의 포스포로티오에이트화된 핵산 폴리머의 킬레이트 착물을 포함하는 제1 약제학적으로 허용가능한 제제 및 적어도 1종의 뉴클레오사이드/뉴클레오타이드 유사체 HBV 폴리머라제 저해제를 포함하는 제2 약제학적으로 허용가능한 제제의, 대상체에서 HBV 감염 또는 HBV/HDV 동시-감염을 치료하기 위한, 용도.

청구항 20

적어도 1종의 포스포로티오에이트화된 핵산 폴리머의 킬레이트 착물을 포함하는 제1 약제학적으로 허용가능한 제제 및 적어도 1종의 뉴클레오사이드/뉴클레오타이드 유사체 HBV 폴리머라제 저해제를 포함하는 제2 약제학적으로 허용가능한 제제의, 대상체에서 HBV 감염 또는 HBV/HDV 동시-감염을 치료하기 위한 약제의 제조에서의, 용도.

청구항 21

서열번호 2;

서열번호 10;

서열번호 13;

서열번호 1, 3 내지 9, 11, 12 및 14 내지 20;

서열 AC의 반복을 포함하는 20 내지 120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고뉴클레오타이드;

서열 CA의 반복을 포함하는 20 내지 120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고뉴클레오타이드;

서열 TG의 반복을 포함하는 20 내지 120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고뉴클레오타이드; 및

서열 GT의 반복을 포함하는 20 내지 120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고 뉴클레오타이드로부터 선택된 하나 이상의 핵산 폴리머의 킬레이트 착물을 포함하는 제1 약제학적으로 허용가능한 제제; 및 라미부딘;

아데포비르 디피복실;

엔테카비르;

텔비부딘;

테노포비르 디소프록실 푸마레이트;
 엔트리시타빈;
 클레부딘;
 베시포비르;
 테노포비르 알라페나미드 푸마레이트;
 AGX-1009;
 엘부시타빈;
 라고시클로비르 발락테이트;
 프라데포비르 메실레이트;
 발토르시타빈; 및

HBV 폴리머라제를 저해하는 임의의 뉴클레오사이드/뉴클레오타이드 유사체
 중 하나 이상을 포함하는 제2 약제학적으로 허용가능한 제제
 의, HBV 감염 또는 HBV/HDV 동시-감염을 치료하기 위한 용도.

청구항 22

서열번호 2;
 서열번호 10;
 서열번호 13;
 서열번호 1, 3 내지 9, 11, 12 및 14 내지 20;
 서열 AC의 반복을 포함하는 20 내지 120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고뉴클레오타이드;
 서열 CA의 반복을 포함하는 20 내지 120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고
 뉴클레오타이드;
 서열 TG의 반복을 포함하는 20 내지 120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고
 뉴클레오타이드; 및
 서열 GT의 반복을 포함하는 20 내지 120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고 뉴클레오타이드
 로부터 선택된 하나 이상의 핵산 폴리머의 킬레이트 착물을 포함하는 제1 약제학적으로 허용가능한 제제; 및
 라미부딘;
 아데포비르 디피복실;
 엔테카비르;
 텔비부딘;
 테노포비르 디소프록실 푸마레이트;
 엔트리시타빈;
 클레부딘;
 베시포비르;
 테노포비르 알라페나미드 푸마레이트;
 AGX-1009;
 엘부시타빈;

라고시클로비르 발락테이트;

프라테포비르 메실레이트;

발토르시타빈; 및

HBV 폴리머라제를 저해하는 임의의 뉴클레오사이드/뉴클레오타이드 유사체

중 하나 이상을 포함하는 제2 약제학적으로 허용가능한 제제

의, HBV 감염 또는 HBV/HDV 동시-감염을 치료하기 위한 약제의 제조에서의 용도.

청구항 23

청구항 19 내지 청구항 22 중 어느 한 항에 있어서, 상기 핵산 폴리머가 적어도 1종의 2' 리보스 변형을 추가로 포함하는, 용도.

청구항 24

청구항 19 내지 청구항 23 중 어느 한 항에 있어서, 상기 핵산 폴리머가 2' 변형을 갖는 모든 리보스를 추가로 포함하는, 용도.

청구항 25

청구항 19 내지 청구항 24 중 어느 한 항에 있어서, 상기 핵산 폴리머가 적어도 1종의 2' 0 메틸 리보스 변형을 추가로 포함하는, 용도.

청구항 26

청구항 19 내지 청구항 25 중 어느 한 항에 있어서, 상기 핵산 폴리머가 2' 0 메틸 변형을 갖는 모든 리보스를 추가로 포함하는, 용도.

청구항 27

청구항 19 내지 청구항 26 중 어느 한 항에 있어서, 상기 핵산 폴리머가 적어도 1종의 5' 메틸시토신을 추가로 포함하는, 용도.

청구항 28

청구항 19 내지 청구항 27 중 어느 한 항에 있어서, 상기 핵산 폴리머가 5' 메틸시토신으로서 존재하는 모든 시토신을 추가로 포함하는, 용도.

청구항 29

청구항 19 내지 청구항 28 중 어느 한 항에 있어서, 상기 핵산 폴리머가 적어도 1종의 2' 0 메틸 리보스 변형 및 적어도 1종의 5' 메틸시토신을 추가로 포함하는, 용도.

청구항 30

청구항 19 내지 청구항 29 중 어느 한 항에 있어서, 상기 핵산 폴리머가 2' 0 메틸 변형을 갖는 모든 리보스 및 5' 메틸시토신으로서 존재하는 모든 시토신을 추가로 포함하는, 용도.

청구항 31

청구항 19 내지 청구항 30 중 어느 한 항에 있어서, 상기 킬레이트 착물이 칼슘 킬레이트 착물인, 용도.

청구항 32

청구항 19 내지 청구항 30 중 어느 한 항에 있어서, 상기 킬레이트 착물이 마그네슘 킬레이트 착물인, 용도.

청구항 33

청구항 19 내지 청구항 30 중 어느 한 항에 있어서, 상기 킬레이트 착물이 칼슘/마그네슘 킬레이트 착물인, 용

도.

청구항 34

청구항 19 내지 청구항 33 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 및 제2 약제학적으로 허용가능한 제제가 동일한 약제학적 조성물 내에서 제형화된, 용도.

청구항 35

청구항 19 내지 청구항 33 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 및 제2 제제가 별도의 약제학적 조성물 내에서 제형화된, 용도.

청구항 36

청구항 19 내지 청구항 33 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 및 제2 제제가 동시에 투여되는, 용도.

청구항 37

청구항 19 내지 청구항 33 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 및 제2 제제가 상이한 경로로 투여되는, 용도.

청구항 38

청구항 19 내지 청구항 37 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 및 제2 제제는 경구 섭취, 에어로졸 흡입, 피하 주사, 정맥내 주사 및 정맥내 주입 중 하나 이상을 사용하여 투여하도록 제형화되는 것인, 용도.

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 본 발명은 제1 약제학적으로 허용가능한 포스포로티오에이트화된 핵산 폴리머 제제 및 HBV 폴리머라제를 저해하는 제2 약제학적으로 허용가능한 뉴클레오사이드/뉴클레오타이드 유사 제제를 투여하는 것을 포함하는 B형 간염 바이러스(HBV) 감염 또는 HBV/간염 델타 바이러스(HDV) 동시-감염된 환자를 치료하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] HBV는 전 세계적으로 4억 명의 환자를 괴롭히며 HBV 감염으로 인한 합병증으로 인해 매년 약 60만 명의 사망을 초래한다. 몇 가지 항바이러스 치료법이 사용 승인을 받았지만, 치료를 받는 환자의 극소수를 제외하고는 감염의 지속성 있는 조절을 제공할 수 있는 치료학적으로 효과적인 면역 반응을 이끌어낼 수 없다.
- [0003] HBV 감염은 2 가지 상이한 입자의 생성을 초래한다: 1) HBV 코어 항원 단백질(HBcAg)로부터 조립된 바이러스 캡시드를 포함하고 HBV 표면 항원(HBsAg)에 의해 덮인 전염성 HBV 바이러스 자체(또는 데인(Dane) 입자)) 및 2) 지질, 콜레스테롤, 콜레스테롤 에스테르 및 비-감염성 HBV 표면 항원(HBsAg)의 소형 및 중형으로 구성된 고밀도 지질단백질-유사 입자인 서브-바이러스 입자(또는 SVP). 생산된 각 바이러스 입자에 대해 1,000 내지 10,000 개의 SVP가 혈액으로 방출된다. 이에 따라, 이러한 SVP(및 이들이 수분하는 HBsAg 단백질)는 혈액에서 압도적인 대다수의 바이러스성 단백질을 나타낸다. HBV 감염 세포는 또한 HBV e-항원(HBeAg)이라 불리는 프리-코어(pre-core) 단백질의 가용성 단백질 분해 생성물을 분비한다.
- [0004] HDV는 그의 바이러스 구조(Taylor, 2006, Virology, 344: 71-76)를 형성하기 위해 HBsAg을 사용하며, 따라서 HDV 감염은 HBV 감염을 동반하는 대상에서만 발생할 수 있다. 무증상의 HBV 보균자 및 만성 HBV-관련 간 질환에서 HDV 동시-감염의 빈도는 HBV 감염률이 낮은 국가에서는 낮지만, HBV 감염률이 높은 국가에서는 HBV-감염 환자에서 유의한 합병증을 낳으며 간경변에 대한 간 질환의 진행 속도를 증가시킬 수 있다. HBV 감염의 미충족된 의학적 필요는 HBV/HDV 동시-감염 환자에서 훨씬 더 중요하다; HDV 바이러스를 직접적으로 표적하는 특정 승인된 제제는 없으며 HBV 치료를 위해 승인된 약제와 병용 요법을 하더라도 HBV 단일-감염 환자보다 환자 반응이 더 나쁘다(Wedemeyer et al., 2014, Oral abstract 4, 49th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver, April 9-14, London, UK).
- [0005] HBV에 대해 현재 승인된 치료법은 인터페론- α 또는 티모신 $\alpha 1$ -기반 면역 요법 및 뉴클레오사이드/뉴클레오타이드 유사체에 의한 HBV 폴리머라제의 억제에 의한 바이러스 생산의 억제를 포함한다. HBV 폴리머라제 저해제는

감염성 바이러스의 생성을 감소시키는 데 효과적이지만, 제한된 수의 환자에서 HBsAg를 감소시키는 데 거의 효과가 없거나 장기간 치료로 HBsAg를 매우 천천히 감소시킨다(Fung et al., 2011, Am. J. Gastroenterol., 106: 1766-1773; Reijnders et al., 2011, J. Hepatol., 54: 449-454; Charuworn et al., 2014, Poster abstract 401, 48th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver, April 24-28, Amsterdam, The Netherlands). HBV 폴리머라제 저해제의 주요 효과는 프리-게놈 바이러스 mRNA가 감염성 비리온(virion)에 존재하는 부분적으로 이중 가닥 DNA로 변이하는 것을 차단하는 것이다. 인터페론-기반 면역 요법은 전염성 바이러스의 감소와 혈액에서 HBsAg의 제거를 달성할 수 있지만, 낮은 비율의 치료 대상에서만 가능하다.

[0006] 혈액 내의 HBsAg는 항-HBsAg 항체를 격리할 수 있고, 감염성 바이러스 입자가 면역 검출을 빠져나갈 수 있게 하며, 이는 HBV 감염이 만성 상태로 남아있는 이유 중 하나이다. 또한, HBsAg, HBeAg 및 HBcAg는 모두 하기 논의되는 바와 같은 면역-억제 성질을 가지며, 전술한 바와 같이 현재 이용가능한 HBV에 대한 임의의 치료법을 투여한 환자의 혈액 내에서 이러한 바이러스성 단백질의 지속성은 환자들이 HBV 감염의 면역학적 통제를 달성하지 못하는 데 상당한 영향을 준다.

[0007] 세 가지 1차 HBV 단백질(HBsAg, HBeAg 및 HBcAg)은 모두 면역-억제 특성을 지니지만(하기 참조), HBsAg는 HBV 감염 대상의 순환에서 압도적 다수의 HBV 단백질을 포함하고, HBV 감염에 대한 숙주 면역 반응의 억제의 주요 매개자일 수 있다. HBeAg의 제거, 항-HBe의 출현 또는 혈청 바이러스 혈증의 감소는 HBV 감염 치료 후의 지속적인 관리의 발달과 관련이 없지만, 혈청 HBsAg의 HBV 감염된 혈액에서의 제거(및 유리 항-HBsAg 항체의 출현)는 HBV 감염 치료 후의 통제로 이어지는 치료에 대한 항바이러스 반응의 우수한 예후를 나타내는 지표이다(이것은 면역 요법 또는 HBV 폴리머라제 저해제를 투여받은 환자의 소수에서만 발생한다). 따라서 세 가지 주요 HBV 단백질(HBsAg, HBeAg 및 HBcAg) 모두를 저해하면 억제 효과가 최적으로 제거될 수 있지만, HBsAg의 제거가 필수적이며 그 제거만으로도 HBV 감염이 있는 환자에서 면역 기능 억제를 대량으로 제거하기에 충분할 수 있다.

[0008] 만성 HBV 감염의 또 다른 중요한 특징은 공유 결합 폐쇄형 원형 DNA(cccDNA)라 불리는 감염된 세포의 핵에서 HBV 유전 정보의 안정한 저장기를 확립하는 것이다. cccDNA는 새로운 비리온의 생성을 위한 모든 바이러스 단백질과 미성숙 게놈(프리-게놈 mRNA)을 암호화하는 mRNA의 생산을 위한 전사 주형으로 작용하는 염색체의 에피솜으로서 핵 내의 다중 사본에 존재한다. 세포질 내 캡슐화 후, 미성숙 프리-게놈 mRNA는 HBV 폴리머라제(이는 프리-게놈 mRNA와 동시 캡시드화됨)에 의해 성숙한 부분적으로 이중 가닥의 DNA 게놈으로 변환되어, 성숙한 HBV 게놈이 미접촉 또는 이전에 감염된 세포에서 cccDNA 저장소를 만들거나 보충하도록 할 수 있다. 감염 과정의 끝은 상기 부분적으로 이중 가닥의 게놈 HBV 주형을 핵으로 전달하고 cccDNA로 변환시키는 것으로 구성된다.

[0009] cccDNA는 cccDNA 카피 수를 보충하는 성숙한 HBV 게놈을 함유하는 HBV 캡시드의 핵 반입을 통해 감염된 세포의 핵에서 보충될 수 있다. 이러한 핵 cccDNA 보충은 세포질로부터 조립된 캡시드의 직접적인 핵 반입 또는 이전에 감염된 간세포의 재-감염과 이어져 내부화된 캡시드를 핵으로 왕복시키는 2 가지 메커니즘에 의해 달성된다(Rabe et al., 2003, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 100: 9849-9854). 핵에서 이러한 게놈 HBV 저장기의 전사 억제 또는 제거는 치료 후 HBV 감염의 장기적 조절의 설정에 중요하다.

[0010] 뉴클레오사이드/뉴클레오타이드 HBV 폴리머라제 저해제에 의한 장기적인 치료는 성숙한 HBV 게놈을 함유하는 캡시드의 핵 반입에 의한 cccDNA의 보충을 차단하는 HBV 폴리머라제 저해제의 능력과 일치하여 핵 내의 cccDNA 카피 수를 감소시킬 수 있다. 그러나, 간세포 당 cccDNA 카피 수는 감소하지만, 여전히 전사 활성을 유지하므로 HBsAg 수준은 거의 영향을 받지 않는다(Werle-Lapostolle et al., 2004, Gastroenterol., 126: 1750-1758; Wong et al., 2013, Clin. Gastroenterol. Hepatol., 11: 1004-1010; Wong et al., 2014, Poster abstract 1074, 49th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver, April 9-14, London, UK). cccDNA는 면역-매개 과정에 의해 전사 불활성화될 수 있지만(Belloni et al., 2012, J. Clin. Inv., 122: 529-537), cccDNA 불활성화에 필요한 사이토카인 반응을 유발하는 면역 반응의 능력은 US 2014/0065102(이는 전체적으로 본원에 참고로 인용됨)에 기술된 바와 같이 지속적으로 순환하는 HBsAg에 의해 차단될 수 있으며, HBV 감염 치료에 있어서 면역 요법의 비-효과성과 일치한다.

[0011] 이와 같이, 이러한 치료를 받는 환자의 상당 부분에서 HBV 감염의 지속성 있는 면역학적 조절을 유도할 수 있는 치료법에 대한 명확하고 미충족된 의학적 필요성이 존재한다.

발명의 내용

- [0012] **요약**
- [0013] 본 발명에 따르면, 적어도 1종의 포스포로티오에이트화된 핵산 폴리머를 포함하는 제1 약제학적으로 허용가능한 제제 및 적어도 1종의 뉴클레오사이드/뉴클레오타이드 유사체 HBV 폴리머라제 저해제를 포함하는 제2 약제학적으로 허용가능한 제제를 포함하는 HBV 감염 또는 HBV/HDV 동시-감염된 환자를 치료하기 위한 조성물이 제공된다.
- [0014] 또한, 적어도 1종의 포스포로티오에이트화된 핵산 폴리머의 킬레이트 착물을 포함하는 제1 약제학적으로 허용가능한 제제 및 적어도 1종의 뉴클레오사이드/뉴클레오타이드 유사체 HBV 폴리머라제 저해제를 포함하는 제2 약제학적으로 허용가능한 제제를 포함하는 HBV 감염 또는 HBV/HDV 동시-감염된 환자의 치료를 위한 조성물이 제공된다.
- [0015] 또한, 적어도 1종의 포스포로티오에이트화된 핵산 폴리머를 포함하는 제1 약제학적으로 허용가능한 제제 및 적어도 1종의 뉴클레오사이드/뉴클레오타이드 유사체 HBV 폴리머라제 저해제를 포함하는 제2 약제학적으로 허용가능한 제제의 HBV 감염 또는 HBV/HDV 동시-감염된 환자를 치료하기 위한 용도가 제공된다.
- [0016] 또한, 적어도 1종의 포스포로티오에이트화된 핵산 폴리머를 포함하는 제1 약제학적으로 허용가능한 제제 및 적어도 1종의 뉴클레오사이드/뉴클레오타이드 유사체 HBV 폴리머라제 저해제를 포함하는 제2 약제학적으로 허용가능한 제제의 HBV 감염 또는 HBV/HDV 동시-감염된 환자를 치료하기 위한 약제의 제조에서의 용도가 제공된다.
- [0017] 또한, 적어도 1종의 포스포로티오에이트화된 핵산 폴리머의 킬레이트 착물을 포함하는 제1 약제학적으로 허용가능한 제제 및 적어도 1종의 뉴클레오사이드/뉴클레오타이드 유사체 HBV 폴리머라제 저해제를 포함하는 제2 약제학적으로 허용가능한 제제의 HBV 감염 또는 HBV/HDV 동시-감염된 환자를 치료하기 위한 용도가 제공된다.
- [0018] 또한, 적어도 1종의 포스포로티오에이트화된 핵산 폴리머의 킬레이트 착물을 포함하는 제1 약제학적으로 허용가능한 제제 및 적어도 1종의 뉴클레오사이드/뉴클레오타이드 유사체 HBV 폴리머라제 저해제를 포함하는 제2 약제학적으로 허용가능한 제제의 HBV 감염 또는 HBV/HDV 동시-감염된 환자를 치료하기 위한 약제의 제조에서의 용도가 제공된다.
- [0019] 다른 구현예에서, 하기로부터 선택된 하나 이상의 핵산 폴리머의 킬레이트 착물을 포함하는 제1 약제학적으로 허용가능한 제제:
- [0020] 서열번호 2;
- [0021] 서열번호 10;
- [0022] 서열번호 13;
- [0023] 서열번호 1, 3 내지 9, 11, 12 및 14 내지 20;
- [0024] 서열 AC의 반복을 포함하는 20-120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고뉴클레오타이드;
- [0025] 서열 CA의 반복을 포함하는 20-120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고 뉴클레오타이드;
- [0026] 서열 TG의 반복을 포함하는 20-120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고 뉴클레오타이드; 및
- [0027] 서열 GT의 반복을 포함하는 20-120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고 뉴클레오타이드; 및
- [0028] 하기 중 하나 이상을 포함하는 제2 약제학적으로 허용가능한 제제:
- [0029] 라미부딘;
- [0030] 아데포비르 디피복실;
- [0031] 엔테카비르;
- [0032] 텔비부딘;
- [0033] 테노포비르 디소프록실 푸마레이트;
- [0034] 엔트리시타빈;
- [0035] 클레부딘;

- [0036] 베시포비르;
- [0037] 테노포비르 알라페나미드 푸마레이트;
- [0038] AGX-1009;
- [0039] 엘부시타빈;
- [0040] 라고시클로비르 발락테이트;
- [0041] 프라데포비르 메실레이트;
- [0042] 발토르시타빈; 및
- [0043] HBV 폴리머라제를 저해하는 임의의 뉴클레오사이드/뉴클레오타이드 유사체
- [0044] 의 HBV 감염 또는 HBV/HDV 동시-감염의 치료를 위한 조성물이 제공된다.
- [0045] 일 구현예에서, 하기로부터 선택된 하나 이상의 핵산 폴리머의 킬레이트 착물을 포함하는 제1 약제학적으로 허용가능한 제제:
- [0046] 서열번호 2;
- [0047] 서열번호 10;
- [0048] 서열번호 13;
- [0049] 서열번호 1, 3 내지 9, 11, 12 및 14 내지 20;
- [0050] 서열 AC의 반복을 포함하는 20-120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고뉴클레오타이드;
- [0051] 서열 CA의 반복을 포함하는 20-120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고뉴클레오타이드;
- [0052] 서열 TG의 반복을 포함하는 20-120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고뉴클레오타이드; 및
- [0053] 서열 GT의 반복을 포함하는 20-120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고뉴클레오타이드; 및
- [0054] 하기 중 하나 이상을 포함하는 제2 약제학적으로 허용가능한 제제:
- [0055] 라미부딘;
- [0056] 아데포비르 디피복실;
- [0057] 엔테카비르;
- [0058] 텔비부딘;
- [0059] 테노포비르 디소프록실 푸마레이트;
- [0060] 엔트리시타빈;
- [0061] 클레부딘;
- [0062] 베시포비르;
- [0063] 테노포비르 알라페나미드 푸마레이트;
- [0064] AGX-1009;
- [0065] 엘부시타빈;
- [0066] 라고시클로비르 발락테이트;
- [0067] 프라데포비르 메실레이트;
- [0068] 발토르시타빈; 및
- [0069] HBV 폴리머라제를 저해하는 임의의 뉴클레오사이드/뉴클레오타이드 유사체
- [0070] 의 HBV 감염 또는 HBV/HDV 동시-감염의 치료를 위한 용도가 제공된다.

- [0071] 다른 구현예에서, 하기로부터 선택된 하나 이상의 핵산 폴리머의 킬레이트 착물을 포함하는 제1 약제학적으로 허용가능한 제제:
- [0072] 서열번호 2;
- [0073] 서열번호 10;
- [0074] 서열번호 13;
- [0075] 서열번호 1, 3 내지 9, 11, 12 및 14 내지 20;
- [0076] 서열 AC의 반복을 포함하는 20-120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고뉴클레오타이드;
- [0077] 서열 CA의 반복을 포함하는 20-120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고뉴클레오타이드;
- [0078] 서열 TG의 반복을 포함하는 20-120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고뉴클레오타이드; 및
- [0079] 서열 GT의 반복을 포함하는 20-120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고뉴클레오타이드; 및
- [0080] 하기 중 하나 이상을 포함하는 제2 약제학적으로 허용가능한 제제:
- [0081] 라미부딘;
- [0082] 아데포비르 디피복실;
- [0083] 엔테카비르;
- [0084] 텔비부딘;
- [0085] 테노포비르 디소프록실 푸마레이트;
- [0086] 엔트리시타빈;
- [0087] 클레부딘;
- [0088] 베시포비르;
- [0089] 테노포비르 알라페나미드 푸마레이트;
- [0090] AGX-1009;
- [0091] 엘부시타빈;
- [0092] 라고시클로비르 발락테이트;
- [0093] 프라데포비르 메실레이트;
- [0094] 발토르시타빈; 및
- [0095] HBV 폴리머라제를 저해하는 임의의 뉴클레오사이드/뉴클레오타이드 유사체
- [0096] 의 HBV 감염 또는 HBV/HDV 동시-감염의 치료를 위한 약제의 제조에서의 용도가 제공된다.
- [0097] 다른 구현예에서, 핵산 폴리머는 서열 AC의 반복을 포함하는 20-120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고뉴클레오타이드를 포함한다.
- [0098] 다른 구현예에서, 핵산 폴리머는 서열 CA의 반복을 포함하는 20-120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고뉴클레오타이드를 포함한다.
- [0099] 다른 구현예에서, 핵산 폴리머는 서열 TG의 반복을 포함하는 20-120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고뉴클레오타이드를 포함한다.
- [0100] 다른 구현예에서, 핵산 폴리머는 서열 GT의 반복을 포함하는 20-120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고뉴클레오타이드를 포함한다.
- [0101] 또 다른 구현예에서, 포스포로티오에이트화된 핵산 폴리머는 적어도 1종의 2' 리보스 변형을 추가로 포함한다.
- [0102] 또 다른 구현예에서, 포스포로티오에이트화된 핵산 폴리머는 2' 변형을 갖는 모든 리보스를 추가로 포함한다.

- [0103] 또 다른 구현예에서, 포스포로티오에이트화된 핵산 폴리머는 적어도 1종의 2' 0 메틸 리보스 변형을 추가로 포함한다.
- [0104] 또 다른 구현예에서, 포스포로티오에이트화된 핵산 폴리머는 2' 0 메틸 변형을 갖는 모든 리보스를 추가로 포함한다.
- [0105] 또 다른 구현예에서, 포스포로티오에이트화된 핵산 폴리머는 적어도 1종의 5' 메틸시토신을 추가로 포함한다.
- [0106] 또 다른 구현예에서, 포스포로티오에이트화된 핵산 폴리머는 5' 메틸시토신으로 존재하는 모든 시토신을 추가로 포함한다.
- [0107] 또 다른 구현예에서, 포스포로티오에이트화된 핵산 폴리머는 적어도 1종의 2' 리보스 변형 및 적어도 1종의 5' 메틸시토신을 추가로 포함한다.
- [0108] 또 다른 구현예에서, 포스포로티오에이트화된 핵산 폴리머는 2' 0 메틸 변형을 갖는 모든 리보스 및 5' 메틸시토신으로 존재하는 모든 시토신을 추가로 포함한다.
- [0109] 또 다른 구현예에서, 핵산 폴리머는 서열번호 1 내지 20으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0110] 또 다른 구현예에서, 핵산 폴리머는 서열번호 1 내지 20으로 이루어진 군으로부터 선택된 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 킬레이트 착물로서 제조된다.
- [0111] 또 다른 구현예에서, 핵산 폴리머는 서열번호 2로 이루어진 올리고뉴클레오타이드이다.
- [0112] 또 다른 구현예에서, 핵산 폴리머는 서열번호 2를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 킬레이트 착물로서 제조된다.
- [0113] 또 다른 구현예에서, 핵산 폴리머는 서열번호 10으로 이루어진 올리고뉴클레오타이드이다.
- [0114] 또 다른 구현예에서, 핵산 폴리머는 서열번호 10을 포함하는 올리고뉴클레오타이드 킬레이트 착물로서 제조된다.
- [0115] 또 다른 구현예에서, 핵산 폴리머는 서열번호 13으로 이루어진 올리고뉴클레오타이드이다.
- [0116] 또 다른 구현예에서, 핵산 폴리머는 서열번호 13을 포함하는 올리고뉴클레오타이드 킬레이트 착물로서 제조된다.
- [0117] 일 구현예에서, 킬레이트 착물은 칼슘 킬레이트 착물이다.
- [0118] 다른 구현예에서, 킬레이트 착물은 마그네슘 킬레이트 착물이다.
- [0119] 추가 구현예에서, 킬레이트 착물은 칼슘/마그네슘 킬레이트 착물이다.
- [0120] 추가 구현예에서, 제1 및 제2 약제학적으로 허용가능한 제제는 동일한 약제학적 조성물 내에 제형화된다.
- [0121] 추가 구현예에서, 제1 및 제2 제제는 별개의 약제학적 조성물 내에 제형화된다.
- [0122] 추가 구현예에서, 제1 및 제2 제제는 동시 투여를 위해 제형화된다.
- [0123] 추가 구현예에서, 제1 및 제2 제제는 상이한 경로에 의한 투여를 위해 제형화된다.
- [0124] 추가 구현예에서, 제1 및 제2 제제는 경구 섭취, 에어로졸 흡입, 피하 주사, 정맥내 주사 및 정맥내 주입 중 1종 이상을 사용하여 투여하기 위해 제형화된다.
- [0125] 추가 구현예에서, 핵산 폴리머는 하기 중 적어도 1종이다:
- [0126] 서열번호 2;
- [0127] 서열번호 10;
- [0128] 서열번호 13;
- [0129] 서열번호 1, 3 내지 9, 11, 12 및 14 내지 20;
- [0130] 서열 AC의 반복을 포함하는 20-120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고뉴클레오타이드;
- [0131] 서열 CA의 반복을 포함하는 20-120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고뉴클레오타이드;

- [0132] 서열 TG의 반복을 포함하는 20-120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고뉴클레오타이드; 및
- [0133] 서열 GT의 반복을 포함하는 20-120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고뉴클레오타이드.
- [0134] 추가 구현예에서, 하기 핵산 폴리머는 하기 중 적어도 1종을 포함하는 올리고뉴클레오타이드 킬레이트 착물로서 추가로 제형화될 수 있다:
- [0135] 서열번호 2;
- [0136] 서열번호 10;
- [0137] 서열번호 13;
- [0138] 서열번호 1, 3 내지 9, 11, 12 및 14 내지 20;
- [0139] 서열 AC의 반복을 포함하는 20-120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고뉴클레오타이드;
- [0140] 서열 CA의 반복을 포함하는 20-120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고뉴클레오타이드;
- [0141] 서열 TG의 반복을 포함하는 20-120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고뉴클레오타이드; 및
- [0142] 서열 GT의 반복을 포함하는 20-120 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화된 올리고뉴클레오타이드.
- [0143] 또 다른 구현예에서, 뉴클레오사이드/뉴클레오타이드 유사체 HBV 폴리머라제 저해제는 하기 중 하나 이상을 포함한다:
- [0144] 라미부딘;
- [0145] 아데포비르 디피복실;
- [0146] 엔테카비르;
- [0147] 텔비부딘;
- [0148] 테노포비르 디소프록실 푸마레이트;
- [0149] 엔트리시타빈;
- [0150] 클레부딘;
- [0151] 베시포비르;
- [0152] 테노포비르 알라페나미드 푸마레이트;
- [0153] AGX-1009;
- [0154] 엘부시타빈;
- [0155] 라고시클로비르 발락테이트;
- [0156] 프라데포비르 메실레이트;
- [0157] 발토르시타빈; 및
- [0158] HBV 폴리머라제를 저해하는 임의의 뉴클레오사이드/뉴클레오타이드 유사체.

도면의 간단한 설명

- [0159] 도 1은 HBsAg의 혈청 수준 감소에 대한 NAP REP 2055(서열번호 2) 및 엔테카비르(ETV)와의 병용 요법의 상승 효과를 도시한다.
- 도 2a는 ELISA에 의한 치료의 마지막에서 혈청 DHBsAg를 모니터링함으로써 측정된 DHBV와 칼슘 킬레이트 착물로서 감염된 배경 오리에 투여된 NAP의 항바이러스 활성을 도시한다.
- 도 2b는 정량적 PCR에 의한 치료의 마지막에서 간 DHBV DNA를 모니터링함으로써 평가된 DHBV와 칼슘 킬레이트 착물로서 감염된 배경 오리에 투여된 NAP의 항바이러스 활성을 도시한다.
- 도 3a는 A) 예비-치료, B) 치료가 절반 완료되었을 때, C) 치료 종료시, D) 치료 1 개월 후 및 E) 치료 2 개월

후에 정상 식염수로 28일 동안 처리된 오리의 혈청 내 DHBV DNA 수준을 도시한다. 정량 하한(LLOQ)은 3.1×10^4 VGE/ml이다. 값 < LLOQ는 3×10^3 VGE/ml로 설정되었다. VGE = 바이러스 게놈 당량.

도 3b는 A) 예비-치료, B) 치료가 절반 완료되었을 때, C) 치료 종료시, D) 치료 1 개월 후 및 E) 치료 2개월 후에 테노포비르 디소프록실 푸마레이트(TDF)로 28일 동안 처리된 오리의 혈청 내 DHBV DNA 수준을 도시한다. 정량 하한(LLOQ)은 3.1×10^4 VGE/ml이다. 값 < LLOQ는 3×10^3 VGE/ml로 설정된다. VGE = 바이러스 게놈 당량.

도 3c는 A) 예비-치료, B) 치료가 절반 완료되었을 때, C) 치료 종료시, D) 치료 1 개월 후 및 E) 치료 2개월 후에 REP 2139-Ca로 28일 동안 처리된 오리의 혈청 내 DHBV DNA 수준을 도시한다. 정량 하한(LLOQ)은 3.1×10^4 VGE/ml이다. 값 < LLOQ는 3×10^3 VGE/ml로 설정되었다. VGE = 바이러스 게놈 당량.

도 3d는 A) 예비-치료, B) 치료가 절반 완료되었을 때, C) 치료 종료시, D) 치료 1 개월 후 및 E) 치료 2개월 후에 REP 2139-Ca 및 TDF로 28일 동안 처리된 오리의 혈청 내 DHBV DNA 수준을 도시한다. 정량 하한(LLOQ)은 3.1×10^4 VGE/ml이다. 값 < LLOQ는 3×10^3 VGE/ml로 설정되었다. VGE = 바이러스 게놈 당량.

도 3e는 A) 예비-치료, B) 치료가 절반 완료되었을 때, C) 치료 종료시, D) 치료 1 개월 후 및 E) 치료 2개월 후에 REP 2139-Ca, TDF 및 엔테카비르(ETV)로 28일 동안 처리된 오리의 혈청 내 DHBV DNA 수준을 도시한다. 정량 하한(LLOQ)은 3.1×10^4 VGE/ml이다. 값 < LLOQ는 3×10^3 VGE/ml로 설정되었다. VGE = 바이러스 게놈 당량.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0160] 혈액으로부터 HBsAg을 제거할 수 있는 제1 약제학적으로 허용가능한 제제 및 HBV 폴리머라제를 억제하는 제2 약제학적으로 허용가능한 제제를 투여하는 것으로 구성된, HBV 감염에 대한 병용 요법이 본원에 제공된다. 이와 같은 병용 요법은 (혈청 HBsAg 제거에 의한) 숙주 면역 기능의 회복을 가능하게 하여 결국에는 cccDNA의 면역-매개성 전사 불활성화 및 감염된 간세포에서의 cccDNA 카피 수의 감소를 유도하는 동시에 성숙한 HBV 게놈을 함유하는 캡시드의 핵산 반입을 통하거나 또는 (HBV 폴리머라제를 억제함으로써) 감염성 바이러스의 생산을 통한 cccDNA의 보충을 차단한다. 이들 2 가지 제제의 조합된 상승 효과는 치료에 대한 항바이러스 반응 및/또는 감염된 세포로부터의 cccDNA의 제거를 가속화할 수 있어 치료 후 감염의 지속 억제를 얻는 데 필요한 치료 시간을 단축시킨다. 중요한 것은 면역 요법의 부재 하에서 이러한 효과를 얻을 수 있다는 점이다. 이러한 병용 치료는 HBV 단일 감염 및 HBV/HDV 동시-감염에서 효과적일 것이다.

[0161] HBsAg는 HBV 감염 및 HBV/HDV 동시-감염에 중요한 역할을 한다. 비리온 형성에 필수적인 구조적 구성요소로서의 역할 외에도, HBsAg는 바이러스 캡시드와 게놈이 결집되어 있고 주로 HBsAg를 혈액에 배달하는 기능을 하는 서브-바이러스 입자(SVP)의 형태로 감염된 환자의 혈액으로 다량으로 방출된다. SVP는 SVP가 HBsAg 항체(항-HBs)를 효과적으로 차단하여 혈액 내 HBV 또는 HDV 바이러스가 적응 면역에 의한 인식을 피할 수 있도록 하는 바이러스 분비보다 1,000 내지 10,000 배 초과하여 감염된 세포에서 분비된다. HBsAg가 또한 HBV 감염에 대한 적응성 및 타고난 면역 반응의 활성화를 직접적으로 차단하는 작용을 한다고 여러 연구에서 제안했다(Cheng et al., 2005, Journal of hepatology, 43:4 65-471; Op den Brouw et al., 2009, Immunology, 126: 280-289; Vanlandschoot et al., 2002, The Journal of general virology, 83: 1281-1289; Wu et al., 2009, Hepatology, 49: 1132-1140; Xu et al., 2009, Molecular immunology, 46: 2640-2646). 인간 HBV 감염에서의 이러한 기능의 존재 및 면역 요법 제제의 활성화에 대한 영향 및 HBV/HDV 동시-감염에서의 이러한 항바이러스 효과의 부가적인 적용가능성은 이전에 전문이 참고 문헌으로 인용된 US 2014/0065102 A1에 기재되어 있다. HBeAg 및 HBcAg는 또한 면역 억제 성질을 갖는것으로 나타났지만(Kanda et al., 2012, J. Inf. Dis., 206 : 415-420, Lang et al., 2011, J. Hepatol., 55 : 762-769, Gruffaz et al., 2013, J. Hepatol., 58 (suppl), p s155, Abstract 378), 혈액 내 HBsAg와 관련하여 HBeAg과 HBcAg의 매우 적은 비율을 고려할 때 이러한 영향은 미미할 것이다.

[0162] HBV 폴리머라제(NRTI)의 뉴클레오타이드/뉴클레오타이드 유사체 저해제는 HBV 감염에 대한 활성이 동일한 작용 메커니즘에 의해 발생하는 공지된 부류의 항바이러스제이다: 이러한 부류의 화합물은 DNA 쉼의 신장 동안 천연 뉴클레오타이드 기질과 경쟁함으로써 즉각적으로 또는 지연된 사슬 종결자로 기능한다(Menendez-Arias et al., 2015 Curr. Op. Virol. 8: 1-9). 이러한 부류의 화합물은 질소성 염기 및 당으로 이루어진 기본 코어 뉴클레오타이드/뉴클레오사이드 코어 구조를 보유하거나 또는 비환형 뉴클레오타이드이거나 또는 당 또는 의사당 고리가 결집되어 있거나 또는 α-포스페이트를 대체하는 포스포네이트 기를 가지고 많은 다른 추가적인 변형을 가질 수

있다(문헌[Michailidis et al., 2012 Int. J. Biochem. Cell. Biol. 44: 1060-1071] 및 [De Clercq et al., 2010 Viruses 2: 1279-1305] 참조).

- [0163] 오리 HBV 바이러스(DHBV)에 감염된 오리는 HBV 감염의 허용된 모델이며 인간 환자를 치료하기 위해 현재 사용되는 여러 HBV NRTI의 평가에 사용되어 왔다(Schultz et al., 2004, Adv Virus Res, 63:1-70; Foster et al., 2005, J Virol, 79:5819-5832; Nicoll et al., 1998, Antimicrob Agents Chemother., 42:3130-3135). 포스포로티오에이트화된 핵산 폴리머(NAP)는 어떤 직접적인 면역 자극 메커니즘으로부터 파생되지 않은 DHBV 감염 오리에서 항바이러스 활성을 갖는 것으로 나타났다(Noordeen et al., 2013 Anti-Microb. Agents Chemother. 57: 5291-5298 및 5299-5306). 더욱이, 생체 내에서 이전에 확립된 DHBV 감염에서의 NAP REP 2055(서열번호 2)에 의한 치료적 개입으로, REP 2055는 cccDNA의 전사 불활성화 및 cccDNA 사본 수의 감소를 수반하는 혈청 오리 HBsAg(DHBsAg)의 제거를 가져왔다(Noordeen et al., 2009, Abstract 88 HEPDART meeting, Dec 6 - 9, HI, USA). 이러한 cccDNA의 불활성화 및 제거는 숙주 면역 기능의 DHBsAg-매개 억제제의 제거에 의해 야기되며, 그 다음, 이는 공지된 면역-매개 메커니즘에 의해 감염된 세포로부터 cccDNA를 불활성화시키고 제거할 수 있다(Levrero et al., 2009, J. Hepatol., 51: 581-592, Belloni et al., 2012, J. Clin. Inv., 122: 529-537).
- [0164] 인간 환자의 혈액으로부터 HBsAg를 효과적으로 제거하는 NAP는 US 2014/0065102에 기재된 바와 같다. HBV 감염(오리 HBV에 감염된 복경 오리)의 허용된 전임상 모델에서, NAP 처리로 혈청 오리 HBsAg(DHBsAg)를 제거하고, 혈청 DHBsAg의 부재하에서의 면역 기능의 회복은 전사 불활성화시킬 수 있고 감염된 간세포로부터 cccDNA를 제거할 수 있다(Noordeen et al., 2009, Abstract 88, HEPDART meeting Dec 6-10, HI, USA). 따라서, HBV 감염 환자의 혈청에서 HBsAg의 제거는 감염된 인간 간세포의 동일계에서의 cccDNA 불활성화에 동일한 효과를 줄 것으로 기대된다.
- [0165] 따라서, 본원에서는 새로 조합된 접근 방식으로 구성된 혈청 바이러스 혈증의 제어를 더욱 신속하게 수립하거나 cccDNA 활성 및/또는 HBV 감염된 간세포로부터의 제거에 대한 지속성 있는 제어를 확립하기 위한 효과적인 수단에 대해 기술하고 있으며, 이러한 수단에 의해 HBsAg는 약제학적으로 허용가능한 포스포로티오에이트화된 NAP 제형 및 cccDNA의 보충에 의해 혈액으로부터 감소되거나 제거되고, 감염성 바이러스의 생성은 HBV 폴리머라제를 억제하는 제2 약제학적으로 허용가능한 뉴클레오타이드/뉴클레오사이드 유사 제형에 의해 차단된다.
- [0166] 이 조합된 접근 방식은 다음과 같은 새롭고 중요한 이점을 가지고 있다:
- [0167] 1) 세포 내의 cccDNA 카피 수를 전사 불활성화시키고/시키거나 감소시키는(혈청 HBsAg의 제거로 인해) 개선된 숙주 면역 기능과, (성숙한 계통을 함유하는 캡시드가(HBV 폴리머라제 활성의 억제에 의해) 핵으로 들어가는 것을 막음으로써) cccDNA 보충을 차단하거나 또는(프리-계통 RNA가 HBV 캡시드 내에서 부분적으로 이중 가닥의 DNA로 형질 전환되는 것을 방지함으로써) 감염성 비리온의 생성을 차단하는 기능을 조합한다;
- [0168] 2) 상기 2종의 약제학적으로 허용가능한 제제의 중첩 효과로 인해, cccDNA의 전사 억제 또는 간에서의 감염된 간세포로부터의 혈청 바이러스 혈증의 제어를 제거, 배제 또는 확립하는 데 필요한 치료 기간의 단축에 미치는 시너지 효과를 갖는다;
- [0169] 3) 많은 환자에서 면역 요법의 빈약한 내약성을 고려할 때 중요한 치료 개선이 될 치료 후의 HBV 감염의 지속적 인 통제를 달성하기 위한 면역 요법(미국 2014/0065102에서 구체적으로 요구되는 바와 같이)의 사용을 요구하지 않는다.
- [0170] 상기 기술된 방법으로 개선된 항바이러스 효과는 HDV 감염이 전술한 바와 같은 HBV 감염의 부재하에 존재할 수 없으므로 HBV 단일 감염 및 HBV/HDV 동시-감염 환자에서 동일한 치료 효과를 가질 것이다.
- [0171] 따라서, 많은 환자에서 면역 요법을 사용하지 않고 cccDNA 활성의 지속성 있는 조절을 제거하거나 설정할 수 있는 임의의 현 치료 요법의 부재 하에, HBsAg를 혈액으로부터 감소시키거나 제거하는 동시에 HBV 감염 세포의 핵에서 cccDNA 보충을 차단하는, HBV 감염 및/또는 HBV/HDV 동시-감염에 대한 효과적인 병용 요법이 본원에서 처음으로 제공된다. 이러한 효과는 약제학적으로 허용가능한 뉴클레오사이드/뉴클레오타이드 유사체 HBV 폴리머라제 저해제와 조합하여 사용되는 약제학적으로 허용되는 포스포로티오에이트화된 NAP 제형의 사용에 의해 달성될 수 있다.
- [0172] 이러한 신규한 조합 방법은 치료의 내약성을 개선하고 면역 요법으로 발생하는 것으로 알려진 혈액학적 및 기타 부작용의 발생률을 감소시키는 중요한 이점을 갖는, 면역 요법이 없는 경우에 효과적이다.
- [0173] 용어 "올리고뉴클레오타이드(ON)"는 리보핵산(RNA) 및/또는 데옥시리보핵산(DNA)의 올리고머 또는 폴리머를 지

칭한다. 이 용어는 변형된 핵염기(5'-메틸시토신 및 4'-티오우라실 포함), 당 및 공유결합 뉴클레오사이드간(골격) 결합 및 유사하게 기능하는 비-자연 발생 부위를 갖는 ON으로 이루어진 ON을 포함한다. 이러한 변형 또는 치환된 ON은 예를 들어 감소된 면역반응성, 향상된 세포 흡수, (안티센스 ON, siRNA 및 shRNA와 관련하여) 핵산 표적에 대한 증진된 친화력 및/또는 뉴클레아제-매개 분해에 대해 증가된 안정성과 같은 바람직한 특성으로 인해 천연 형태보다 바람직할 수 있다. ON은 또한 이중 가닥일 수 있다. ON에는 단일 가닥 분자 예를 들어 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 스파이겔머(Spiegelmer) 및 압타머 및 miRNA뿐만 아니라 이중 가닥 분자 예를 들어 소형 간섭 RNA(siRNA) 또는 소형 헤어핀 RNA(shRNA)도 포함된다.

[0174] ON은 다양한 변형 예를 들어 안정화 변형을 포함할 수 있으므로, 따라서 포스포디에스테르 결합 및/또는 당 및/또는 염기에서 하나 이상의 변형을 포함할 수 있다. 예를 들어, ON은, 제한 없이, 하나 이상의 변형을 포함하거나 또는 열거된 변형을 갖는 모든 결합 또는 당 또는 염기를 함유하도록 완전히 변형될 수 있다. 변형된 결합은 포스포로티오에이트 결합 및 포스포로디티오에이트 결합을 포함할 수 있다. 변형된 결합이 유용하지만, ON은 포스포디에스테르 결합을 포함할 수 있다. 추가의 유용한 변형으로는, 제한 없이, 당의 2'-위치에서의 변형 예를 들어 2'-O-알킬 변형 예컨대 2'-O-메틸 변형, 2'-O-메톡시에틸(2'MOE), 2'-아미노 변형, 2'-할로 변형 예컨대 2'-플루오로; 비환형 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 다른 2' 변형도 당염기에 공지되어 있고 고정된 핵산과 같이 사용될 수 있다. 특히, ON은 전체적으로 변형된 결합을 가지거나 또는 모든 변형된 결합 예를 들어 포스포로티오에이트를 갖고; 3'- 및/또는 5'-캡을 가지며; 말단 3'-5' 결합을 포함하고; ON은 링커(들)에 의해 결합된 두 개 이상의 ON 서열로 구성된 콘카테머(concatemer)이거나 이를 포함한다. 염기 변형은 시토신 염기(5' 메틸시토신 또는 뉴클레오타이드와 관련하여, 5' 메틸시티딘) 및/또는 우라실 염기의 4'티오화(4'티오우라실 또는 뉴클레오타이드와 관련하여, 4'-티오우리딘)를 포함할 수 있다. 합성 조건이 포스포로티오에이트 결합을 갖는 올리고뉴클레오타이드, 2'리보스 변형(예컨대 2'O-메틸화) 및 변형된 염기(예컨대 5' 메틸시토신)를 갖는 것과 같은 화학적으로 상용성이 있는 경우, 화학적으로 서로 다른 상용성이 있는 변형된 결합을 조합할 수 있다. ON은 또한 이들 상이한 변형(예를 들어, 각각의 연결 포스포로티오에이트화된, 각각의 리보스 2' 변형된 및 각각의 염기 변형된)의 모든 변형으로 완전히 변형될 수 있다.

[0175] 본원에 포함된 용어 "핵산 폴리머" 또는 NAP는 핵산 표적과 혼성화되거나 또는 특정 단백질과 결합하는 서열 특이적 2차 구조를 적응시키기 위해 서열 특이적 작용기를 함유하지 않는 임의의 단일 가닥 ON이다. NAP의 생화학적 활성은 ON의 톨(Toll)-유사 수용체 인식, 표적 핵산과의 혼성화 또는 존재하는 특정 서열의 뉴클레오타이드 유래의 특이적인 2차/3차 ON 구조를 필요로 하는 압타머성 상호 작용에 의존하지 않는다. NAP는 상기 기재된 바와 같이 염기 및/또는 연결기 및/또는 당 변형을 포함할 수 있다. NAP는 항바이러스 활성을 갖도록 포스포로티오에이트화를 필요로 한다. 예시적인 항바이러스성 NAP 화합물은 하기 표 1에 열거되어 있다:

[0176] 표 1

[0177] 본원에 유용할 수 있는 항바이러스성 NAP의 예

표 1

[0178]

핵산 유형	서열 (5' - 3')	변형
DNA	(dAdC) ₂₀ (서열번호: 2)	모든 연결기 PS
DNA	(dCdA) ₂₀ (서열번호: 1)	모든 연결기 PS
DNA	(dA-5' MedC) ₂₀ (서열번호: 3)	모든 연결기 PS
DNA	(5' MedC-dA) ₂₀ (서열번호: 4)	모든 연결기 PS
RNA	(AC) ₂₀ (서열번호: 5)	모든 연결기 PS 2'OMe 변형된 모든 리보오스
RNA	(CA) ₂₀ (서열번호: 6)	모든 연결기 PS 2' OMe 변형된 모든 리보오스
DNA	(dTdG) ₂₀ (서열번호: 7)	모든 연결기 PS

DNA	(dGdT) ₂₀ (서열번호: 8)	모든 연결기 PS
RNA	(5'MeC-A) ₂₀ (서열번호: 9)	모든 연결기 PS 2' OMe 변형된 모든 리보오스
RNA	(A- 5'MeC) ₂₀ (서열번호: 10)	모든 연결기 PS 2' OMe 변형된 모든 리보오스
RNA / DNA	(A-5'MeC) ₂₀ (서열번호: 11)	모든 연결기 PS 리보아데노신 상의 모든 리보오스는 2'OMe 개질됨
RNA	(A-5'MeC) ₂₀ (서열번호: 12)	모든 연결기 PS 2' OMe 변형된 모든 리보오스 (위치 13 및 27 에서의 리보아데노신은 제외) (2'H임)
RNA	(A-5'MeC) ₂₀ (서열번호: 13)	모든 연결기 PS 2' OMe 변형된 모든 리보오스 (위치 11, 21 및 31에서의 리보아데노신은 제외) (2'H임)
RNA	(A-5'MeC) ₂₀ (서열번호: 14)	모든 연결기 PS 모든 5'MeC 리보오스는 2'OMe 개질됨
RNA / DNA	(dA-5'MeC) ₂₀ (서열번호: 15)	모든 연결기 PS 모든 5'MeC 리보오스 are 2'OMe 개질됨
RNA / DNA	(5'MeC-A) ₂₀ (서열번호: 16)	모든 연결기 PS 모든 A 리보오스는 2'OMe 개질됨
RNA	(5'MeC-A) ₂₀ (서열번호: 17)	모든 연결기 PS 2' OMe 변형된 모든 리보오스 (위치 14 및 28 에서의 리보아데노신은 제외) (2'H임)
RNA	(5'MeC-A) ₂₀ (서열번호: 18)	모든 연결기 PS 2' OMe 변형된 모든 리보오스 (위치 10, 20 및 30에서의 리보아데노신은 제외) (2'H임)
RNA	(5'MeC-A) ₂₀ (서열번호: 19)	모든 연결기 PS 모든 5'MeC 리보오스는 2'OMe 개질됨
RNA / DNA	(5'MeC-dA) ₂₀ (서열번호: 20)	모든 연결기 PS 모든 5'MeC 리보오스는 2'OMe 개질됨

dA = 데옥시아데노신, A = 아데노신, dC = 데옥시시티딘, C = 시티딘, dT = 데옥시티미딘, dG = 데옥시구아노신, PS = 포스포로티오에이트, 2'OMe = 2' O 메틸, 5'MeC = 5'메틸시토신-개질된 시티딘, 5'MeC = 5'메틸시토신-개질된 데옥시시티딘

[0179] 본원에서 용어 "ON 킬레이트 착물"은 2가 또는 다가 금속 양이온에 의해 분자 내로 연결된 2개 이상의 ON을 지칭하며, 단일 또는 이중 가닥 ON으로 발생할 수 있다. ON 킬레이트 착물은 이들 화합물에 의한 투여-관련 부작용에 기여할 수 있는 ON의 고유한 킬레이트화 특성을 중화시킨다. ON 킬레이트 착물의 투여는 킬레이트화되지 않은 ON(이는 당업계에서 통상적으로 사용되는 나트륨염으로서 투여되는 ON임)과 관련된 투여-관련 부작용이 US 8,513,211 및 제 8,716,259(이들을 그 전체로 본원에 참고로 인용함)에 기술된 바와 같이 완화되는 대상에게 ON을 투여하는 방법이다. 이러한 부작용은 정맥내 주입 또는 경결에 의한 떨림, 발열 및 오한, 피하 투여에 의한 주사 부위에서의 염증 및 통증을 포함할 수 있다. ON 킬레이트 착물의 투여는 나트륨염으로서 정상적으로 사용될 때 ON의 생화학적 활성을 방해하지 않는다. 따라서, 본원에 기술된 임의의 NAP는 그의 생화학적 활성에 영향을 미치지 않으면서 ON 킬레이트 착물로서 임의로 제조될 수 있다.

[0180] ON 킬레이트 착물은 다양한 다가 금속 양이온 예를 들어 칼슘, 마그네슘, 코발트, 철, 망간, 바륨, 니켈, 구리, 아연, 카드뮴, 수은 및 납을 함유할 수 있다. 또한, 이들 다가 금속 양이온의 킬레이트화는 금속 양이온을 통해 연결된 2개 이상의 ON으로 이루어진 ON 킬레이트 착물의 형성을 초래하고, 길이가 6개의 뉴클레오타이드보다 큰 ON에서 그리고 포스포디에스테르 또는 포스포로티오에이트 결합을 가진 ON의 존재 하에 발생한다는 점이 입증되었다. ON은 선택적으로 각각의 포스포로티오에이트화된 결합을 가질 수 있다. 킬레이트화는 또한 리보스에서 2' 변형(예컨대 2' O 메틸)을 함유하거나 또는 5'-메틸시토신 또는 4-티오우라실과 같은 변형된 염기를 함유하는 ON에서 발생한다. 이들 2' 변형은 하나 이상의 또는 모든 리보스 상에 존재할 수 있고, 변형된 염기는 하나 이상의 염기 상에 존재하거나 또는 각각의 염기 상에 보편적으로 존재할 수 있다(즉, 모든 시토신은 5'메틸시토신으로 존재한다). 추가로, ON 킬레이트 착물은 각각의 연결 포스포로티오에이트, 각각의 리보스 2' 변형 및 각각

의 염기 변형과 같은 다중 변형을 포함하는 ON을 포함할 수 있다. ON 킬레이트 착물 형성과 양립가능한 ON 변형은 상기에 추가로 정의되어 있다. 또한, 금속 양이온의 킬레이트화는 존재하는 뉴클레오타이드의 서열에 의존하지 않고, 대신 모든 ON에 공통적인 물리화학적 특성에 의존한다.

- [0181] ON 킬레이트 착물의 형성은 임의의 2가 금속 양이온으로 달성될 수 있지만, 약제로서 사용하기 위한 ON 킬레이트 착물은 바람직하게는 칼슘 및/또는 마그네슘만을 함유해야 하지만, 철, 망간, 구리 또는 아연을 또한 미량으로 함유할 수 있으며, 코발트, 바륨, 니켈, 카드뮴, 수은, 납 또는 여기에 열거되지 않은 임의의 다른 2가 금속을 포함해서는 안 된다.
- [0182] US 2014/0065192에서 기술된 바와 같이, 포스포로티오에이트화된 NAP에 의한 감염된 환자의 혈액으로부터 HBsAg의 제거는 면역 반응의 부분적인 회복을 초래하여, 혈액으로부터 HBV e-항원(HBeAg)을 제거하고, 치료 중 혈중 바이러스 수준이 상당히 감소하지만, 치료가 중단된 후 대부분의 환자에서는 이러한 항바이러스 효과가 유지되지 않는다. (HBsAg 및 다른 바이러스 항원의 부재 하에서) 이러한 면역 반응의 일부 회복은 소수의 환자에서 치료가 중단된 후 HBV 감염의 지속성 있는 면역학적 통제를 수립할 수 있지만, 훨씬 더 큰 비율의 환자에서 감염의 지속성 있는 면역학적 제어를 확립하는 것이 바람직하다. 치료 후 지속성 면역 제어를 달성하는 환자의 비율의 개선은 포스포로티오에이트화된 NAP를 다른 항바이러스제와 함께 사용하여 치료에 대한 항바이러스 반응의 속도 및 효능을 개선함으로써 달성될 수 있다. 인터페론-기반 치료 또는 다른 면역 요법과 같은 면역 요법의 사용은 피하는 것이 바람직한데, 그 이유는 전형적으로 환자가 치료를 견디는 것을 더 어렵게 만드는 부작용과 관련되기 때문이다.
- [0183] 본원에 사용된 용어 "혈액으로부터 HBsAg의 제거"는 애봇 아키텍트(Abbott Architect™) 정량적 HBsAg 분석 또는 혈청 HBsAg의 다른 임상적으로 허용된 것으로 측정된 전처리 HBsAg 혈중 농도와 비교하여 혈중 HBsAg 농도의 어떤 통계적으로 유의한 감소를 의미한다.
- [0184] 포스포로티오에이트화된 NAP에 대한 예시적인 효과적인 투약 요법은 US 2014/0065102에 기재된 바와 같이 다른 포스포로티오에이트화된 ON(예를 들어, 안티센스 올리고뉴클레오타이드)에 전형적으로 사용되는 것들을 따르며; 화합물 100 내지 500mg의 주간 비경구 투여의 통상적인 사용은 하기 실시예 I의 NAP 및 아크딤(Akdim) 등에 기술된 바와 같이 간 특이적 mRNA(아포지질단백질 B100)의 분해를 일으키는 포스포로티오에이트화된 안티센스 ON에 대해 기재된 간에서의 이들 화합물의 치료적 활성 수준을 달성하도록 당업계에 잘 확립되어 있다(2010, Journal of the American College of Cardiology, 55: 1611-1618).
- [0185] 따라서, 본원에 기재된 개시 내용에 따르면, 약제학적으로 허용가능한 뉴클레오사이드/뉴클레오타이드 HBV 폴리머라제 저해제와 조합된 약제학적으로 허용되는 포스포로티오에이트화된 NAP 제형으로 HBV 감염 또는 HBV/HDV 동시-감염 환자를 치료하는 것이 유용하다.
- [0186] 동일한 약제학적 조성물로 약제학적으로 허용가능한 제제를 둘 다 투여하거나 또는 동시에 또는 상이한 시간에 별도의 약제학적 조성물로 약제학적으로 허용가능한 제제 둘 다를 투여하는 것도 유용하다.
- [0187] 약제학적으로 허용가능한 제제를 동일하거나 상이한 투여 경로로 투여하는 것이 유용하다.
- [0188] 환자에게 최상의 항바이러스 반응을 제공하기 위해, HBV 폴리머라제를 최대한 차단하기 위해 하나 이상의 HBV 폴리머라제 저해제를 사용할 필요가 있으며, 따라서 cccDNA의 보충을 막는 데 최대 효과를 가져야 한다. 따라서, 하나 이상의 HBV 폴리머라제 저해제는 하기 뉴클레오사이드 유사체로부터 선택될 수 있다:
- [0189] 라미부딘;
- [0190] 아데포비르 디피복실;
- [0191] 엔테카비르;
- [0192] 텔비부딘;
- [0193] 테노포비르 디소프록실 푸마레이트;
- [0194] 엔트리시타빈;
- [0195] 클레부딘;
- [0196] 베시포비르;

- [0197] 테노포비르 알라페나미드 푸마레이트;
- [0198] AGX-1009;
- [0199] 엘부시타빈;
- [0200] 라고시클로비르 발락테이트;
- [0201] 프라데포비르 메실레이트;
- [0202] 발토르시타빈; 및
- [0203] HBV 폴리머라제를 저해하는 임의의 뉴클레오사이드/뉴클레오타이드 유사체.
- [0204] 본원에 기재된 조성물은 임의의 적합한 수단 예를 들어 정제, 캡슐, 과립 또는 분말 형태와 같은 경구 투여; 설하; 흡입; 비경구 예를 들어 피하, 정맥내, 주사 또는 주입 기술(예를 들어, 멸균 주사가 가능한 수성 또는 비수성 용액 또는 현탁액); 흡입에 의해; 국소적으로 예컨대 크림 또는 연고 형태; 직장내 예를 들어 좌약 또는 관장기의 형태; 비-독성 약제학적으로 허용가능한 비히클 또는 희석제를 함유하는 투약 단위 제형으로 투여될 수 있다. 본 발명의 조성물은 예를 들어 즉시 방출 또는 장기 방출에 적합한 형태로 투여될 수 있다. 즉각적인 방출 또는 장기 방출은 적절한 약제학적 조성물의 사용에 의해, 또는 특히 장기간 방출의 경우, 피하 이식 또는 삼투압 펌프와 같은 장치의 사용에 의해 달성될 수 있다. 따라서, 상기 조성물은 경구 섭취, 흡입, 피하 주사, 정맥내 주사 또는 주입 또는 국소 투여 경로 중 어느 하나에 의한 투여에 적용될 수 있다.
- [0205] 본 발명은 하기의 실시예를 참조하여 더욱 용이하게 이해될 것이다.
- [0206] **실시예 I**
- [0207] **혈청 HBsAg에 대한 NAP/ETV 병용 요법의 효과**
- [0208] NAP REP 2055(서열 번호: 2)의 약제학적으로 허용가능한 제형을 만성 HBV 감염 환자에게 1 주일에 400 mg의 IV 주입으로 투여하였다. 이 환자에서의 혈청 HBsAg 반응은 인가된 현장 정량적 ELISA를 사용하여 매주 실시간으로 모니터링하였다. 이 ELISA 방법은 저농도의 HBsAg에 매우 민감하지만, 혈액 중의 임의의 상당한 HBsAg 농도를 정확히 정량화할 수 없다. REP 2055 단일 요법(도 1, 사각형) 동안 HBsAg 분석을 사용하여 혈청 HBsAg의 검출가능한 감소가 관찰되지 않았지만, 이 환자는 혈청 바이러스 혈증(혈청 HBV DNA)에서 매우 약한(약 1 로그) 강하를 경험하였는데, 이는 어떤 종류의 항바이러스 반응이 일어났음을 나타낸다. 따라서, REP 2055 단일 요법의 29 주 후에, 이 환자는 매일 경구로 취한 엔테카비르 0.5mg으로 이루어진 기존의 REP 2055 요법 외에 HBV 폴리머라제 저해 요법을 받았다.
- [0209] 혈청 HBsAg의 즉각적인 감소는 REP 2055/ETV 병용 요법의 개시로부터 2 주 이내에 정성 분석에 의해 검출되었고, 혈청 HBsAg은 병용 치료를 시작한 후 4 주 이내에 정성적 ELISA에서 검출할 수 없게 되었다(도 1, 사각형). 병합된 REP 2055/ETV 치료에 의한 혈청 HBsAg의 이러한 상승적 조절은 수 주간의 치료 동안 유지되었다.
- [0210] HBsAg의 억제에 대한 REP 2055/ETV 병용 요법의 상승 작용을 확인하기 위해, 이 환자로부터의 혈청 시료를 IMPACT 플랫폼을 사용하여 재분석하여 드 네이(de Neit) 등의 문헌에 기재된 바와 같이 혈청 HBsAg 수준을 정확하게 정량하였다(2014, Antiviral Ther., 19: 259-267). 이 정량 분석은 REP 2055 단일 요법으로 발생한 혈청 HBsAg의 초기 약 2 로그 감소를 나타내었으며(도 1, 원), 이는 정성적 ELISA에 의해 검출 가능하지 않으며, 위에서 설명한 REP 2055 단일 요법에 대한 바이러스 혈증에서 관찰된 약 1 로그 강하의 원인일 가능성이 있다. 중요하게도, 이 환자의 혈청 HBsAg 감소는 유의한 혈청 HBsAg가 REP 2055 치료 10 주부터 치료 29 주에 REP 2055/ETV 치료의 조합이 시작될 때까지 안정하게 존재하는 안정기에 도달했다. REP 2055/ETV 병용 요법의 개시에 따라, 혈청 HBsAg의 정량적 분석은 현장 정성 검사에서 관찰된 바와 같이 거의 동일하고 신속한 혈청 HBsAg 감소를 나타내었으며, 이러한 추가 감소는 1.5 로그를 초과하였으며, 이는 또한 REP 2055/ETV 병용 치료 시작 후 4 주 안에 달성되었다.
- [0211] REP 2055 단일 요법의 존재하에 저 혈청 HBsAg 수준의 지속성은 cccDNA가 여전히 전사 활성인 상기 환자의 간에 존재한다는 표시이다. 기존 REP 2055 치료법에 ETV를 첨가하여 혈청 HBsAg의 매우 신속한 추가 제거는 cccDNA 전사 조절 및/또는 제거에 대한 상승 효과가 발생했다는 표시이다. 중요하게도, cccDNA의 추가 제거의 개발은 단일 요법에서 사용되는 HBV 폴리머라제 저해제로 관찰된 것보다 훨씬 빠르게 발생했으며, 달성하는 데 단지 4 주가 소요되었다. 따라서, 이러한 관찰은 HBV 폴리머라제 저해제(이 경우에는 엔테카비르)와 조합될 때 혈청

HBsAg 감소(이 경우에는 NAP REP 2055를 사용하여 달성됨)의 새로운 상승작용적 항바이러스 효과를 입증한다.

[0212] 실시예 II

[0213] DHBV에 감염된 북경 오리에서 다양한 NAP의 항바이러스 효과

[0214] 상이한 핵산 변형을 포함하는 다양한 NAP를 DHBV 감염 북경 오리에서 시험하여 항바이러스 활성을 확립하였다. 이들 NAP는 REP 2055(서열 번호: 2), REP 2139(서열 번호: 10), REP 2163(서열 번호: 11) 및 REP 2165(서열 번호: 13)이다. 표 2는 이들 NAP의 화학적 설명을 제공한다.

[0215] 표 2

[0216] 실시예 II에서 사용된 NAP의 설명

표 2

NAP	서열	올리고뉴클레오타이드 변형
REP 2055 (서열번호: 2)	(dAdC) ₂₀	각각의 연결은 포스포로티오에이트화됨
REP 2139 (서열번호: 10)	(A, 5'MeC) ₂₀	각각의 연결은 포스포로티오에이트화됨 모든 리보오스는 2'0 메틸화됨
REP 2163 (서열번호: 11)	(A, 5'MedC) ₂₀	각각의 연결은 포스포로티오에이트화됨 아데노신의 리보오스만이 2'0 메틸화됨
REP 2165 (서열번호: 13)	(A, 5'MeC) ₂₀	각각의 연결은 포스포로티오에이트화됨 모든 리보오스는 2'0 메틸화됨(리보오스가 2'OH인 위치 11, 21 및 31에서의 아데노신 제외)
dA = 데옥시리보아데노신 dC = 데옥시리보시티딘 A = 리보아데노신 5'MeC = 리보-5' 메틸시티딘 5'MedC = 데옥시리보-5' 메틸시티딘		

[0218] 3일 된 북경 새끼 오리는 2×10^{11} 바이러스 게놈 당량(VGE)/ml의 DHBV에 감염되었다. 감염이 확립된 지 11일 후 NAP 치료가 시작되었다. NAP는 10 mg/kg의 NAP(칼슘 킬레이트 착물로서 제형화됨)를 3 주 동안 3 회/주 복강 내 주사하여 투여한 후, 치료의 마지막에서 항바이러스 효과를 분석하였다. 대조군을 동일한 투여 경로 및 동일한 투약 요법으로 정상 식염수로 처리하였다. 항바이러스 활성은 정량적 PCR에 의해 ELISA(도 2a) 및 간 DHBV DNA (도 2b)에 의해 혈청 DHBsAg를 모니터링함으로써 평가하였다.

[0219] 모든 NAP는 혈청 DHBsAg 및 간 DHBV DNA의 감소를 가져왔으며, 이는 다양한 올리고뉴클레오타이드 변형을 함유하는 상이한 NAP가 비교가능한 항바이러스 효과를 나타냄을 시사한다.

[0220] 이는 차례로 특정 NAP 및 하나 이상의 뉴클레오사이드 유사체 기반 HBV 폴리머라제 저해제(REP 2055 및 상기 실시예 I의 엔테카비르에서 관찰됨)의 사용으로 관찰된 상승 작용 항바이러스 활성이 임의의 다른 포스포로티오에이트화된 NAP 및 또한 킬레이트 착물(US 8,513,211 및 8,716,259에 기재된 바와 같음)로 제형화된 상기 포스포로티오에이트화된 NAP와 함께 발생할 것임을 나타낸다.

[0221] 실시예 III

[0222] DHBV 감염된 북경 오리의 TDF와 ETV와 조합된 NAP의 항바이러스 효과

[0223] DHBV 감염된 북경 오리에서 REP 2139(REP 2139-Ca) 및 TDF 또는 REP 2139-Ca 및 TDF 및 ETV의 칼슘 킬레이트 착물과의 병용 치료의 항바이러스 효과를 정량적 PCR로 처리하는 동안 및 처리한 후에 혈청 및 간 DHBV DNA 수준의 변화를 평가함으로써 조사하였다. 오리 감염은 감염 후 1 개월 후에 치료를 시작한다는 것을 제외하고는 실시예 II에서 기술한 바와 같이 수행하였다. 치료 요법은 다음과 같다:

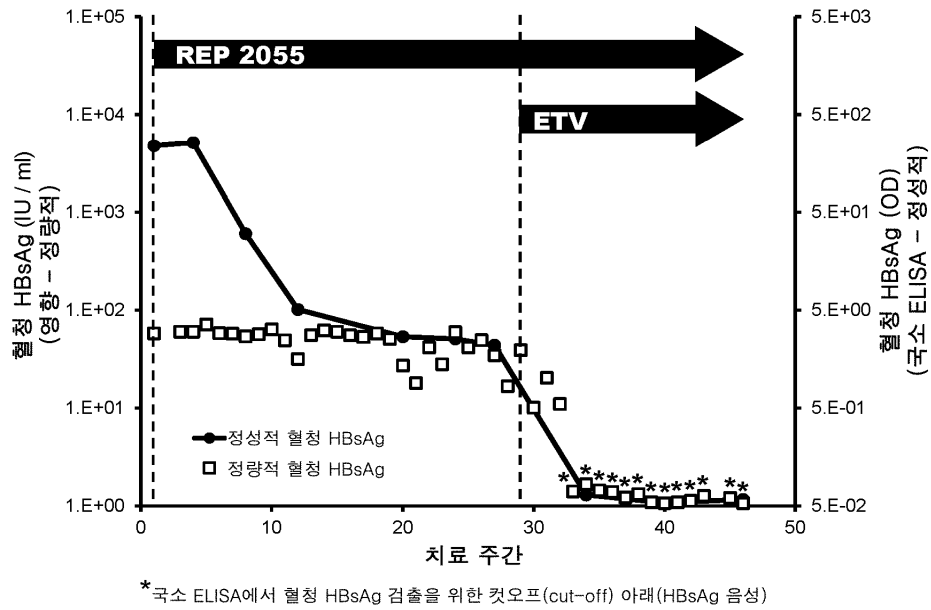
[0224] 1) 4 주간 주 3 회 IP 주사에 의해 주어진 정상 식염수

[0225] 2) 28 일간 경구 위관영양법으로 15 mg/일 투여한 TDF

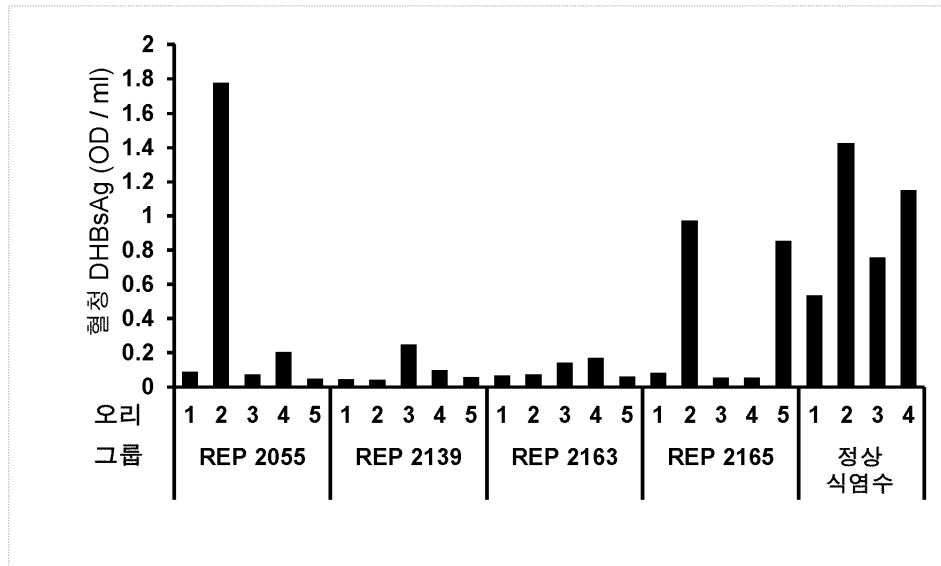
- [0226] 3) REP 2139-Ca, 4 주간 주 3회 IP 주사로 10mg/kg 투여
- [0227] 4) REP 2139-Ca 및 TDF(위와 같이 투여)
- [0228] 5) REP 2139-Ca 및 TDF(위와 같이 투여) 및 ETV는 28일 동안 경구 위관영양법으로 1 mg/일 투여
- [0229] 혈청 DHBV DNA는 치료전(시점 A), 치료 후 14일(시점 B), 치료 종료(시점 C) 및 치료 종료 후 1 및 2 개월(후속 조치, 시점 D 및 E)에서 평가하였다.
- [0230] 정상 식염수 처리 군에서, 처리 동안 DHBV DNA의 조절은 관찰되지 않았지만, DHBV DNA는 추적 기간 동안 상기 군에서 3 마리의 오리에서 자발적으로 조절되었다(도 3a). TDF-처리 군에서는 모든 오리에서 혈청 DHBV DNA가 감소되었지만, 대조군은 처리가 끝날 때까지 모든 오리에서 도달되지 못했다. DHBV DNA는 추적 기간 동안 이 그룹의 모든 오리에서 반발했다(도 3b). REP 2139-Ca 처리 군에서, DHBV DNA의 변화는 연구 기간 동안 2 마리의 오리에서 관찰되지 않았으며, DHBV DNA는 2 마리의 오리에서만 처리가 끝나고 제어되었고 추적 기간 동안 두 마리의 추가 오리에서 자발적으로 제어되었다(도 3c). REP 2139-Ca가 DHBV DNA의 TDF 대조군과 병합되었을 때, 치료 도중에 한 마리의 오리를 제외한 모든 오리에서 발생하였고, 일반적으로 REP 2139-Ca 또는 TDF 단독으로 처리된 군에서 달성된 대조군보다 더 빨랐다. REP 2139-Ca가 TDF 및 ETV와 병합될 때, DHBV는 처리 도중에 모든 오리에서 제어되었다(도 3e). 추적 기간 동안 혈청 DHBV DNA의 조절을 유지하는 오리의 비율은 단독의 TDF 또는 REP 2139-Ca보다 병합된 REP 2139-Ca 및 TDF(또는 TDF 및 ETV)에서 더 컸다(도 3d 및 e).
- [0231] 이러한 관찰은 HBV 감염에서의 치료 중 항바이러스 반응이 REP 2139-Ca 및 TDF 또는 TDF 및 ETV를 조합함으로써 상승적으로 개선될 수 있고 REP 2139-Ca 또는 TDF 단독으로 달성된 것과 비교하여 개선된 지속적인 바이러스 치료 반응을 초래할 수 있음을 교시한다. 상기 실시예에서 보여진 상승 작용은 본원에 기술된 HBV에 대해 활성인 임의의 NAP 및 본원에 기술된 임의의 뉴클레오타이드/뉴클레오사이드 유사체 기반 HBV 폴리머라제 저해제에서 발생할 것으로 예상되는 신뢰도일 수 있다. 또한, 하나 이상의 뉴클레오사이드/뉴클레오타이드 HBV 폴리머라제 저해제와 조합하여 사용되는 NAP는 유사하게 생산적인 상승작용 항바이러스 효과를 가지고 사용될 수 있다.
- [0232] NAP/TDF/ETV 병용 치료의 상승 효과는 항바이러스 반응의 속도를 향상시켰으며, 지속적인 바이러스 치료 반응을 달성할 수 있는 더욱 짧은 치료 요법에 대한 잠재력을 입증하였다. 이러한 잠재력은 또한 본원에 기재된 바와 같은 NAP와 뉴클레오타이드/뉴클레오사이드 유사체 HBV 폴리머라제 저해제 치료의 임의의 조합으로 실현될 수 있다.
- [0233] 따라서, 이러한 관찰은, 혈액으로부터 HBsAg를 감소시키거나 제거하는 임의의 약제학적으로 허용가능한 포스포로티오에이트화된 NAP 제형(US 2014/0065102 및 US 8,008,269, 8,008,270 및 8,067,385에 기재됨)이 상기 열거된 임의의 뉴클레오사이드/뉴클레오타이드 HBV 폴리머라제 저해제와 조합될 수 있고 혈청 바이러스 혈증의 제어를 달성할 수 있는 속도 및/또는 HBV cccDNA의 전사 불활성화 및/또는 제거에 대한 상승작용 효과를 달성할 것으로 기대할 수 있음을 교시한다. 관찰된 상승작용 효과는 또한 상기 약제학적으로 허용가능한 제제의 저 용량이 조합될 수 있고 여전히 유용한 항바이러스 효과와 함께 상승 작용을 달성할 수 있음을 교시한다.
- [0234] 하나의 뉴클레오사이드/뉴클레오타이드 HBV 폴리머라제 저해제와 조합하여 사용되는 하나의 포스포로티오에이트화된 NAP에 의해 관찰된 상승작용 항바이러스 효과가 주어지면, 전술한 바와 같은 하나 이상의 뉴클레오사이드/뉴클레오타이드 HBV 폴리머라제 저해제와 조합하여 사용되는 하나 이상의 포스포로티오에이트화된 NAP로 우수한 상승작용 효과를 달성할 수 있다.
- [0235] 상기 설명은 단지 예시적인 것을 의미하고, 당업자는 첨부된 특허청구범위에 의해 정의된 바와 같은 본 발명의 범주를 벗어나지 않고 기술된 구현예에 변경이 가해질 수 있다는 것을 인식할 것이다. 첨부된 특허청구범위에 정의된 바와 같은 본 발명의 범주 내에 있는 또 다른 변형은 첨부된 특허청구범위에 의해 정의된 바와 같은 본 발명의 범주를 벗어나지 않으면서 본 개시 내용의 견지에서 당업자에게 명백할 것이다.

도면

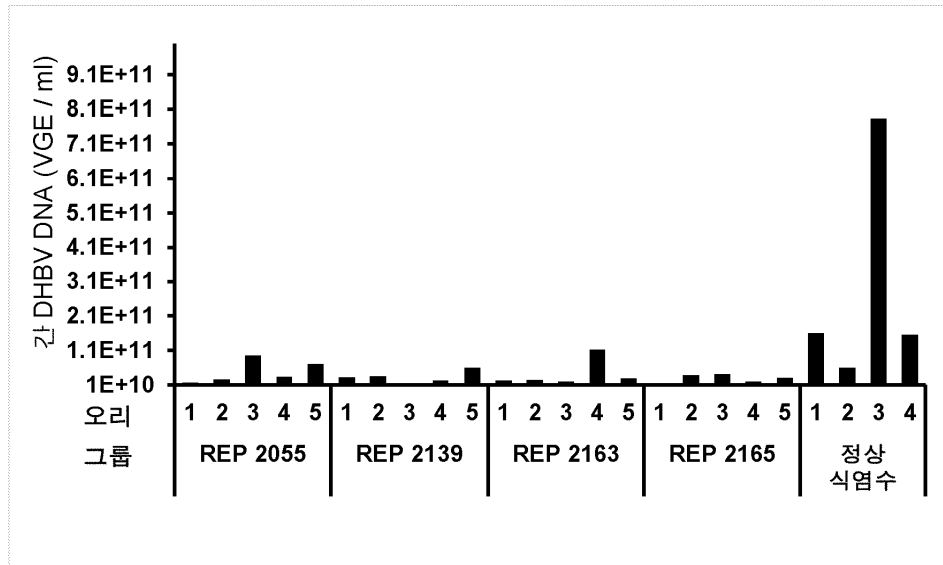
도면1



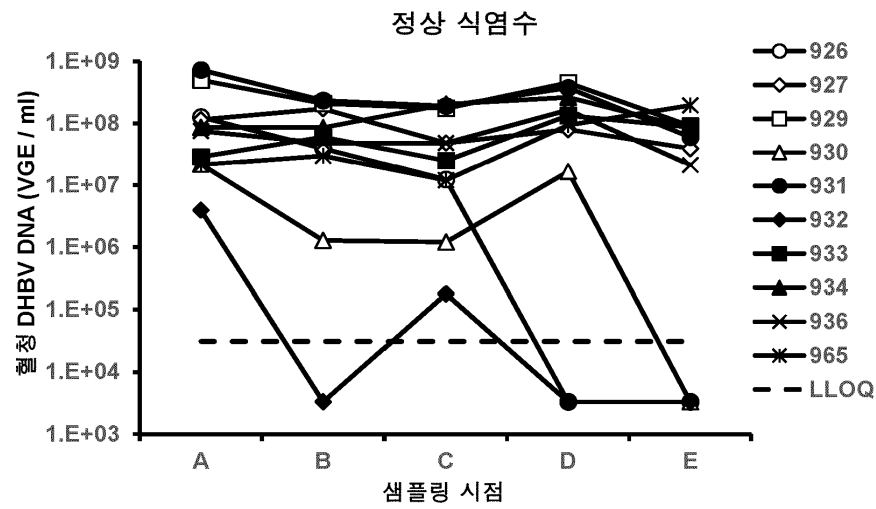
도면2a



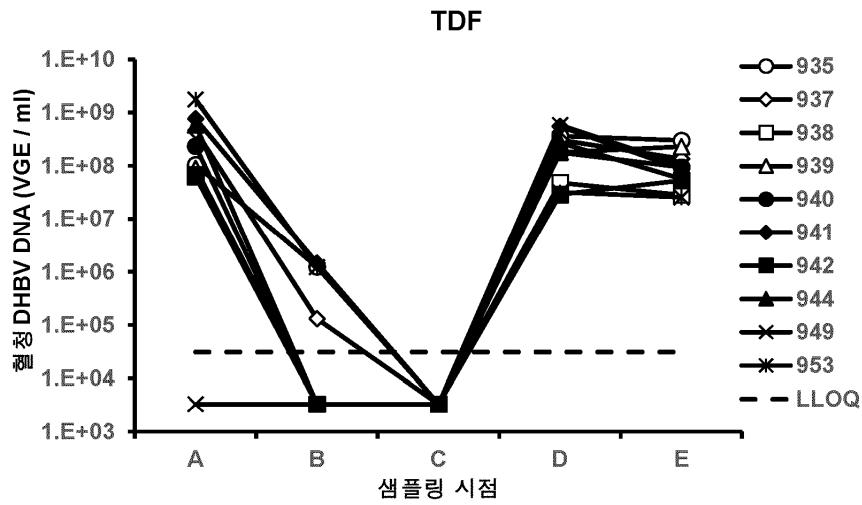
도면2b



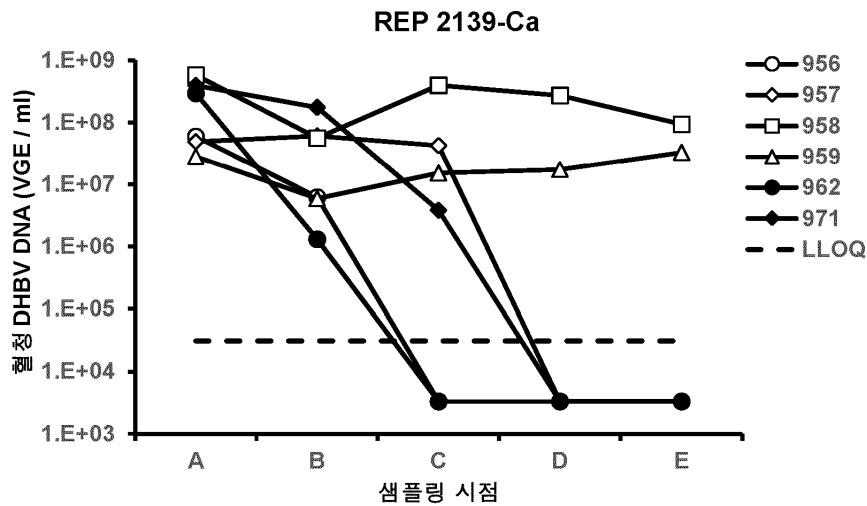
도면3a



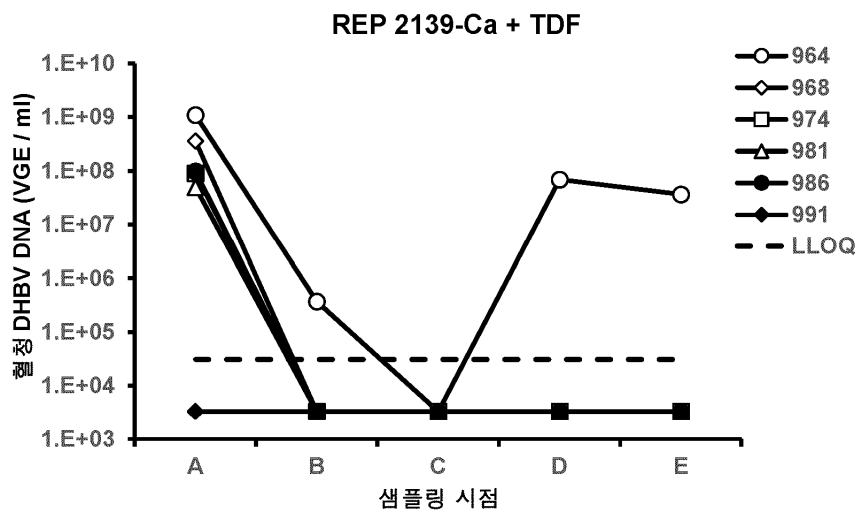
도면3b



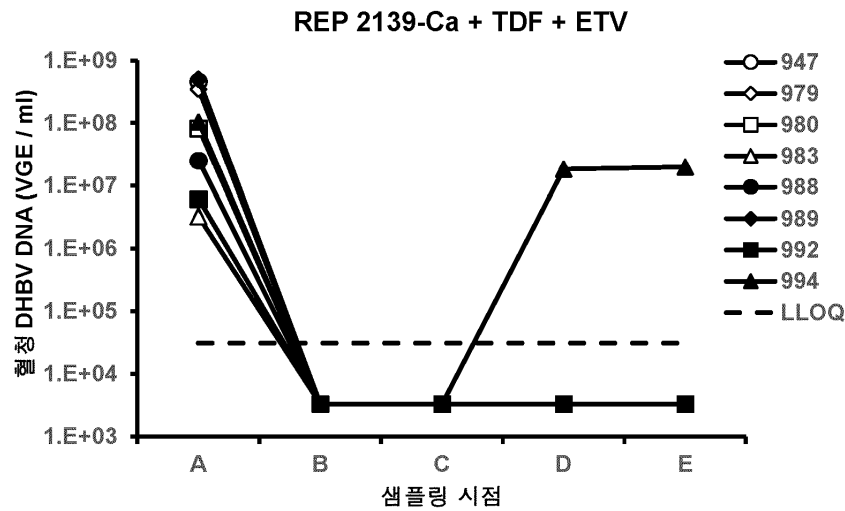
도면3c



도면3d



도면3e



서열 목록

<110>	REPLICOR INC.	
	Andrew VAILLANT	
<120>	METHODS FOR THE TREATMENT OF HEPATITIS B AND HEPATITIS D	
	INFECTIONS	
<130>	05016051-40PCT	
<160>	20	
<170>	KoPatent In 3.0	
<210>	1	
<211>	40	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	fully phosphorothioated	
<400>	1	
	cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca	40
<210>	2	
<211>	40	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	REP 2055, fully phosphorothioated	
<400>	2	
	acacacacac acacacacac acacacacac acacacacac	40
<210>	3	

<211> 40
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> REP 2148, fully phosphorothioated, C = 5' methylcytidine
 <400> 3
 acacacacac acacacacac acacacacac acacacacac 40
 <210> 4
 <211> 40
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> fully phosphorothioated, C = 5' methylcytidine
 <400> 4
 cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca 40
 <210> 5
 <211> 40
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> REP 2153, fully phosphorothioated, fully 2' O methylribose
 modified
 <400> 5
 acacacacac acacacacac acacacacac acacacacac 40
 <210> 6
 <211> 40
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> fully phosphorothioated, fully 2' O methylribose modified
 <400> 6
 cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca 40
 <210> 7
 <
 211> 40
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> REP 2033, fully phosphorothioated

<400> 7
 tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg 40

<210> 8
 <211> 40
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> fully phosphorothioated
 <400> 8
 gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt 40

<210> 9
 <211> 40
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> fully phosphorothioated, fully 2' O methylribose modified, each
 cytosine 5' methylated

<400> 9
 cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca 40

<210> 10
 <211> 40
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> REP 2139, fully phosphorothioated, fully 2' O methylribose
 modified, each cytosine 5' methylated

<400> 10
 acacacacac acacacacac acacacacac acacacacac 40

<210> 11
 <211> 40
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> REP 2163, fully phosphorothioated, each cytosine 5' methylated

<220><221> misc_feature
 <222> (1)..(3)
 <223> 2' O methylribose modification

<400> 11
acacacacac acacacacac acacacacac acacacacac 40

<210> 12
<211> 40
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> REP 2164, fully phosphorothioated, each cytosine 5' methylated
<220><221> misc_feature
<222> (1)..(12)
<223> 2' O methylribose modification
<400> 12
acacacacac acacacacac acacacacac acacacacac 40

<210> 13
<211> 40
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> REP 2165, fully phosphorothioated, each cytosine 5' methylated
<220><221> misc_feature
<222> (1)..(10)
<223> 2' O methylribose modification
<400> 13
acacacacac acacacacac acacacacac acacacacac 40

<210> 14
<211> 40
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> REP 2166, full phosphorothioated, each cytosine 5' methylated and
2'0 methylribose modified

<400> 14
acacacacac acacacacac acacacacac acacacacac 40

<210> 15
<211> 40
<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> REP 2167, fully phosphorothioated, each cytosine 5' methylated

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(4)

<223> 2' O methylribose modification

<400> 15

acacacacac acacacacac acacacacac acacacacac 40

<210> 16

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223>

fully phosphorothioated, each cytosine 5' methylated

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(4)

<223> 2' O methylribose modification

<400> 16

cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca 40

<210> 17

<211> 40

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> fully phosphorothioated, each cytosine 5' methylated

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(13)

<223> 2' O methylribose modification

<400> 17

cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca 40

<210> 18

<211> 40

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> fully phosphorothioated, each cytosine 5' methylated

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(9)

<223> 2' O methylribose modification

<400> 18

cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca 40

<210> 19

<211> 40

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> fully phosphorothioated, each cytosine 5' methylated and 2'0
methylribose modified

<400>

> 19

cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca 40

<210> 20

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> fully phosphorothioated, each cytosine 5' methylated

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(3)

<223> 2' O methylribose modification

<400> 20

cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca 40