(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0166786
(43) 공개일자 2023년12월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/4412 (2006.01) *A61K 31/325* (2006.01)
A61P 31/20 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/4412 (2013.01)
A61K 31/325 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-0067269
(22) 출원일자 2022년05월31일
심사청구일자 2023년03월30일

(71) 출원인
재단법인 아산사회복지재단
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88 (풍납동)
울산대학교 산학협력단
울산광역시 남구 대학로 93(무거동)
(72) 발명자
탁은영
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88, 서울아산병원 아산생명과학연구소 (풍납동)
이주영
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88, 서울아산병원 아산생명과학연구소 (풍납동)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
이명진

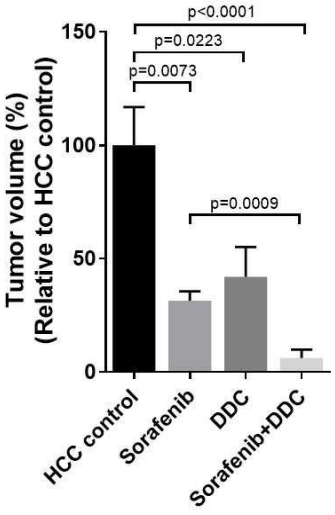
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 **소라페닙 및 DDC를 유효성분으로 포함하는 B형 간염유래 간세포암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 소라페닙; 및 DDC(diethyldithiocarbamate) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 B형 간염 유래 간세포암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물과, 상기 조성물을 포함하는 복합 제제에 관한 것이다. B형 간염 유래 간세포암 치료에 있어서, 본 발명에 따른 소라페닙 및 DDC(diethyldithiocarbamate)의 병용투여는, 각 성분의 단독 투여에 비하여 현저히 상승된(synergy) 효과를 나타내어 매우 우수한 치료적 효과를 가질 뿐만 아니라 이에 따라 각 약물의 과량 투여 또는 장기 투여에 의해 유발될 수 잇는 부작용을 경감시킬 수 있는 효과가 있어, 새로운 치료 전략을 제시한다.

대 표 도 - 도6



(52) CPC특허분류
A61P 31/20 (2018.01)
A61P 35/00 (2018.01)
A61K 2300/00 (2023.05)

(72) 발명자
김지예
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88, 서울아산병원 아산생명과학연구소 (풍납동)
이륜진
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88, 서울아산병원 아산생명과학연구소 (풍납동)
이상화
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88, 서울아산병원 의공학연구소 (풍납동)
윤영인
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88, 서울아산병원 (풍납동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1345343898
과제번호	2017R1D1A1B04032429
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(교육부)(R&D)
연구과제명	B형 간염 간세포암에서 소라페닙과 특이적 항산화 저해제를 이용한 암세포 사멸에 관한 효과연구
기 여 율	1/1
과제수행기관명	서울아산병원
연구기간	2021.03.01 ~ 2022.02.28

명 세 서

청구범위

청구항 1

소라페닙 및 DDC(diethyldithiocarbamate)를 유효성분으로 포함하는 B형 간염 유래 간세포암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 조성물은 소라페닙 및 DDC(diethyldithiocarbamate) 가 단일 조성물(single composition)의 형태이거나 또는 개별적인 조성물(separate composition)의 형태임을 특징으로 하는 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 소라페닙은 DDC(diethyldithiocarbamate)와 동시에(simutaneous), 별도로(separate) 또는 순차적(sequential)으로 투여되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 소라페닙 및 DDC(diethyldithiocarbamate)는 1 : 200 내지 300의 몰농도비로 포함되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 조성물은 1일 1회 또는 수회 분할 투여되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 조성물은 HBx(hepatitis B virus X) 유전자 발현을 감소시키는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 조성물은 B형 간염 바이러스 cccDNA(covalently closed circular DNA) 유전자 발현을 감소시키는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 소라페닙은 1일 투여용량이 6 내지 15 mg/day/체중kg으로 투여되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 DDC(diethyldithiocarbamate) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은 1일 투여용량이

300 내지 1,125 mg/day/체중kg으로 투여되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 조성물은 소라페닙 부작용을 나타내는 환자에 사용하기 위한 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 소라페닙 부작용은

피부발진, 수족피부반응(hand-foot skin reactions), 설사, 고혈압, 가역성 후백질 뇌병증 증후군(reversible posterior leukoencephalopathy syndrome) 및 적혈구증가증으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 소라페닙 부작용을 나타내는 환자에 사용하기 위한 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 12

제1항의 조성물을 포함하는 B형 간염 유래 간세포암의 예방 또는 치료용 약학적 복합 제제.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 소라페닙 및 DDC(diethyldithiocarbamate)를 유효성분으로 포함하는 B형 간염 유래 간세포암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물과, 상기 조성물을 포함하는 복합 제제에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] B형 간염 바이러스(Hepatitis B virus; HBV)는 헤파드나바이러스(Hepadnaviridae) 과에 속하는 DNA 게놈을 갖는 바이러스로서, 급성 및 만성 간염을 유발한다. 전 세계 인구 중의 약 3.5억 명이 HBV 만성 감염자이며, 특히 한국 및 중국은 만성 감염자가 약 5~8%에 이른다. HBV의 만성 감염은, 간염, 간경변 뿐만 아니라 간암을 유발하며 만성 감염자가 비감염자에 비해 간암 발생빈도가 약 300배 높게 나타나는데, WHO의 조사에 따르면 상당수의 간암이 B형 간염이 원인이라고 한다.

[0004] 이러한 B형 간염 유래 간세포암은 다른 병인에 의해 발생되는 간암(일례로, 알코올성 간암, 다른 바이러스 감염에 의한 간암 등등)과 비교하여, 생리적 및 유전적 특징, 약물 반응성 등등 여러 가지 측면에서 상당한 차이를 나타내는 것으로 보고되었다. 일례로 B형 간염 유래 간세포암에서는 특이적으로 HBx(hepatitis B virus X) 유전자 발현이 높고, 또한 간 조직 내 B형 간염 바이러스 cccDNA(covalently closed circular DNA)의 높은 존재 수준 또한 그 특징이다. HBV가 간세포 내로 침투하면, 세포핵 내에 cccDNA(covalently closed circular DNA)를 형성하는데, 일단 형성된 cccDNA는 HBV 게놈 DNA 복제를 위한 주형으로 사용되어, 해당 간세포의 수명이 다 할 때 까지 계속해서 HBV를 생산하게 된다. 따라서 B형 간염 유래 간세포암의 치료적 접근에 있어서는 특이적으로 상기 HBx 유전자나 cccDNA에 대한 컨트롤이 필요함이 시사되고 있다.

[0005] 이처럼 B형 간염 유래 간세포암은 기존에 간암 연구에 사용되어오던 HepG2, Hepa1.6 등 과는 상이한 생리 양상들을 보이고 있다. 또한 HBV 양성 간염(즉, B형 간염 유래 간세포암)과 HBV 음성 간염(즉, B형 간염과 관계 없는 간세포암)에서 약물 반응성이 다르게 나타나고, 이에 따른 환자들의 생존도 차이가 상당한 것으로 보고되었다.

[0006] 한편, 소라페닙(sorafenib)은 종양세포나 종양혈관에 과발현 할 것으로 예상되는 수용체 tyrosine kinase인 VEGFR-2, platelet-derived growth factor receptor(PDGFR)-β, c-kit와 더불어 신호전달 경로의 serine/threonine kinase인 Raf kinase를 동시에 저해하여 정상세포는 그대로 두고 암세포와 암세포에 영양을 공급하는 혈관내피 세포만을 공격해 치료하는 경구용 표적항암제(Oral Multikinase Inhibitor)로 알려져 있다. 그러나 피부발진, 수족피부반응(hand-foot skin reactions), 설사, 고혈압, 가역성 후백질 뇌병증 증후군

(reversible posterior leukoencephalopathy syndrome) 및 적혈구증가증 등과 같은 의도하지 않은 다양한 부작용이 임상에서 초래되고 있으며, 소라페닙에 대한 과민 반응 역시 보고되고 있다. 따라서 이러한 약물들의 약물의 과량 투여 또는 장기 투여에 의한 부작용들을 줄이기 위한 새로운 치료 전략이 필요한 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) 한국 등록특허 10-1771309

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 이에 본 발명자들은 부작용을 줄이면서도 효과적인 방법으로 B형 간염 유래 간세포암의 치료를 위한 새로운 전략을 연구하던 중, 소라페닙 및 DDC(diethyldithiocarbamate)를 병용 투여(처리)하면, 이들 약물 각각을 단독 투여하는 경우에 비하여 탁월한 상승적 치료효과를 나타내어 B형 간염 유래 간세포암의 예방 및 치료에 유용하게 사용할 수 있음을 발견하고 본 발명을 완성하였다.

[0010] 이에, 본 발명의 목적은, 소라페닙 및 DDC(diethyldithiocarbamate)를 유효성분으로 포함하는 B형 간염 유래 간세포암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 다른 목적은, 상기 조성물을 포함하는 B형 간염 유래 간세포암의 예방 또는 치료용 약학적 복합 제제를 제공하는 것이다.

[0012] 그러나, 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 본 발명이 속하는 기술 분야의 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0014] 상기와 같은 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 소라페닙 및 DDC(diethyldithiocarbamate)를 유효성분으로 포함하는 B형 간염 유래 간세포암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0015] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 조성물은 소라페닙 및 DDC(diethyldithiocarbamate)가 단일 조성물(single composition)의 형태이거나 또는 개별적인 조성물(separate composition)의 형태로 제공되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0016] 본 발명의 다른 일 구현예에서, 상기 조성물에서 소라페닙은 DDC(diethyldithiocarbamate)와 동시에(simutaneous), 별도로(separate) 또는 순차적(sequential)으로 투여되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0017] 본 발명의 또 다른 일 구현예에서, 상기 조성물에서 소라페닙 및 DDC(diethyldithiocarbamate)는 1 : 200 내지 300의 몰농도비로 포함되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0018] 본 발명의 또 다른 일 구현예에서, 상기 조성물은 1일 1회 또는 수회 분할 투여되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0019] 본 발명의 또 다른 일 구현예에서, 상기 조성물은 HBx(hepatitis B virus X) 유전자 발현을 감소시키는 것을 특징으로 할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0020] 본 발명의 또 다른 일 구현예에서, 상기 조성물은 조성물은 B형 간염 바이러스 cccDNA(covalently closed circular DNA) 유전자 발현을 감소시키는 것을 특징으로 할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0021] 본 발명의 또 다른 일 구현예에서, 상기 본 발명의 조성물에서 소라페닙은 1일 투여용량이 6 내지 15 mg/day/체

중kg으로 투여되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0022] 본 발명의 또 다른 일 구현예에서, 상기 본 발명의 조성물에서 DDC(diethyldithiocarbamate) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은 1일 투여용량이 300 내지 1,125 mg/day/체중kg으로 투여되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0023] 본 발명의 또 다른 일 구현예에서, 본 발명의 상기 조성물은 소라페닙 부작용을 나타내는 환자에 사용하기 위한 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 소라페닙 부작용은, 당업계에 소라페닙 부작용으로 알려진 것이라면, 그 종류가 특별히 제한되지 않으나, 바람직하게 상기 소라페닙 부작용은 소라페닙의 과다 또는/및 장기 사용에 의한 부작용일 수 있다. 상기 소라페닙 부작용은 일례로, 피부발진, 수족피부반응(hand-foot skin reactions), 설사, 고혈압, 가역성 후백질 뇌병증 증후군(reversible posterior leukoencephalopathy syndrome) 및 적혈구증가증으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0024] 또한 본 발명은, 상기 본 발명의 조성물을 포함하는 B형 간염 유래 간세포암의 예방 또는 치료용 약학적 복합제제를 제공한다.

[0025] 또한 본 발명은, 소라페닙 및 DDC(diethyldithiocarbamate)를 이를 필요로 하는 개체에 병용 투여하는 단계를 포함하는 B형 간염 유래 간세포암의 예방, 개선 및/또는 치료 방법을 제공한다.

[0026] 또한 본 발명은, 소라페닙 및 DDC(diethyldithiocarbamate)를 유효성분으로 포함하는 조성물을 이를 필요로 하는 개체에 투여하는 단계를 포함하는 B형 간염 유래 간세포암의 예방, 개선 및/또는 치료 방법을 제공한다.

[0027] 또한 본 발명은, 소라페닙 및 DDC(diethyldithiocarbamate)를 유효성분으로 포함하는 조성물의 B형 간염 유래 간세포암의 예방, 개선 및/또는 치료 용도를 제공한다.

[0028] 또한 본 발명은, 소라페닙 및 DDC(diethyldithiocarbamate)의 B형 간염 유래 간세포암의 예방, 개선 및/또는 치료용 제제(특히, 복합 제제)를 제조(생산)하기 위한 용도를 제공한다.

발명의 효과

[0030] B형 간염 유래 간세포암 치료에 있어서, 본 발명에 따른 소라페닙 및 DDC(diethyldithiocarbamate)의 병용투여는, 각 성분의 단독 투여에 비하여 현저히 상승된(synergy) 효과를 나타내어 매우 우수한 치료적 효과를 가질 뿐만 아니라 이에 따라 각 약물의 과량 투여 또는 장기 투여에 의해 유발될 수 잇는 부작용을 경감시킬 수 있는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0032] 도 1은 in vitro B형 간염 유래 간세포암 모델에서, 소라페닙(sorafenib) 단독 투여, DDC(diethyldithiocarbamate) 단독 투여, 소라페닙 및 DDC 병용투여 에 따른, 암세포 사멸효과를 비교적으로 도시한 이미지이다. DAPI(4',6-Diamidino-2-phenylindole)를 핵 마커로 사용했으며, PI(Propidium Iodide)를 간암세포 사멸 마커로 사용했다. 세포가 사멸하여 세포벽이 허물어지면 DNA가 노출되어 PI와 결합하여 붉은색 형광을 나타낸다. ANNEXIN V는 세포자연사(apoptosis) 마커로 사용하였다. 세포자연사가 일어나 세포막이 뒤집히면 안쪽 세포막에 위치한 포스파티딜 세린(phosphatidyl serine)에 annexin V가 결합하여 녹색 형광을 나타낸다. 흰색 스케일바(scale bar)는 200㎛를 나타낸다.

도 2는 in vitro B형 간염 유래 간세포암 모델에서, 소라페닙(sorafenib) 단독 투여, DDC(diethyldithiocarbamate) 단독 투여, 소라페닙 및 DDC 병용투여 에 따른, 간 조직 내 SOD1 유전자 발현 억제 효과를 비교적으로 도시한 그래프이다.

도 3은 in vitro B형 간염 유래 간세포암 모델에서, 소라페닙(sorafenib) 단독 투여, DDC(diethyldithiocarbamate) 단독 투여, 소라페닙 및 DDC 병용투여 에 따른, 간 조직 내 HBx 유전자 발현 억제 효과를 비교적으로 도시한 그래프이다.

도 4는 in vitro B형 간염 유래 간세포암 모델에서, 소라페닙(sorafenib) 단독 투여, DDC(diethyldithiocarbamate) 단독 투여, 소라페닙 및 DDC 병용투여 에 따른, 간 조직 내 B형 간염 바이러스

cccDNA(covalently closed circular DNA) 유전자 발현 억제 효과를 비교적으로 도시한 그래프이다.

도 5는 in vivo B형 간염 유래 간세포암 동물 모델에서, 각각 소라페닙(sorafenib) 단독 투여, DDC(diethyldithiocarbamate) 단독 투여, 소라페닙 및 DDC 병용투여 에 따른 B형 간염 유래 간세포암의 크기를 비교적으로 도시한 이미지이다.

도 6은 in vivo B형 간염 유래 간세포암 동물 모델에서, 소라페닙(sorafenib) 단독 투여, DDC(diethyldithiocarbamate) 단독 투여, 소라페닙 및 DDC 병용투여에 따른 종양(암) 치료 효과를 정량적으로 나타낸다.

도 7은 in vitro B형 간염 유래 간세포암 모델에서, 소라페닙 처리의 IC_{50} 농도를 도시한 것으로, 소라페닙 단독 처리의 IC_{50}과, DDC 500μM 병용 투여 시 소라페닙 IC_{50} 값을 비교적으로 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0033] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0035] 본 발명자들은 부작용을 줄이면서도 효과적인 방법으로 B형 간염 유래 간세포암의 치료를 위한 새로운 전략을 연구하던 중, 소라페닙 및 DDC(diethyldithiocarbamate)를 병용 투여(처리)하면, 이들 약물 각각을 단독 투여하는 경우에 비하여 치료적으로 탁월한 상승 효과가 있어, 매우 우수한 치료적 효과를 가질 뿐만 아니라, 이에 따라 각 약물의 과량 투여 또는 장기 투여에 의해 유발될 수 있는 부작용을 경감시킬 수 있는 효과가 있음을 알아내었다.

[0037] 본 발명에서 용어"투여"란 임의의 적절한 방법으로 개체에게 소정의 본 발명의 조성물 또는 제제를 제공하는 것을 의미한다.

[0038] 본 발명에서 용어"병용 투여(administered in combination)"는 각각의 성분 또는 화합물이 대상에 함께 투여되는 것을 의미한다. 각 화합물 또는 성분이 함께 투여된다는 것은 원하는 치료 효과를 얻기 위해서, 각 성분을 동일한 시간에 또는 임의의 순서로 또는 상이한 시간에 순차적으로 투여될 수 있음을 의미한다.

[0039] 본 발명에서 용어"상승(synergy) 작용"또는 "상승 효과"라는 용어는 기존 문헌들에 기재된 바와 같이, 각 성분이 병용 투여될 때 발생되는 효과가, 단일 성분으로서 단독으로 투여될 때 발생되는 효과의 합보다 더 큰 것을 의미한다.

[0041] 본 발명의 일 실시예에서는 in vitro B형 간염 유래 간세포암 질환 모델에서, 소라페닙 단독 처리군 또는 DDC 단독 처리군에서는 암세포 사멸 효과가 매우 미미한 반면 소라페닙과 DDC 병용처리 군에서는 대부분의 암세포가 사멸하는 수준으로 암세포 사멸 효과가 매우 뛰어난 것을 확인하였다(실시예 1 및 도 1 참조)

[0042] 본 발명의 또 다른 일 실시예에서는 in vivo B형 간염 유래 간세포암 질환 모델에서, 각 성분의 단독 투여 군과 비교하여 소라페닙과 DDC 병용투여 군에서는 특이적으로 상승적 치료 효과를 보여 간암 조직이 정상 간조직 수준으로 치료되는 것을 확인하였다(실시예 2, 도 5 및 도 6 참조). 또한 B형 간염 유래 간세포암 질환에 작용하는 주요 유전자들의 발현 또는 존재 수준을 감소시킴에 있어서도 소라페닙과 DDC 병용투여가 특이적으로 상승효과를 나타냄을 확인하였다(실시예 1, 도 2, 도 3 및 도 4 참조)

[0043] 본 발명의 또 다른 일 실시예에서는 소라페닙과 DDC 병용투여를 통해, 소라페닙의 사용 용량을 줄일 수 있어, 이에 따라 소라페닙의 과량 투여 또는 장기 투여에 의해 유발될 수 있는 부작용을 경감시킬 수 있음을 확인하였다(실시예 3, 도 7 참조).

[0045] 이에 본 발명은, 소라페닙 및 DDC(diethyldithiocarbamate)를 유효성분으로 포함하는 B형 간염 유래 간세포암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0047] 별도의 설명이 없는 한, 본 명세서에서'소라페닙(sorafenib)'과 'DDC(diethyldithiocarbamate, 디에틸디티오카바메이트)'는, 이들이 지칭될 때, 화합물 그 자체 또는 유도체, 이들의 약학적으로 허용되는 염, 수화물, 용매화물, 이성질체 및 프로드럭을 모두 포함하는 개념으로 사용된다.

[0048] 상기 용어"유도체"는 어떤 화합물의 일부가 화학적으로 변화되어 얻어지는 유사한 화합물을 의미한다. 통상은 화합물 중의 수소원자 또는 특정 원자단이 다른 원자 또는 원자단에 의하여 치환된 화합물을 말한다.

[0049] 상기 용어"약학적으로 허용되는" 은, 화합물이 투여되는 유기체에 심각한 자극을 유발하지 않고 화합물의 생물학적활성과 물성들을 손상시키지 않는 범주를 의미한다. 본 발명에서 용어 "수화물", "용매화물" 및 "이성질체" 역시 약학적으로 허용되는 범주 안의 화합물들을 의미한다. 이에 제한되지 않으나, 일례로 본 발명에서 "약학적으로 허용 가능한(되는) 염"이란 약학적으로 허용되는 무기산, 유기산, 또는 염기로부터 유도된 염을 포함한다.

[0050] 적합한 산의 예로는 염산, 브롬산, 황산, 질산, 과염소산, 푸마르산, 말레산, 인산, 글리콜산, 락트산, 살리실산, 숙신산, 톨루엔-p-설폰산, 타르타르산, 아세트산, 시트르산, 메탄설폰산, 포름산, 벤조산, 말론산, 글루콘산, 나프탈렌-2-설폰산, 벤젠설폰산 등을 들 수 있다. 산부가염은 통상의 방법, 예를 들면 화합물을 과량의 산 수용액에 용해시키고, 이 염을 메탄올, 에탄올, 아세톤 또는 아세토니트릴과 같은 수혼화성 유기 용매를 사용하여 침전시켜서 제조할 수 있다. 또한, 동몰량의 화합물 및 물 중의 산 또는 알코올을 가열하고 이어서 상기 혼합물을 증발시켜서 건조시키거나, 또는 석출된 염을 흡인 여과시켜 제조할 수 있다.

[0051] 적합한 염기로부터 유도된 염은 나트륨 또는 칼륨 등의 알칼리 금속; 칼슘 또는 마그네슘 등의 알칼리 토금속; 및 암모늄 등을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 또한 디시클로헥실아민, N-메틸-D-글루카민, 트리스(히드록시메틸) 메틸아민 등의 유기염기들의 염; 및 아르기닌, 리신 등의 아미노산 염을 포함할 수 있으며, 이에 제한 되는 것은 아니다.

[0052] 상기 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속염은, 예를 들면 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 용액 중에 용해하고, 비용해 화합물염을 여과한 후 여액을 증발, 건조시켜 얻을 수 있다. 이 때, 금속염으로서는 특히 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하며, 또한 이에 대응하는 은염은 알칼리 금속 또는 알칼리토 금속염을 적당한 은염(예, 질산은)과 반응시켜 얻을 수 있다.

[0053] 또한 본 발명에 따른 조성물에서 상기 성분들(소라페닙 또는 DDC) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 천연으로부터 분리되거나, 전술한 바와 같이 당업계에 공지된 화학적 합성법으로 제조된 것, 또는 상업적으로 판매되는 것을 사용할 수 있다.

[0054] 상기 "수화물(hydrate)"은 비공유적 분자간력(non-covalent intermolecular force)에 의해 결합된 화학양론적(stoichiometric) 또는 비화학양론적(nonstoichiometric) 량의 물을 포함하고 있는 본 발명의 화합물 또는 그것의 염을 의미한다.

[0055] 상기 "용매화물(solvate)"은 비공유적 분자간력에 의해 결합된 화학양론적 또는 비화학양론적 량의 용매를 포함하고 있는 본 발명의 화합물 또는 그것의 염을 의미한다. 그에 관한 바람직한 용매들로는 휘발성, 비독성, 및/또는 인간에게 투여되기에 적합한 용매들이다.

[0056] 상기 "이성질체(isomer)"는, 동일한 화학식 또는 분자식을 가지지만 광학적 또는 입체적으로 다른 본 발명의 화합물 또는 그것의 염을 의미한다.

[0057] 상기 "프로드럭(prodrug)"은 생체 내에서 모 약제(parent drug)로 변형되는 물질을 의미한다. 프로드럭은, 몇몇 경우에 있어서, 모 약제보다 투여하기 쉽기 때문에 종종 사용된다. 예를 들어, 이들은 구강 투여에 의해 생활성을 얻을 수 있음에 반하여, 모 약제는 그렇지 못할 수 있다. 프로드럭은 또한 모 약제보다 제약 조성물에서 향상된 용해도를 가질 수도 있다. 예를 들어, 프로드럭은, 수용해도가 이동성에 해가 되지만, 일단 수용해도가 이로운 세포에서는, 물질대사에 의해 활성체인 카르복실산으로 가수분해되는, 세포막의 통과를 용이하게 하는 에스테르("프로드럭")로서 투여되는 화합물일 것이다. 프로드럭의 또 다른 예는 펩티드가 활성 부위를 드러내도록 물질대사에 의해 변환되는 산기에 결합되어 있는 짧은 펩티드(폴리아미노산)일 수 있다.

[0059] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 소라페닙과 DDC가 단일 조성물 (single composition)의 형태로 제제화되거나 또는 개별적인 조성물(separate composition)의 형태로 제제화될 수 있다. 이들을 제제화하는 방법은 당업계에서 범용되는 공지의 기술을 이용할 수 있다.

[0060] 상기 소라페닙은 DDC(diethyldithiocarbamate)와 동시에(simultaneous), 개별적으로(separate) 또는 순차적(seqeuntial)으로 투여되는 것일 수 있다.

[0061] 본원 발명의 유효성분인 소라페닙과 DDC는 하나의 의약 제제에 함께 포함되어 동시에 같은 투여부위를 통해 투여될 수 있고; 또는 개별적인 제제로서 제공되어 서로 같은 투여 부위를 통해 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있으며; 또는 개별적인 제제로서 제공되어 서로 다른 투여 부위를 통해 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있다.

[0062] 구체적으로 '동시에' 투여란 상기 두 유효성분을 함께 동일한 투여 경로를 통하여 투여하거나, 또는 실질적으로 동일한 시간(예를 들어 투여 시간 간격이 15분 또는 그 이하)에 각각 동일 또는 상이한 투여 경로를 통하여 투여하는 것을 의미하는 것이다. 상기 '개별적으로'투여란 상기 두 유효 성분을 일정 시간 간격을 두고 동일 또는 상이한 투여 경로를 통하여 투여하는 것을 의미한다. 상기 '순차적으로'투여란 환자의 질환 상태에 따라 상기 두 유효성분을 일정한 선후 규칙을 가지고 동일 또는 상이한 투여경로를 통하여 투여하는 것을 의미한다. 상기 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여 순서 즉, 어떤 것을 어느 시점에서, 동시에, 개별적 또는 순차적으로 투여할 것인지의 여부는 의사나 전문가에 의해 결정될 수 있다. 이러한 투여 순서는 많은 인자에 따라 달라질 수 있다.

[0064] 투여 경로로는 경구적 또는 비경구적으로 투여될 수 있다. 다양한 경로로 투여될 수 있다. 당업자에게 있어서 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 이에 제한되지 않으나, 예를 들면, 경구 복용, 피하 주사, 복강 투여, 정맥 주사, 근육 주사, 척수 주위 공간(경막내) 주사, 설하 투여, 볼점막 투여, 직장 내 삽입, 질 내 삽입, 안구 투여, 귀 투여, 비강 투여, 흡입, 입 또는 코를 통한 분무, 피부 투여, 경피 투여 등에 따라 투여될 수 있다.

[0066] 본 발명에 따른 약학적 조성물은, 약학적으로 유효한 양의 소라페닙과 DDC만을 포함하거나, 추가적으로 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다. 상기 '약학적으로 유효한 양'이란 음성 대조군에 비해 그 이상의 반응을 나타내는 양을 말하며, 바람직하게는 B형 간염 유래 간세포암을 치료 또는 예방하는데 충분한 양을 의미하는 것이다.

[0067] 구체적으로 본 발명의 약학적 조성물에 유효성분으로 포함되는 소라페닙의 약학적으로 유효한 양으로는 일일 투여용량이 6 내지 15 mg/day/체중kg으로 투여되는 양인 것을 특징으로 한다.

[0068] 구체적으로 본 발명의 약학적 조성물에 유효성분으로 포함되는 DDC의 약학적으로 유효한 양으로는 일일 투여용량이 300 내지 1,125 mg/day/체중kg 으로 투여되는 양인 것을 특징으로 한다.

[0070] 본 발명에서 'B형 간염 유래 간세포암' 질환은 B형 간염 바이러스(Hepatitis B virus; HBV)로부터 유발된 간염 환자에서 발생된 간암을 의미하는 것으로, 더욱 바람직하게는 HBV 양성 간암을 의미하는 것일 수 있다. 따라서 상기 질환은 'B형 간염 바이러스 유래 간암'으로도 칭해질 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0072] 본 발명의 약학적 조성물에서 상기 소라페닙과 DDC는 1 : 200 내지 300의 몰농도비로 포함(배합)되는 것을 특징으로 할 수 있다. 상기 비(몰농도비)로 인하여, 본 발명에서 목적하는 특이적 상승효과 효과가 현저하게 나타나며, 상기 약물들의 과다복용 또는/및 장기간 투여에 따른 부작용을 감소시킬 수 있는 이점을 가진다. 본 발명의 일 실시양태에서, 본 발명의 약학적 조성물 중 상기 소라페닙과 DCC는 1: 200 내지 295, 1: 200 내지 290, 1: 200 내지 285, 1: 200 내지 280, 1: 200 내지 275, 1: 200 내지 270, 1: 200 내지 265, 1: 200 내지 260, 1: 200 내지 255, 1: 200 내지 250, 1: 200 내지 245, 1: 200 내지 240, 1: 200 내지 235, 1: 200 내지 230, 1: 200 내지 225, 1: 200 내지 220, 1: 200 내지 215, 1: 200 내지 210, 1 : 205 내지 300, 1 : 210 내지 300, 1 : 215 내지 300, 1 : 220 내지 300, 1 : 225 내지 300, 1 : 230 내지 300, 1 : 235 내지 300, 1 : 240 내지 300, 1 : 245 내지 300, 1 : 250 내지 300, 1 : 255 내지 300, 1 : 260 내지 300, 1 : 265 내지 300, 1 : 270 내지 300, 1 : 275 내지 300, 1 : 280 내지 300, 1 : 285 내지 300, 1 : 290 내지 300, 1: 205 내지 295, 1: 210 내지 290, 1: 215 내지 285, 1: 220 내지 280, 1: 225 내지 275, 1: 230 내지 270, 1: 235 내지 265, 1: 240 내지 260, 1: 245 내지 255, 1: 210 내지 280, 1: 210 내지 270, 1: 210 내지 260, 1: 210 내지 250, 1:

210 내지 240, 1: 210 내지 230, 1: 220 내지 290, 1: 220 내지 270, 1: 220 내지 260, 1: 220 내지 250, 1: 220 내지 240, 1: 220 내지 230, 1: 230 내지 290, 1: 230 내지 280, 1: 230 내지 260, 1: 230 내지 250, 또는 1: 230 내지 240 의 몰농도비로 배합되는 것일 수 있다.

[0074] 소라페닙과 DDC의 병용비율, 투여용량 및 투여시기는 환자의 통증정도, 약물에 대한 환자의 감수성, 부작용 등을 고려하여 본 발명의 상기 범위 내에서 통상의 기술자가 선택하여 투여할 수 있다.

[0076] 본 명세서에서, 본 발명의 다양한 양상 또는 특징들이 범위 형식으로 제안될 수 있다. 본 명세서에서 범위 값의 기재는, 별다른 언급이 없는 한 해당 경계값을 포함하는 것으로서 즉, 하한값 이상 내지 상한값 이하의 값 을들 모두 포함하는 의미이다. 범위 형식의 서술은 단순히 편의성 및 간략성을 위한 것이며, 본 발명의 범위에 대한 융통성 없는 제한 (inflexible limitation)으로서 해석되지 않아야 하는 것으로 이해되어야 한다. 따라서, 범위의 서술은 상기 범위 내의 개별적인 수치값들 뿐만 아니라 모든 가능한 하부범위(subrange)를 구체적으로 개시한 것으로 고려되어야 한다. 예를 들어, 1 내지 6과 같은 범위의 서술은 상기 범위 내의 개별적 수치들, 예를 들어, 1, 2, 2.7, 3, 4, 5, 5.3, 및 6뿐만 아니라, 1 내지 3, 1 내지 4, 1 내지 5, 2 내지 4, 2 내지 6, 3 내지 6 등과 같은 하부범위들을 구체적으로 개시한 것으로 간주되어야 한다. 이는 범위의 폭과 무관하게 적용된다.

[0078] 한편, 소라페닙과 DDC가 단일제제로 병용 투여가 될 경우에는 1일 투여량의 각 성분의 양을 이용해 배합 비율을 적절하게 선택한 조성물(제제)를 조제하여, 그 배합 제제를 1일에 1회 또는 수회로 나누어 투여할 수 있다.

[0080] 그러나 상기 약학적으로 유효한 양은 질환 및 이의 중증 정도, 환자의 연령, 체중, 건강상태, 성별, 투여 경로 및 치료기간 등과 같은 여러 인자에 따라 적절히 변화할 수 있다. 일례로 인간 환자에게 투여되는 경우, 본 발명에 따른 조성물의 총 1일 사용량은 의학적 판단 범위 내에서 처치에 의해 결정될 수 있다. 특정 환자에 대한 구체적인 치료적 유효량은 달성하고자 하는 반응의 종류와 정도, 경우에 따라 다른 제제가 사용되는지의 여부, 환자의 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별, 식이, 투여 시간, 투여 경로, 조성물의 분비율, 치료 기간을 비롯한 다양한 인자와 의약 분야에 잘 알려진 유사 인자에 따라 다르게 적용하는 것이 바람직하다.

[0082] 본 발명에 따른 약학적 조성물은, 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다. 상기 담체로는 모든 종류의 용매, 분산매질, 수중유 또는 유중수 에멀젼, 수성 조성물, 리포좀, 마이크로비드 및 마이크로좀이 포함된다.

[0083] 상기 부형제는 예를 들어, 희석제, 결합제, 붕해제, 활택제, 흡착제, 보습제, 필름-코팅 물질, 및 제어방출첨가제로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다.

[0084] 본 발명에 따른 약학적 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 서방형 과립제, 장용과립제, 액제, 점안제, 엘실릭제, 유제, 현탁액제, 주정제, 트로키제, 방향수제, 리모나아데제, 정제, 서방형정제, 장용정제, 설하정, 경질캅셀제, 연질캅셀제, 서방캅셀제, 장용캅셀제, 환제, 틴크제, 연조엑스제, 건조엑스제, 유동엑스제, 주사제, 캡슐제, 관류액, 경고제, 로션제, 파스타제, 분무제, 흡입제, 패취제, 멸균주사용액, 또는 에어로졸 등의 외용제 등의 형태로 제형화하여 사용될 수 있으며, 상기 외용제는 크림, 젤, 패치, 분무제, 연고제, 경고제, 로션제, 리니멘트제, 파스타제 또는 카타플라스마제 등의 제형을 가질 수 있다.

[0085] 본 발명에 따른 약학적 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 올리고당, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다.

[0087] 경구 투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 추

출물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다.

[0088] 경구 투여를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜 (propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다.

[0090] 또한, 본 발명에 따른 조성물은 비경구 투여를 위한 제제로 제형화될 수도 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 멸균된 수용액으로는 한스 용액(Hank's solution), 링거 용액 (Ringer' solution) 또는 물리적으로 완충된 염수와 같은 적절한 완충 용액을 이용할 수 있으며, 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 이용될 수 있다. 필요에 따라 방부제, 안정화제, 습윤제 또는 유화제, 삼투압 조절을 위한 염 및/또는 완충제를 이용할 수도 있다. 한편, 좌제의 경우에는 이의 통상적인 기제인 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0092] 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다.

[0093] 본 발명에 따른 정제, 산제, 과립제, 캡슐제, 환제, 트로키제의 첨가제로 옥수수전분, 감자전분, 밀전분, 유당, 백당, 포도당, 과당, 디-만니톨, 침강탄산칼슘, 합성규산알루미늄, 인산일수소칼슘, 황산칼슘, 염화나트륨, 탄산수소나트륨, 정제 라놀린, 미결정셀룰로오스, 덱스트린, 알긴산나트륨, 메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스나트륨, 카올린, 요소, 콜로이드성실리카겔, 히드록시프로필스타치, 히드록시프로필메칠셀룰로오스(HPMC) 1928, HPMC 2208, HPMC 2906, HPMC 2910, 프로필렌글리콜, 카제인, 젖산칼슘, 프리모젤 등 부형제; 젤라틴, 아라비아고무, 에탄올, 한천가루, 초산프탈산셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스칼슘, 포도당, 정제수, 카제인나트륨, 글리세린, 스테아린산, 카르복시메칠셀룰로오스나트륨, 메칠셀룰로오스나트륨, 메칠셀룰로오스, 미결정셀룰로오스, 덱스트린, 히드록시셀룰로오스, 히드록시프로필스타치, 히드록시메칠셀룰로오스, 정제셸락, 전분호, 히드록시프로필셀룰로오스, 히드록시프로필메칠셀룰로오스, 폴리비닐알코올, 폴리비닐피롤리돈 등의 결합제가 사용될 수 있으며, 히드록시프로필메칠셀룰로오스, 옥수수전분, 한천가루, 메칠셀룰로오스, 벤토나이트, 히드록시프로필스타치, 카르복시메칠셀룰로오스나트륨, 알긴산나트륨, 카르복시메칠셀룰로오스칼슘, 구연산칼슘, 라우릴황산나트륨, 무수규산, 1-히드록시프로필셀룰로오스, 덱스트란, 이온교환수지, 초산폴리비닐, 포름알데히드처리 카제인 및 젤라틴, 알긴산, 아밀로오스, 구아르고무(Guar gum), 중조, 폴리비닐피롤리돈, 인산칼슘, 겔화전분, 아라비아고무, 아밀로펙틴, 펙틴, 폴리인산나트륨, 에칠셀룰로오스, 백당, 규산마그네슘알루미늄, 디-소르비톨액, 경질무수규산 등 붕해제; 스테아린산칼슘, 스테아린산마그네슘, 스테아린산, 수소화식물유(Hydrogenated vegetable oil), 탈크, 석송자, 카올린, 바셀린, 스테아린산나트륨, 카카오지, 살리실산나트륨, 살리실산마그네슘, 폴리에칠렌글리콜 4000, 6000, 유동파라핀, 수소첨가대두유(Lubri wax), 스테아린산알루미늄, 스테아린산아연, 라우릴황산나트륨, 산화마그네슘, 마크로골(Macrogol), 합성규산알루미늄, 무수규산, 고급지방산, 고급알코올, 실리콘유, 파라핀유, 폴리에칠렌글리콜지방산에테르, 전분, 염화나트륨, 초산나트륨, 올레인산나트륨, dl-로이신, 경질무수규산 등의 활택제;가 사용될 수 있다.

[0094] 본 발명에 따른 액제의 첨가제로는 물, 묽은 염산, 묽은 황산, 구연산나트륨, 모노스테아린산슈크로스류, 폴리옥시에칠렌소르비톨지방산 에스텔류(트윈에스텔), 폴리옥시에칠렌모노알킬에텔류, 라놀린에텔류, 라놀린에스텔류, 초산, 염산, 암모니아수, 탄산암모늄, 수산화칼륨, 수산화나트륨, 프롤아민, 폴리비닐피롤리돈, 에칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스나트륨 등이 사용될 수 있다.

[0095] 본 발명에 따른 시럽제에는 백당의 용액, 다른 당류 혹은 감미제 등이 사용 될 수 있으며, 필요에 따라 방향제, 착색제, 보존제, 안정제, 현탁화제, 유화제, 점조제 등이 사용될 수 있다.

[0096] 본 발명에 따른 유제에는 정제수가 사용될 수 있으며, 필요에 따라 유화제, 보존제, 안정제, 방향제 등이 사용

될 수 있다.

[0097] 본 발명에 따른 현탁제에는 아카시아, 트라가칸타, 메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스나트륨, 미결정셀룰로오스, 알긴산나트륨, 히드록시프로필메칠셀룰로오스, HPMC 1828, HPMC 2906, HPMC 2910 등 현탁화제가 사용될 수 있으며, 필요에 따라 계면활성제, 보존제, 안정제, 착색제, 방향제가 사용될 수 있다.

[0098] 본 발명에 따른 주사제에는 주사용 증류수, 0.9%염화나트륨주사액, 링겔주사액, 덱스트로스주사액, 덱스트로스+염화나트륨주사액, 피이지(PEG), 락테이티드 링겔주사액, 에탄올, 프로필렌글리콜, 비휘발성유-참기름, 면실유, 낙화생유, 콩기름, 옥수수기름, 올레인산에칠, 미리스트산 이소프로필, 안식향산벤젠과 같은 용제; 안식향산나트륨, 살리실산나트륨, 초산나트륨, 요소, 우레탄, 모노에칠아세트아마이드, 부타졸리딘, 프로필렌글리콜, 트윈류, 니정틴산아미드, 헥사민, 디메칠아세트아마이드와 같은 용해보조제; 약산 및 그 염(초산과 초산나트륨), 약염기 및 그 염(암모니아 및 초산암모니움), 유기화합물, 단백질, 알부민, 펩 톤, 검류와 같은 완충제; 염화나트륨과 같은 등장화제; 중아황산나트륨($NaHSO_3$), 이산화탄소가스, 메타중아황산나트륨($Na_2S_2O_3$), 아황산나트륨(Na_2SO_3), 질소가스(N_2), 에칠렌디아민테트라초산과 같은 안정제; 소디움비설파이드 0.1%, 소디움포름알데히드설폭실레이트, 치오우레아, 에칠렌디아민테트라초산디나트륨, 아세톤소디움비설파이트와 같은 황산화제; 벤질알코올, 클로로부탄올, 염산프로카인, 포도당, 글루콘산칼슘과 같은 무통화제; 시엠시나트륨, 알긴산나트륨, 트윈 80, 모노스테아린산알루미늄과 같은 현탁화제를 포함할 수 있다.

[0099] 본 발명에 따른 좌제에는 카카오지, 라놀린, 위텝솔, 폴리에틸렌글리콜, 글리세로젤라틴, 메칠셀룰로오스, 카르복시메칠셀룰로오스, 스테아린산과 올레인산의 혼합물, 수바날(Subanal), 면실유, 낙화생유, 야자유, 카카오버터+콜레스테롤, 레시틴, 라네트왁스, 모노스테아린산글리세롤, 트윈 또는 스판, 임하우젠(Imhausen), 모놀렌(모노스테아린산프로필렌글리콜), 글리세린, 아뎁스솔리두스(Adeps solidus), 부티룸 태고-G(Buytyrum Tego-G), 세베스파마 16 (Cebes Pharma 16), 헥사라이드베이스 95, 코토마(Cotomar), 히드록코테 SP, S-70-XXA, S-70-XX75(S-70-XX95), 히드록코테(Hydrokote) 25, 히드록코테 711, 이드로포스탈 (Idropostal), 마사에스트라리움(Massa estrarium, A, AS, B, C, D, E, I, T), 마사-MF, 마수폴,마수폴-15, 네오수포스탈-엔, 파라마운드-B, 수포시로(OSI, OSIX, A, B, C, D, H, L), 좌제기제 IV 타입 (AB, B, A, BC, BBG, E, BGF, C, D, 299), 수포스탈 (N, Es), 웨코비 (W, R, S, M ,Fs), 테제스터 트리글리세라이드 기제 (TG-95, MA, 57) 와 같은 기제가 사용될 수 있다.

[0101] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 본 발명의 효과를 보이는 한 그 제형, 투여 경로 및 투여 방법에 특별히 제한되지 아니한다.

[0102] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에 있어서, 상기"약학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다.

[0104] 또한 본 발명은 상기 약학적 조성물을 포함하는 B형 간염 유래 간세포암의 예방 또는 치료용 약학적 복합 제제를 제공한다.

[0106] 본 발명의 상기 약학적 복합 제제는 투여 방법과 투여 경로에 따라, 구성요소인 소라페닙과 DDC가 하나의 제형에 동시에 포함되도록 제형화될 수도 있고, 상기 각 구성요소가 개별적으로 제형화되어 일일 또는 일회 등의 투여 단위에 따라 하나의 포장에 포함될 수 있다. 개별적으로 제형화된 소라페닙과 DDC의 제형은 동일할 수도 있고 그렇지 않을 수도 있다. 본 발명의 약학적 복합 제제의 구체적인 종류와 제형화 방법 및 제형에 포함될 수 있는 약학적으로 허용가능한 담체는 상기 약학적 조성물에서 전술한 바와 같다. 본 발명의 상기 조성물 또는 제제는, 이에 제한되지 않으나 바람직하게 경구제일 수 있다.

[0108] 본 발명에 따른 약학적 복합 제제의 구성요소인 소라페닙과 DDC는 동시에 또는 개별적으로 또는 정해진 순서에

따라(순차적으로) 투여할 수 있다. 상기 복합 제제는 일일 투여량이 일회 투여량에 모두 포함되도록 제형화될 수 있지만, 하루에 2, 3, 4회 등으로 나누어 투여하도록 제형화될 수 있다.

[0110] 본 발명의 약학적 복합 제제의 바람직한 투여량은 질환 및 이의 중증 정도, 환자의 연령, 체중, 건강상태, 성별, 투여 경로 및 치료기간 등과 같은 여러 인자에 따라 적절히 변화할 수 있다. 약학적 유효성분의 생물학적 이용가능성(bioavailability)은 개인차가 있기 때문에 본 발명의 약학적 제제 투여 초기에는 당업계에 알려져 있는 단일 클론 항체(monoclonal antibody) 등에 기반한 어세이로 각 약물의 혈중 농도를 확인하는 것이 바람직할 수 있다.

[0112] 본 발명에서 "개체"란 질병의 치료를 필요로 하는 대상을 의미하고, 보다 구체적으로는 인간 또는 비-인간인 영장류, 생쥐 (mouse), 쥐 (rat), 개, 고양이, 말, 및 소 등의 포유류일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0113] 본 발명에서 "예방"이란 목적하는 질환의 발병을 억제하거나 지연시키는 모든 행위를 의미하고, "치료"란 목적하는 질환과 그에 따른 대사 이상 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행 위를 의미하며, "개선"이란 본 발명에 따른 조성물의 투여에 의해 목적하는 질환과 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도를 감소시키는 모든 행위를 의미한다.

[0115] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예 및 실험예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예 및 실험예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 하기 실시예 및 실험예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[0117] **실시예 1. in vitro B형 간염 유래 간세포암 질환 모델에서, 소라페닙 및 DDC 병용투여의 암세포 사멸에 대한 상승효과 확인**

[0118] B형 간염 유래 간세포암 세포주에서 소라페닙 및 DDC 병용투여의 암세포 사멸 효과 확인 실험을 위하여, 한국과학기술원(KAIST)에서 제공받은 B형 간염 바이러스 감염 간세포암 세포주인 HepG2.2.15를 사용하여 실험을 진행하였다.

[0119] 구체적으로, HepG2.2.15는 간세포암 세포주인 HepG2에 B형 간염 바이러스가 감염된 세포주로서 페니실린, 스프렙토마이신 및 10% 우태아 혈청 FBS (Fetal bovine serum)이 포함된 배지에서 5% 이산화탄소, 37℃세포배양기에서 배양하였다.

[0121] **1-1. in vitro B형 간염 유래 간세포암 세포주에서, 소라페닙 및 DDC 병용투여에 따른 간세포암 세포 사멸 확인**

[0122] 소라페닙 및 DDC를 처리하기 전, 커버 슬라이드가 놓인 24-well 플레이트에 HepG2.2.15 세포를 well 당 1×10^5 개 세포로 분주하여 24시간 동안 배양하였다. 이후 각 well에, 각 실험 그룹에 맞게 소라페닙 단독, DDC 단독, 또는 소라페닙과 DDC를 병용처리 하고 24시간 동안 유지한 뒤, 암세포 사멸 효과에 관한 분석을 진행하였다. 이때 소라페닙은 3.5μM의 농도로 사용하였고, DDC는 1mM 농도로 처리하였다. 병용처리 시에도 상기 농도를 동일하게 사용하였다.

[0123] Annexin V-FITC와 DAPI 형광 염색을 위하여, 각 세포는 24시간 동안 각 실험그룹에 맞게 소라페닙 단독, DDC 단독, 또는 소라페닙과 DDC가 병용처리 된 후에, 배지를 제거하고, PBS로 1회 세척하여 annexin V-FITC 시약을 30분간 처리하였다. 이후, PBS로 세척하고 DAPI가 함유된 마운팅 용액을 사용하여 슬라이드를 제작한 뒤 형광 현미경을 이용하여 촬영하였다.

[0124] 실험결과, 도 1에 나타낸 바와 같이, 소라페닙 단독 처리군 또는 DDC 단독 처리 투여군에서는 암세포 사멸 효과가 15% 혹은 46% 수준으로 미미하였으나, 소라페닙과 DDC 병용처리 군에서는 87% 수준으로 암세포 사멸효과가 매우 뛰어난 것을 확인하였다.

[0125] 즉, 상기 결과를 통해 소라페닙 및 DDC의 병용투여가 B형 간염 유래 간세포암 세포 사멸에 있어서 현저한 상승

효과(synergy)를 지님을 확인하였다.

[0127] **1-2. in vitro B형 간염 유래 간세포암 세포주에서, 소라페닙 및 DDC 병용투여에 따른, 상기 질환 관련 주요 유전자 발현 감소에 대한 시너지 효과 확인**

[0128] HepG2.2.15 세포를 6-well 플레이트에 well 당 1.5 x 10^6개의 세포로 분주하여 24시간 동안 배양하였다. 이후 각 well에, 각 실험 그룹에 맞게 소라페닙 단독, DDC 단독, 또는 소라페닙과 DDC를 병용처리 하였다. 이때 소라페닙은 3.5μM의 농도로 사용하였고, DDC는 1mM 농도로 처리하였다. 병용처리 시에도 상기 농도를 동일하게 사용하였다. 24시간 동안 유지한 뒤, 배지를 제거하고, 제조사의 지침에 따라 총 RNA를 추출하였다(RNeasy Plus Mini Kit, Cat #74136, Qiagen). qRT-PCR을 이용하여, B형 간염 유래 간세포암 관련 주요 유전자 발현 수준을 비교하였다(CFX Connect Real-time PCR Detection System, BIO-RAD). qRT-PCR에 사용한 프라이머 서열 정보는 하기 표 1과 같다.

표 1

[0129]

Primer		sequence (5'-3')
SOD1	Forward (서열번호 1)	GAGCAGAAGGAAAGTAATGG
	Reverse (서열번호 2)	GATTAAAGTGAGGACCTGC
HBx	Forward (서열번호 3)	ACTCTCTCGTCCCCTTCTCC
	Reverse (서열번호 4)	GTTCACGGTCTCCATG
cccDNA	Forward (서열번호 5)	CTCCCCGTCTGCCTTCT
	Reverse (서열번호 6)	GCCCAAAGCACCCAAG
GAPDH	Forward (서열번호 7)	GAGTCAACGGATTTGGTCGT
	Reverse (서열번호 8)	TTGATTTTGGAGGGATCTCG

[0130] 실험결과, 도 2에 나타낸 바와 같이, 소라페닙 단독 투여군과 DDC 단독 투여군에서는 SOD1((Superoxide Dismutase 1) 유전자 발현 수준이 음성 대조군과 비교하여 35 내지 40% 정도의 감소효과가 있을 뿐이었으나. 소라페닙과 DDC의 병용 투여에 의해서 SOD1 억제 수준이 75% 이상 현저히 커진 것을 확인하였다.

[0132] 또한 도 3에 나타낸 바와 같이, B형 간염 유래 간세포암 질환의 발병에서 중요한 역할을 하는 HBx(hepatitis B virus X) 유전자 발현의 경우, 소라페닙 단독 처리 군에서는 음성 대조군과 비교하여 48% 정도의 감소효과가 있을 뿐이었고, DDC 단독 투여군에서는 HBx 유전자 발현 수준이 음성 대조군과 같은 수준으로 나타나 전혀 효과가 없는 것으로 확인되었다. 반면 소라페닙과 DDC의 병용 투여에 의해서 HBx 유전자의 발현 수준이 70% 이상 감소되어, 상기 각 물질의 단독 투여시보다 현저하게 감소되는 것을 확인하였다. 이로서, 간세포암 질환의 발병에서 중요한 역할을 하는 HBx 유전자의 발현 억제에 대해 소라페닙과 DDC 병용투여가 특이적으로 현저한 상승 효과(synergy)를 지님을 확인하였다.

[0134] 그리고 도 4에 나타낸 바와 같이, 간 조직 내 B형 간염 바이러스 cccDNA(covalently closed circular DNA) 존재 정도를 비교한 결과, 소라페닙 단독 처리 군에서는 음성 대조군과 비교하여 50% 정도의 감소효과가 있을 뿐이었고 DDC 단독 투여군에서는 ccDNA 발현 감소 수준이 음성대조군과 비교하여 유의미하지 못했다. 반면 소라페닙과 DDC의 병용 투여에 의해서 상기 cccDNA의 수준이 75% 이상 감소되어 상기 각 물질의 단독 투여시보다 현저하게 감소되는 것을 확인하였다.

[0135] B형 간염 유래 간세포암에 있어서, HBV(Hepatitis B virus)가 간세포 내로 침투하면 세포핵 내에 cccDNA(covalently closed circular DNA)를 형성하는데, 일단 형성된 cccDNA는 HBV 게놈 DNA 복제를 위한 주형으로 사용되어, 해당 간세포의 수명이 다 할 때까지 계속해서 HBV를 생산하게 되는 것으로 알려져 있다. B형 간염 유래 간세포암에 있어서 간 조직 내 cccDNA의 수준을 억제하는 것은 B형 간염 바이러스 감염 및 이에 의한 간질환(특히, B형 간염 유래 간세포암)의 재발을 예방하는 효과가 있음을 시사한다. 따라서 본 발명에 의하면 소라페닙과 DDC의 병용 투여가, B형 간염 유래 간세포암의 치료적 측면에서 뿐만 아니라 재발 예방 측면에서도 현저한 상승 효과(synergy)를 가져 매우 좋은 치료 방법임을 확인하였다.

[0137] **실시예 2. in vivo B형 간염 유래 간세포암 질환 동물 모델에서, 소라페닙 및 DDC 병용투여에 따른, 간세포암 조직 감소의 시너지 효과 확인**

[0138] B형 간염 유래 간세포암 동물 모델 구축을 위하여 자바이오(JA BIO, Inc)를 통해 8주령 NRG (NOD-Rag2$^{-/-}$Il2rg$^{-/-}$) 면역결핍마우스를 구입하였다. 일주일 동안 안정화 작업을 거친 마우스를 마취하고 개복하여 마리 당 1 x 10^5개의 HepG2.2.15 세포를 10% 마트리젤을 포함한 PBS와 함께 간실질에 주사하여 마우스 간에 종양을 형성시켰다. 6주 동안 간 내 종양을 생장시킨 뒤, 3주 동안 시험물질(소라페닙 단독, DDC 단독, 또는 소라페닙과 DDC를 병용처리; 이때 소라페닙은 15 mg/day/체중kg으로 사용하였고, DDC는 750 mg/day/체중kg 으로 처리하였다. 병용처리 시에도 상기 용량(농도)를 동일하게 사용하였다. 음성 대조군에는 PBS만 투여되었다.)을 경구 투여하며 매일 몸무게의 변화를 측정하였다. 경구투여를 마친 마우스를 희생하여, 간 조직을 획득하였다.

[0140] 실험결과, 도 5 및 도 6에서 나타낸 바와 같이, 소라페닙 단독 투여군 또는 DDC 단독 투여군과 비교하여, 소라페닙과 DDC 병용투여 군에서 B형 간염 유래 간세포암의 크기가 정상 마우스(Healthy control) 수준으로 현저히 감소된 것을 확인하였다. 구체적으로 소라페닙 단독 투여군에서는 간암 대조군(HCC control)과 비교하여 종양의 크기가 70% 정도 감소하였다. 또한 DDC 단독 투여군의 마우스 간에서는 종양의 크기가 50% 정도로 감소하였을 뿐이나, 소라페닙과 DDC 병용투여 군에서는 종양의 크기가 간암 대조군 대비 90% 이상 감소한 것을 확인하였다. 이로써 B형 간염 유래 간세포암의 치료에 있어서, 소라페닙과 DDC 병용투여가 현저한 상승 효과(synergy)를 지님을 확인하였다.

[0142] **실시예 3. B형 간염 유래 간세포암의 치료에 있어서, 소라페닙 및 DDC 병용투여 시 약물 사용 용량 감소 가능함을 확인**

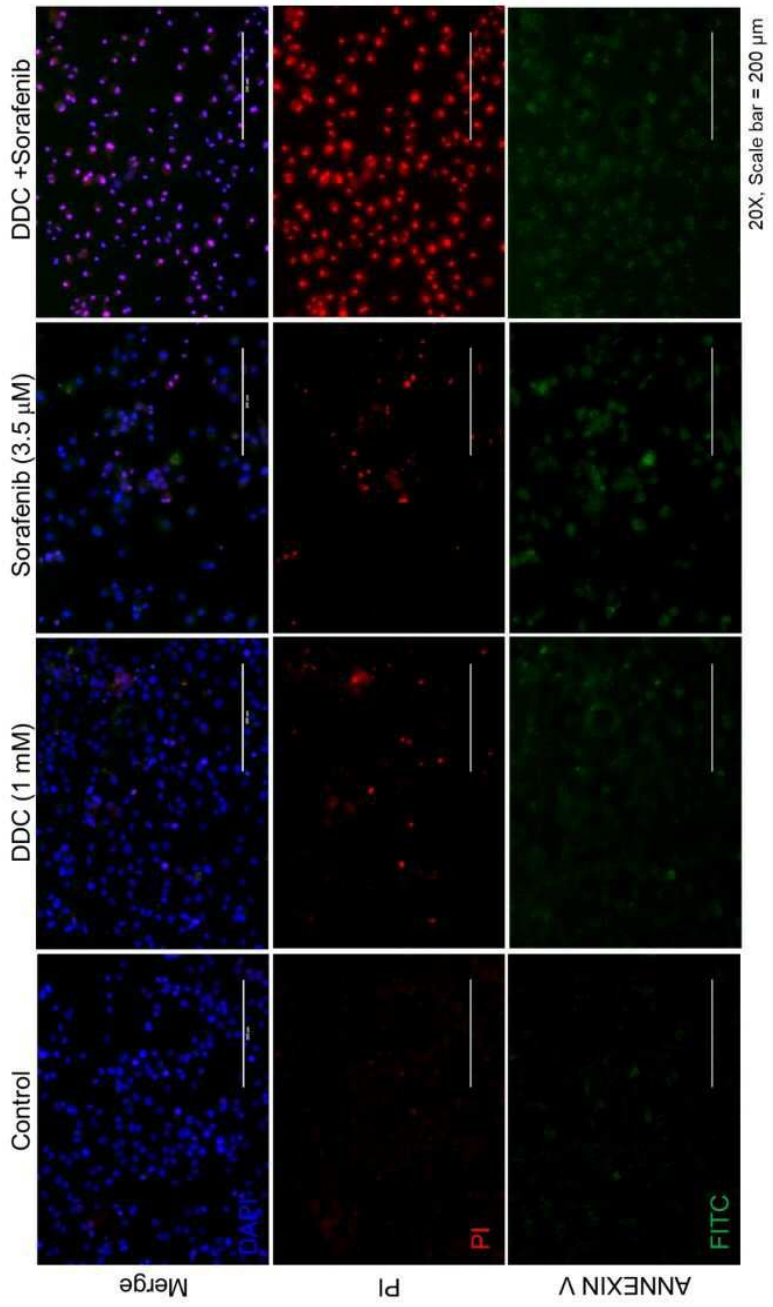
[0143] HepG2.2.15 세포를 96-well 플레이트에 well 당 2 x 10^4개의 세포로 분주하여 24시간 동안 배양하였다. 이후 각 well에, 각 실험 그룹에 맞게 소라페닙 단독, DDC 단독, 또는 소라페닙과 DDC를 병용처리 하고 WST-8 시약으로 IC_{50}(세포가 반 이상 죽는 농도)을 측정하였다.

[0145] 실험결과 대표적 일례로 도 7에서 나타낸 바와 같이, 소라페닙 및 DDC 병용투여에 있어서, DDC 500㎛M 투여 시 B형 간염 유래 간세포암에서의 IC_{50}(세포가 반 이상 죽는 농도)은 소라페닙 2.448 ㎛M 이었다. DDC를 투여하지 않은 경우에 B형 간염 유래 간세포암에서의 IC_{50}이 소라페닙 3.173 ㎛M인 것과 비교하여, 소라페닙과 DDC의 병용투여 시에는 소라페닙의 투여 농도를 더 작은 용량으로 사용 함으로서 약물 부작용을 줄일 수 있음을 시사한다.

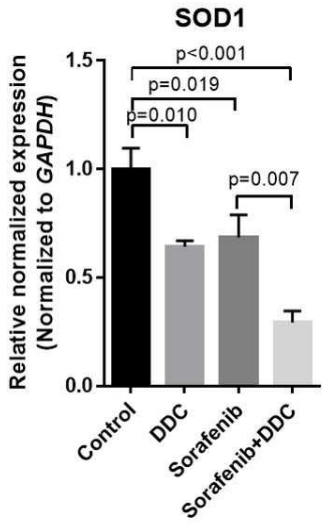
[0147] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

도면

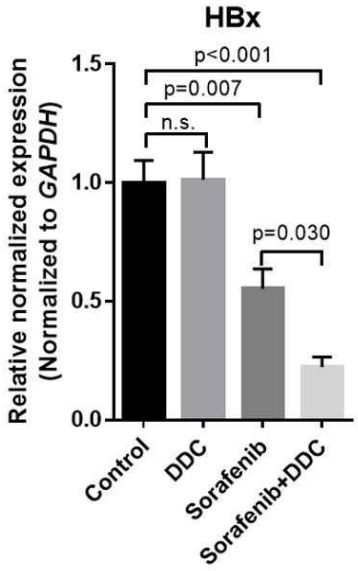
도면1


Control
DDC (1 mM)
Sorafenib (3.5 μM)
DDC +Sorafenib
20X, Scale bar = 200 μm
DAPI
PI
FITC
Merge
PI
ANNEXIN V

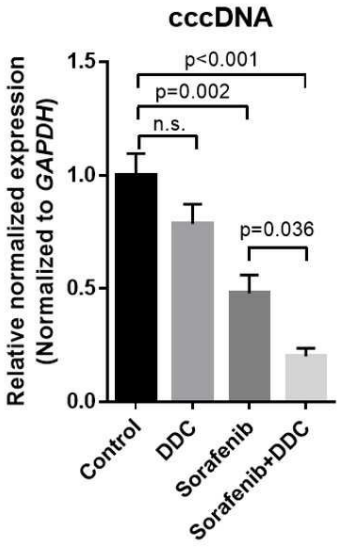
도면2


SOD1
Relative normalized expression
(Normalized to GAPDH)
1.5
1.0
0.5
0.0
p<0.001
p=0.019
p=0.010
p=0.007
Control
DDC
Sorafenib
Sorafenib+DDC

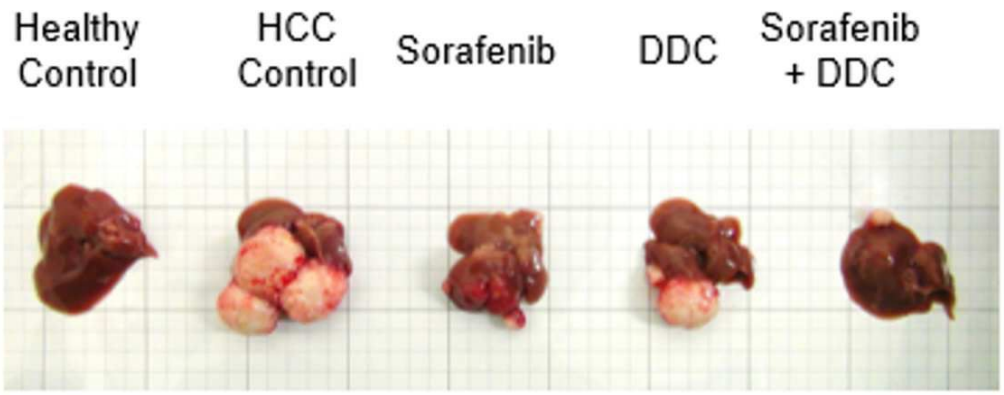
도면3


HBx
Relative normalized expression
(Normalized to GAPDH)
1.5
1.0
0.5
0.0
p<0.001
p=0.007
n.s.
p=0.030
Control
DDC
Sorafenib
Sorafenib+DDC

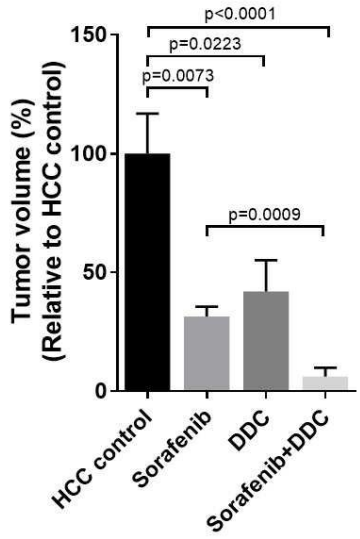
도면4


cccDNA
Relative normalized expression
(Normalized to GAPDH)
1.5
1.0
0.5
0.0
p<0.001
p=0.002
n.s.
p=0.036
Control
DDC
Sorafenib
Sorafenib+DDC

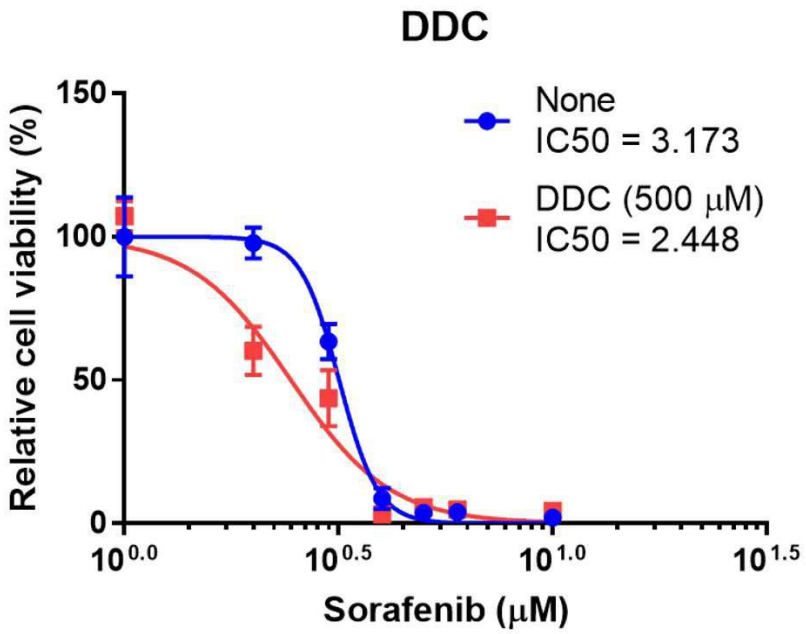
도면5


Healthy Control
HCC Control
Sorafenib
DDC
Sorafenib + DDC

도면6


Tumor volume (%)
(Relative to HCC control)
150
100
50
0
p<0.0001
p=0.0223
p=0.0073
p=0.0009
HCC control
Sorafenib
DDC
Sorafenib+DDC

도면7



서 열 목 록

<110> THE ASAN FOUNDATION

University of Ulsan Foundation For Industry Cooperation

<120> Pharmaceutical composition comprising sorafenib and DDC for preventing or treating Hepatitis B-Associated hepatocellular carcinoma

<130> MP22-050

<160> 8

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Forward primer for SOD1

<400> 1

gagcagaagg aaagtaatgg 20

<210> 2

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Reverse primer for SOD1

<400> 2

gattaaagtg aggacctgc 19

<210> 3

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Forward primer for Hbx

<400> 3

actctctcgt ccccttctcc 20

<210> 4

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Reverse primer for Hbx

<400> 4

gttcacggtc tccatg 16

<210> 5

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Forward primer for cccDNA

<400> 5

ctccccgtct gccttct 17

<210> 6

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Reverse primer for cccDNA

<400> 6

gcccaaagca cccaag 16

<210> 7

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Forward primer for GAPDH

<400> 7

gagtcaacgg atttggtcgt 20

<210> 8

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Reverse primer for GAPDH

<400> 8

ttgattttgg agggatctcg 20