



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년09월26일  
(11) 등록번호 10-2025679  
(24) 등록일자 2019년09월20일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*A61K 31/519* (2006.01) *A61K 31/7088* (2006.01)  
*A61K 31/7115* (2006.01) *A61K 38/17* (2006.01)  
*A61K 39/42* (2006.01) *A61K 47/50* (2017.01)  
*A61K 9/00* (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
*A61K 31/519* (2013.01)  
*A61K 31/7088* (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2017-7032724(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2013년05월17일  
 심사청구일자 2018년05월17일
- (85) 번역문제출일자 2017년11월10일
- (65) 공개번호 10-2017-0127578
- (43) 공개일자 2017년11월21일
- (62) 원출원 특허 10-2015-7007858  
 원출원일자(국제) 2013년05월17일  
 심사청구일자 2015년04월06일
- (86) 국제출원번호 PCT/CA2013/050377
- (87) 국제공개번호 WO 2014/032176  
 국제공개일자 2014년03월06일
- (30) 우선권주장  
 61/695,040 2012년08월30일 미국(US)  
 61/703,816 2012년09월21일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌  
 WO2012021985 A1\*  
 CA2746981 A1\*  
 Journal of Clinical Virology. 2012. Vol.54, pp.93-95.\*  
 \*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

전체 청구항 수 : 총 12 항

심사관 : 허명숙

(54) 발명의 명칭 B형 간염 및 D형 간염 감염증의 치료 방법

**(57) 요약**

치료를 필요로 하는 대상자에게 혈액으로부터 B형 간염 표면 항원을 제거하는 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제 및 면역 기능을 자극하는 제2의 약제학적으로 허용가능한 제제를 투여함을 포함하는, HBV 감염 또는 HBV/HDV 공동 감염의 치료 방법이 기술된다.

**대 표 도** - 도1



(52) CPC특허분류

*A61K 31/7115* (2013.01)

*A61K 38/17* (2013.01)

*A61K 39/42* (2013.01)

*A61K 47/50* (2017.08)

*A61K 9/0019* (2013.01)

*A61K 9/0053* (2013.01)

*A61K 9/0073* (2013.01)

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

B형 간염 감염 또는 B형 간염/D형 간염의 공동 감염을 치료하기 위한, 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제 및 제2의 약제학적으로 허용가능한 제제를 포함하는 조성물로서,

상기 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제는 하기 분자들로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 분자를 포함하며:

- 서열번호 2, 서열번호 3 및 서열번호 10;
- 아래 핵산 중합체로부터 선택되는 핵산 중합체:

서열 AC의 반복체를 포함하는 20-120개의 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화 올리고뉴클레오타이드; 및

서열 CA의 반복체를 포함하는 20-120개의 뉴클레오타이드 길이의 포스포로티오에이트화 올리고뉴클레오타이드;

상기 제2의 약제학적으로 허용가능한 제제는 하기 분자로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 분자를 포함하는 것을 특징으로 하는, 조성물:

- 티모신  $\alpha$ 1;
- 폐길화 인터페론  $\alpha$ -2a;
- 폐길화 인터페론  $\alpha$ -2b;
- 폐길화 인터페론  $\lambda$ 1; 및
- 폐길화 인터페론  $\lambda$ 2.

#### 청구항 2

제1항에 있어서, 상기 핵산 중합체는

하나 이상의 2' 리보스 변형;

모두 2' 변형을 가진 리보스;

하나 이상의 2' 0 메틸 리보스 변형;

모두 2' 0 메틸 변형을 가진 리보스;

하나 이상의 5'메틸시토신;

모두 5'메틸시토신으로서 존재하는 시토신;

하나 이상의 2' 리보스 변형과 하나 이상의 5' 메틸시토신; 또는

모두 2' 0 메틸 변형을 가진 리보스와 모두 5'메틸시토신으로서 존재하는 시토신을 포함하도록 변형된 것을 특징으로 하는 조성물.

#### 청구항 3

제1항에 있어서, 상기 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제는 퀼레이트 캡슐로서 제형화되는 것을 특징으로 하는 조성물.

#### 청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 및 제2의 약제학적으로 허용가능한 제제가 동일한 약제학

적 조성물 형태로 제형화되는 것을 특징으로 하는 조성물.

### 청구항 5

제1항에 있어서, 상기 제1 및 제2 제제가 별도의 약제학적 조성물 형태로 각각 제형화되는 것을 특징으로 하는 조성물.

### 청구항 6

제1항에 있어서, 상기 제1 및 제2 제제가 동시에 투여용으로 제형화되는 것을 특징으로 하는 조성물.

### 청구항 7

제1항에 있어서, 상기 제1 및 제2 제제가 상이한 경로에 의한 투여용으로 제형화되는 것을 특징으로 하는 조성물.

### 청구항 8

제1항에 있어서, 상기 제1 및 제2 제제가 경구 섭취, 에어로졸 흡입, 피하 주사, 근육내 주사, 복강내 주사, 정맥내 주사 및 정맥내 주입 중 하나 이상을 사용하는 투여용으로 제형화되는 것을 특징으로 하는 조성물.

### 청구항 9

제1항에 있어서, 하기 화합물들로부터 선택되는 하나 이상의 화합물을 포함하는 제3의 약제학적으로 허용가능한 제제를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물:

- 테노포비르 디소프록실 푸마레이트;
- 엔테카비르;
- 텔부비딘;
- 아데포비르 디피복실; 및
- 라미부딘.

### 청구항 10

제1항에 있어서,

상기 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제가 서열번호 2 또는 서열번호 2의 올리고뉴클레오타이드 킬레이트 착물을 포함하며,

상기 제2의 약제학적으로 허용가능한 제제가 폐길화 인터페론  $\alpha$ -2a, 티모신  $\alpha$  1, 폐길화 인터페론  $\alpha$ -2b, 또는 폐길화 인터페론  $\lambda$  1을 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

### 청구항 11

제1항에 있어서,

상기 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제가 서열번호 3 또는 서열번호 3의 올리고뉴클레오타이드 킬레이트 착물을 포함하며,

상기 제2의 약제학적으로 허용가능한 제제가 폐길화 인터페론  $\alpha$ -2a, 티모신  $\alpha$  1, 폐길화 인터페론  $\alpha$ -2b, 또는 폐길화 인터페론  $\lambda$  1을 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

### 청구항 12

제1항에 있어서,

상기 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제가 서열번호 10 또는 서열번호 10의 올리고뉴클레오타이드 킬레이트 착물을 포함하며,

상기 제2의 약제학적으로 허용가능한 제제가 폐길화 인터페론  $\alpha$ -2a, 티모신  $\alpha$  1, 폐길화 인터페론  $\alpha$ -2b, 또는

폐길화 인터페론  $\lambda 1$ 을 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

## 발명의 설명

### 기술 분야

#### 관련 출원의 상호 참조

[0001] 본원은 이의 전문이 본원에 참조로 인용된, 2012년 8월 30일자로 출원된 미국 가출원 제61/695,040호 및 2012년 9월 21일자로 출원된 미국 가출원 제61/703,816호로부터 우선권을 주장한다.

[0002] 본 발명은 혈액으로부터 B형 간염 표면 항원을 제거하는 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제 및 면역 기능을 자극하는 제2의 약제학적으로 허용가능한 면역요법제를 포함하는 치료로 B형 간염 감염 또는 B형 간염/D형 간염 바이러스 공동 감염 환자를 치료하는 방법에 관한 것이다.

### 배경 기술

[0004] B형 간염 바이러스(HBV)는 전세계적으로 4억명의 개인을 괴롭히고, HBV 감염으로부터 발생하는 합병증으로 매년 추정 600,000명의 사망을 일으킨다. 몇몇 항바이러스 치료가 사용 승인되었지만, 이들 중 어떤 것도 치료를 받는 환자의 지극히 일부를 제외하고, 감염의 지속성 있는 조절을 제공할 수 있는 치료학적으로 효과적인 면역 반응을 유발할 수 없다. 이와 같이, 이 치료를 받는 환자의 상당 비율에서 HBV 감염의 지속성 있는 면역적 조절을 유도할 수 있는 치료 요법을 위한 명백한 미충족 의학적 필요성이 존재한다.

[0005] HBV 감염은 2개의 상이한 입자; 1) HBV 코어 항원 단백질(HBcAg)로부터 어셈블리된 바이러스 캡시드를 포함하고, B형 간염 표면 항원(HBsAg)에 의해 덮이고, 세포를 재감염시킬 수 있는 HBV 바이러스 자체(또는 데인(Dane) 입자) 및 2) 지질, 콜레스테롤, 콜레스테롤 에스테르 및 비감염성인 B형 간염 표면 항원(HBsAg)의 소형 및 중형 형태로 구성된 고밀도 지단백질형(lipoprotein-like) 입자인 서브바이러스성 입자(또는 SVP)의 생산을 유도한다. 생산된 각 바이러스 입자의 경우, 1,000-10,000 SVP가 혈액으로 방출된다. 그 자체로 SVP (및 그들이 운반하는 HBsAg 단백질)는 혈액에서 바이러스성 단백질의 압도적인 다수를 나타낸다. HBV 감염 세포는 또한 HBV e-항원(HBeAg)이라 칭명되는 프리-코어 단백질의 가용성 단백질분해 생성물을 분비한다.

[0006] D형 간염 바이러스(HDV)는 이의 바이러스 구조를 형성하기 위해 HBsAg를 사용하고(참조: Taylor, 2006, *Virology*, 344: 71-76), 그 자체로, HDV 감염은 부수적인 HBV 감염 대상자에서 단지 발생할 수 있다. 무증상 HBV 담체 및 만성 HBV-관련 간 질환에서 HDV 공동 감염의 발생률은 HBV 감염 발생률이 낮은 국가에서는 낮은 반면, 이는 HBV 감염 발생률이 높은 국가의 HBV-감염 대상자에게 상당한 합병증이고, 전격성 간염으로 간 질환의 진행 속도를 증가시킬 수 있다. 이와 같이, HBV 감염에서 명백한 미충족 의학적 필요가 HBV/HDV 공동 감염 대상자에게 훨씬 더 절박하다.

[0007]

HBV에 대한 현재 표준 치료 방법은 인터페론- 또는 티모신  $\alpha$ 1-계 면역요법 및 HBV 폴리머라제의 억제에 의한 바이러스 생산의 억제를 포함한다. HBV 폴리머라제 억제제는 바이러스 생산을 감소시키는데 효과적이지만, HBsAg를 신속하게 감소시키는데는 거의 또는 전혀 효과가 없거나 (테노포비르 디소프록실 푸마레이트를 사용하는 경우와 같이) 제한된 수의 환자에게서 장기간 치료로 HBsAg를 서서히 감소시킬 수 있다. 인터페론계 면역요법은 작은 비율의 치료 대상자에서만 바이러스 생산 및 혈액으로부터 HBsAg의 초기 제거 둘 다의 감소를 달성할 수 있다. 혈액에서 HBsAg의 일반적으로 허용된 역할은 항-HBsAg 항체를 격리하고, 감염성 바이러스 입자가 HBV 감염이 만성 상태로 전류하는 이유 중의 하나일 가능성 있는 면역 검출을 피하게 하는 것이다. 또한, HBsAg, HBeAg 및 HBcAg 모두는 이하 논의되는 바와 같이 면역-억제성을 갖고, 상기한 바와 같은 HBV를 위한 현재 이용 가능한 치료 중의 어느 하나의 투여 후 환자의 혈액에서 이러한 바이러스성 단백질의 지속성은 환자가 이들의 HBV 감염의 면역적 조절을 달성하는 것을 방해하는데 있어서, 중요한 영향을 미칠 가능성이 있다.

[0008]

3개의 주요 HBV 단백질(HBsAg, HBeAg 및 HBcAg) 모두가 면역억제성을 갖지만(이하 참조), HBsAg는 HBV 감염 대상자의 순환에서 HBV 단백질의 압도적인 다수를 포함한다. 추가로, HBeAg의 (혈청 전환을 통해) 제거 또는 혈청 바이러스 혈증의 감소가 HBV 감염 치료 종료(infection off treatment)의 지속적인 조절의 개발과 상관되지 않지만, HBV 감염에서 혈액 (및 혈청 전환)으로부터 혈청 HBsAg의 제거가 HBV 감염 치료 종료의 조절을 유도하는(이는 면역요법을 받은 지극히 일부의 환자에게서만 발생하지만) 치료중 항바이러스 반응의 충분히 인식된 우수한 예후 지표이다. 따라서, 모든 3개의 주요 HBV 단백질(HBsAg, HBeAg 및 HBcAg)의 감소가 억제 효과의 최적의 제거를 유도할 수 있는 반면, HBsAg 단독 제거는 HBV 감염 대상자에서 면역 기능의 바이러스성 억제의 대부분을 제거하는데 그것 자체가 충분히 가능할 것이다.

### 발명의 내용

#### 해결하려는 과제

[0009]

따라서, 대부분의 환자에서 HBV의 면역학적 억제를 회복할 수 있는 임의의 현재 치료 요법의 부재하에, 대부분의 환자에서 면역학적 억제를 회복할 수 있는 HBV 감염 및 HBV/HDV 공동 감염에 대한 효과적인 치료를 제공할 필요가 있다.

#### 과제의 해결 수단

[0010]

##### 요약

[0011]

본 설명에 따라서, 이제 HBV 감염 숙주의 혈액으로부터 HBsAg를 제거하는 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제 및 면역 기능을 자극하는 제2의 약제학적으로 허용가능한 면역요법제를 투여함을 포함하여, HBV 감염 또는 HBV/HDV 공동 감염의 치료를 필요로 하는 대상자에서 이러한 치료 방법이 제공된다.

[0012]

감염된 세포로부터 HBsAg의 방출을 억제하는 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제 및 면역 기능을 자극하는 제2의 약제학적으로 허용가능한 면역요법제를 투여함을 포함하여, HBV 감염 또는 HBV/HDV 공동 감염의 치료를 필요로 하는 대상자에서 이러한 치료 방법이 또한 제공된다.

[0013]

감염된 세포로부터 HBV 서브바이러스성 입자의 방출을 억제하는 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제의 유효한 용량 처방 및 면역 기능을 자극하는 제2의 약제학적으로 허용가능한 면역요법제의 유효한 용량 처방을 투여함을 포함하여, HBV 감염 또는 HBV/HDV 공동 감염의 치료를 필요로 하는 대상자에서 이러한 치료 방법이 또한 제공된다.

[0014]

감염된 세포에서 HBV 서브바이러스성 입자의 형성을 억제하는 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제 및 면역 기능을 자극하는 제2의 약제학적으로 허용가능한 면역요법제를 투여함을 포함하여, HBV 감염 또는 HBV/HDV 공동 감염의 치료를 필요로 하는 대상자에서 이러한 치료 방법이 또한 제공된다.

[0015]

감염된 세포에서 HBsAg의 합성을 억제하거나 HBsAg의 세포내 농도를 저하시키는 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제 및 면역 기능을 자극하는 제2의 약제학적으로 허용가능한 면역요법제를 투여함을 포함하여, HBV 감염 또는 HBV/HDV 공동 감염의 치료를 필요로 하는 대상자에서 이러한 치료 방법이 또한 제공된다.

[0016]

단일 약제학적 조성물 또는 동일 투여 경로로 제공된 두 개의 상이한 약제학적 조성물과 조합하여 상기한 바와 같은 제1 및 제2의 약제학적으로 허용가능한 제제를 투여함을 포함하여, HBV 감염 또는 HBV/HDV 공동 감염의 치료를 필요로 하는 대상자에서 이러한 치료 방법이 또한 제공된다.

- [0017] 동일하거나 상이한 투여 경로로 제공되던지 안되던지, 상기한 바와 같은 제1 및 제2의 약제학적으로 허용가능한 제제를 환자에게 동시에 투여함을 포함하여, HBV 감염 또는 HBV/HDV 공동 감염의 치료를 필요로 하는 대상자에서 이러한 치료 방법이 또한 제공된다.
- [0018] 본 설명에 따라서, 이제 B형 간염 감염 또는 B형 간염/D형 간염 공동 감염을 치료하기 위한, 면역 기능을 자극하는 제2의 약제학적으로 허용가능한 면역요법제와 조합하여 혈액으로부터 B형 간염 표면 항원을 제거하는 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제의 용도가 제공된다.
- [0019] B형 간염 감염 또는 B형 간염/D형 간염 공동 감염을 치료하기 위한, 감염된 세포로부터 HBsAg의 방출을 억제하는 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제 및 면역 기능을 자극하는 제2의 약제학적으로 허용가능한 면역요법제의 용도가 또한 제공된다.
- [0020] B형 간염 감염 또는 B형 간염/D형 간염 공동 감염을 치료하기 위한, 감염된 세포로부터 HBV 서브바이러스성 입자의 방출을 억제하는 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제 및 면역 기능을 자극하는 제2의 약제학적으로 허용가능한 면역요법제의 용도가 또한 제공된다.
- [0021] B형 간염 감염 또는 B형 간염/D형 간염 공동 감염을 치료하기 위한, 감염된 세포에서 HBV 서브바이러스성 입자의 형성을 억제하는 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제 및 면역 기능을 자극하는 제2의 약제학적으로 허용가능한 면역요법제의 용도가 또한 제공된다.
- [0022] B형 간염 감염 또는 B형 간염/D형 간염 공동 감염을 치료하기 위한, 감염된 세포에서 HBsAg의 합성을 억제하거나 HBsAg의 세포내 농도를 저하시키는 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제 및 면역 기능을 자극하는 제2의 약제학적으로 허용가능한 면역요법제의 용도가 또한 제공된다.
- [0023] B형 간염 감염 또는 B형 간염/D형 간염 공동 감염 치료용 약물을 제조하기 위한, 면역 기능을 자극하는 제2의 약제학적으로 허용가능한 면역요법제와 조합하여 혈액으로부터 B형 간염 표면 항원을 제거하는 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제의 용도가 또한 제공된다.
- [0024] 본 설명에 따라서, 이제 혈액으로부터 B형 간염 표면 항원을 제거하는 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제의 유효한 용량 및 면역 기능을 자극하는 제2의 약제학적으로 허용가능한 면역요법제의 유효한 용량 처방을 포함하는, B형 간염 감염 또는 B형 간염/D형 간염 공동 감염 치료용 조성물이 또한 제공된다.
- [0025] 하나의 구현예에서, 혈액으로부터 B형 간염 표면 항원을 제거하는 제제는 HBV 서브바이러스성 입자의 형성을 억제한다.
- [0026] 다른 구현예에서, 혈액으로부터 B형 간염 표면 항원을 제거하는 제제는 HBV 서브바이러스성 입자의 세포내 수송을 억제한다.
- [0027] 다른 구현예에서, 혈액으로부터 B형 간염 표면 항원을 제거하는 제제는 혈액으로 HBV 서브바이러스성 입자의 방출을 억제한다.
- [0028] 다른 구현예에서, 혈액으로부터 B형 간염 표면 항원을 제거하는 제제는 감염된 세포로부터 B형 간염 표면 항원의 방출을 억제한다.
- [0029] 다른 구현예에서, 혈액으로부터 B형 간염 표면 항원을 제거하는 제제는 HBsAg 및/또는 다른 바이러스성 단백질의 합성을 억제한다.
- [0030] 다른 구현예에서, 혈액으로부터 B형 간염 표면 항원을 제거하는 제제는 아포지단백질 H의 합성 또는 기능을 억제한다.
- [0031] 다른 구현예에서, 혈액으로부터 B형 간염 표면 항원을 제거하는 제제는 소분자이다.
- [0032] 다른 구현예에서, 혈액으로부터 B형 간염 표면 항원을 제거하는 제제는 서열 AC의 반복체를 포함하는 길이 20-120 뉴클레오타이드로부터 포스포로티오에이트화 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 핵산 중합체이다.
- [0033] 다른 구현예에서, 혈액으로부터 B형 간염 표면 항원을 제거하는 제제는 서열 CA의 반복체를 포함하는 길이 20-120 뉴클레오타이드로부터 포스포로티오에이트화 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 핵산 중합체이다.
- [0034] 다른 구현예에서, 혈액으로부터 B형 간염 표면 항원을 제거하는 제제는 서열 TG의 반복체를 포함하는 길이 20-120 뉴클레오타이드로부터 포스포로티오에이트화 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 핵산 중합체이다.

- [0035] 다른 구현예에서, 혈액으로부터 B형 간염 표면 항원을 제거하는 제제는 서열 GT의 반복체를 포함하는 길이 20-120 뉴클레오타이드로부터 포스포로티오에이트화 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 핵산 중합체이다.
- [0036] 다른 구현예에서, 핵산 중합체는 적어도 하나의 2' 리보스 변형을 추가로 포함한다.
- [0037] 다른 구현예에서, 핵산 중합체는 2' 변형을 갖는 모든 리보스를 추가로 포함한다.
- [0038] 다른 구현예에서, 핵산 중합체는 적어도 하나의 2' 0 메틸 리보스 변형을 추가로 포함한다.
- [0039] 다른 구현예에서, 핵산 중합체는 2' 0 메틸 변형을 갖는 모든 리보스를 추가로 포함한다.
- [0040] 다른 구현예에서, 핵산 중합체는 적어도 하나의 5'메틸시토신을 추가로 포함한다.
- [0041] 다른 구현예에서, 핵산 중합체는 5'메틸시토신으로 존재하는 모든 시토신을 추가로 포함한다.
- [0042] 다른 구현예에서, 핵산 중합체는 적어도 하나의 2' 리보스 변형 및 적어도 하나의 5' 메틸시토신을 추가로 포함한다.
- [0043] 다른 구현예에서, 핵산 중합체는 2' 0 메틸 변형을 갖는 모든 리보스 및 5'메틸시토신으로서 존재하는 모든 시토신을 추가로 포함한다.
- [0044] 다른 구현예에서, 혈액으로부터 B형 간염 표면 항원을 제거하는 제제는 서열번호 1-10으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 올리고뉴클레오타이드이다.
- [0045] 다른 구현예에서, 혈액으로부터 B형 간염 표면 항원을 제거하는 제제는 서열번호 1-10으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 킬레이트 착물이다.
- [0046] 다른 구현예에서, 혈액으로부터 B형 간염 표면 항원을 제거하는 제제는 서열번호 2로 이루어진 올리고뉴클레오타이드이다.
- [0047] 다른 구현예에서, 혈액으로부터 B형 간염 표면 항원을 제거하는 제제는 서열번호 2를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 킬레이트 착물이다.
- [0048] 다른 구현예에서, 혈액으로부터 B형 간염 표면 항원을 제거하는 제제는 서열번호 3으로 이루어진 올리고뉴클레오타이드이다.
- [0049] 다른 구현예에서, 혈액으로부터 B형 간염 표면 항원을 제거하는 제제는 서열번호 3으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 킬레이트 착물이다.
- [0050] 다른 구현예에서, 혈액으로부터 B형 간염 표면 항원을 제거하는 제제는 서열번호 10으로 이루어진 올리고뉴클레오타이드이다.
- [0051] 다른 구현예에서, 혈액으로부터 B형 간염 표면 항원을 제거하는 제제는 서열번호 10으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 킬레이트 착물이다.
- [0052] 다른 구현예에서, 혈액으로부터 B형 간염 표면 항원을 제거하는 제제는 임의의 HBV mRNA의 임의의 부분을 표적화하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드이다.
- [0053] 다른 구현예에서, 혈액으로부터 B형 간염 표면 항원을 제거하는 제제는 인간 아포지단백질 H mRNA의 임의의 부분을 표적화하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드이다.
- [0054] 다른 구현예에서, 혈액으로부터 B형 간염 표면 항원을 제거하는 제제는 임의의 HBV mRNA의 임의의 부분을 표적화하는 siRNA이다.
- [0055] 다른 구현예에서, 혈액으로부터 B형 간염 표면 항원을 제거하는 제제는 인간 아포지단백질 H mRNA의 임의의 부분을 표적화하는 siRNA이다.
- [0056] 다른 구현예에서, 혈액으로부터 B형 간염 표면 항원을 제거하는 제제는 임의의 HBV mRNA 또는 인간 아포지단백질 H mRNA의 임의의 부분을 표적화하는 shRNA이다.
- [0057] 다른 구현예에서, 핵산 중합체, 안티센스 올리고뉴클레오타이드 또는 siRNA는 올리고뉴클레오타이드 킬레이트 착물로서 추가로 제형화된다.
- [0058] 다른 구현예에서, 혈액으로부터 B형 간염 표면 항원을 제거하는 제제는 B형 간염 표면 항원을 표적화하는 올리

고뉴클레오타이드 암타머 또는 스피겔머이다.

[0059] 다른 구현예에서, 혈액으로부터 B형 간염 표면 항원을 제거하는 제제는 아포지단백질 H를 표적화하는 올리고뉴클레오타이드 암타머 또는 스피겔머이다.

[0060] 다른 구현예에서, 혈액으로부터 B형 간염 표면 항원을 제거하는 제제는 B형 간염 표면 항원을 인식하는 항체 또는 항체 단편이다.

[0061] 다른 구현예에서, 면역 기능을 자극하는 면역요법제는 다음으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 화합물을 포함한다:

[0062] 티모신  $\alpha$ 1;

[0063] 임의의  $\alpha$ -인터페론 또는 이의 폐길화 유도체;

[0064] 임의의  $\beta$ -인터페론 또는 이의 폐길화 유도체;

[0065] 임의의  $\gamma$ -인터페론 또는 이의 폐길화 유도체;

[0066] 임의의  $\lambda$ -인터페론 또는 이의 폐길화 유도체;

[0067] 인터페론  $\alpha$ -2a 또는  $\alpha$ -2b 또는  $\alpha$ -N3;

[0068] 인터페론  $\beta$ -1a 또는  $\beta$ -1b;

[0069] 인터페론  $\gamma$ -1b;

[0070] 인터페론  $\lambda$ 1 또는  $\lambda$ 2 또는  $\lambda$ 3;

[0071] 폐길화 인터페론  $\alpha$ -2a 또는  $\alpha$ -2b 또는  $\lambda$ 1 또는  $\lambda$ 2;

[0072] 임의의 항바이러스 사이토킨 또는 이의 폐길화 유도체;

[0073] 타이믹 단백질 A;

[0074] 항바이러스 활성 또는 면역자극 활성을 갖는 것으로 제시된 임의의 폴리펩타이드;

[0075] IMO-2055 또는 IMO-2125를 포함하는 비-CpG 면역자극 올리고뉴클레오타이드;

[0076] GS-9620 또는 ANA-773을 포함하는 소분자 톨형 수용체(TLR) 작용제; 및

[0077] DHEA 또는 이의 대사산물을 포함하는 임의의 항바이러스 또는 면역자극 호르몬.

[0078] 다른 구현예에서, 면역 기능을 자극하는 면역요법제는 다음으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 화합물을 포함한다:

[0079] IMO-2055 또는 IMO-2125를 포함하는 면역자극 올리고뉴클레오타이드;

[0080] GS-9620 또는 ANA-773을 포함하는 소분자 톨형 수용체(TLR) 작용제; 및

[0081] DHEA 또는 이의 대사산물을 포함하는 임의의 항바이러스 또는 면역자극 호르몬.

[0082] 추가의 구현예에서, 제1 및 제2의 약제학적으로 허용가능한 제제는 동일한 약제학적 조성물 내에 제형화된다.

[0083] 추가의 구현예에서, 제1 및 제2 제제는 별도의 약제학적 조성물 내에 제형화된다.

[0084] 추가의 구현예에서, 제1 및 제2 제제는 동시 투여용으로 제형화된다.

[0085] 추가의 구현예에서, 제1 및 제2 제제는 상이한 경로에 의한 투여용으로 제형화된다.

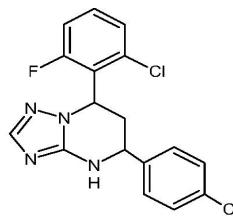
[0086] 추가의 구현예에서, 제1 및 제2 제제는 다음 중의 하나를 사용하는 투여용으로 제형화된다: 경구 섭취, 에어로졸 흡입, 피하 주사, 근육내 주사, 복강내 주사, 정맥내 주사 및 정맥내 주입.

[0087] 추가의 구현예에서, 혈액으로부터 HBsAg를 제거하는 제제는 다음으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 분자를 포함하고:

[0088] B형 간염 표면 항원에 결합하는 항체 또는 항체 단편;

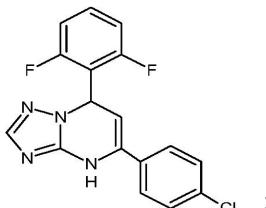
[0089] 다음 트리아졸로파리미딘 유도체:

7-(2-클로로-6-플루오로페닐)-5-(4-클로로페닐)-4,5,6,7-  
테트라하이드로[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]파리미딘



;

5-(4-클로로페닐)-7-(2,6-디플로오로페닐)-4,7-  
디하이드로[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]파리미딘



;

[0090]

[0091] 다음으로부터 선택되는 올리고뉴클레오타이드:

[0092] 서열번호 2;

[0093] 서열번호 3;

[0094] 서열번호 10;

[0095] 서열번호 1 및 4-9;

[0096] 다음 괄호로부터 선택된 핵산 중합체:

[0097] (서열 AC의 반복체를 포함하는 길이 20-120 뉴클레오타이드로부

[0098] 터 포스포로티오에이트화 올리고뉴클레오타이드;

[0099] 서열 CA의 반복체를 포함하는 길이 20-120 뉴클레오타이드로부

[0100] 터 포스포로티오에이트화 올리고뉴클레오타이드;

[0101] 서열 TG의 반복체를 포함하는 길이 20-120 뉴클레오타이드로부

[0102] 터 포스포로티오에이트화 올리고뉴클레오타이드 및

[0103] 서열 GT의 반복체를 포함하는 길이 20-120 뉴클레오타이드로부

[0104] 터 포스포로티오에이트화 올리고뉴클레오타이드);

[0105] 임의의 HBV mRNA의 임의의 부분을 표적화하는 안티센스 올리고뉴클레

[0106] 오타이드;

[0107] 인간 아포지단백질 H mRNA의 임의의 부분을 표적화하는 안티센스 올

[0108] 리고뉴클레오타이드;

[0109] 임의의 HBV mRNA의 임의의 부분을 표적화하는 siRNA;

[0110] 인간 아포지단백질 H mRNA의 임의의 부분을 표적화하는 siRNA;

[0111] 임의의 HBV mRNA의 임의의 부분을 표적화하는 shRNA;

[0112] 인간 아포지단백질 H mRNA의 임의의 부분을 표적화하는 shRNA;

[0113] B형 간염 표면 항원을 표적화하는 스피겔머 또는 압타머 및

[0114] 인간 아포지단백질 H를 표적화하는 스피겔머 또는 압타머;



제를 투여하거나 동시에 사용함을 추가로 포함한다:

- [0151] 테노포비르 디소프록실 푸마레이트;
- [0152] 엔테카비르;
- [0153] 텔부비딘;
- [0154] 아데포비르 디피복실; 및
- [0155] 라미부딘.
- [0156] B형 간염 감염 또는 B형 간염/D형 간염 공동 감염의 치료 방법 또는 이를 치료하는데 있어서 다음의 용도가 또한 제공되는데, 이러한 방법 또는 용도는 서열번호 2를 포함하는 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제 및 폐길화 인터페론  $\alpha$ -2a를 포함하는 제2의 약제학적으로 허용가능한 제제를 이러한 치료를 필요로 하는 환자에게 투여함을 포함한다.
- [0157] B형 간염 감염 또는 B형 간염/D형 간염 공동 감염의 치료 방법 또는 이를 치료하는데 있어서 다음의 용도가 또한 제공되는데, 이러한 방법 또는 용도는 서열번호 2의 올리고뉴클레오타이드 킬레이트 착물을 포함하는 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제 및 폐길화 인터페론  $\alpha$ -2a를 포함하는 제2의 약제학적으로 허용가능한 제제를 이러한 치료를 필요로 하는 환자에게 투여함을 포함한다.
- [0158] B형 간염 감염 또는 B형 간염/D형 간염 공동 감염의 치료 방법 또는 이를 치료하는데 있어서 다음의 용도가 또한 제공되는데, 이러한 방법 또는 용도는 서열번호 3을 포함하는 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제 및 폐길화 인터페론  $\alpha$ -2a를 포함하는 제2의 약제학적으로 허용가능한 제제를 이러한 치료를 필요로 하는 환자에게 투여함을 포함한다.
- [0159] B형 간염 감염 또는 B형 간염/D형 간염 공동 감염의 치료 방법 또는 이를 치료하는데 있어서 다음의 용도가 또한 제공되는데, 이러한 방법 또는 용도는 서열번호 3의 올리고뉴클레오타이드 킬레이트 착물을 포함하는 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제 및 폐길화 인터페론  $\alpha$ -2a를 포함하는 제2의 약제학적으로 허용가능한 제제를 이러한 치료를 필요로 하는 환자에게 투여함을 포함한다.
- [0160] B형 간염 감염 또는 B형 간염/D형 간염 공동 감염의 치료 방법 또는 이를 치료하는데 있어서 다음의 용도가 또한 제공되는데, 이러한 방법 또는 용도는 서열번호 10을 포함하는 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제 및 폐길화 인터페론  $\alpha$ -2a를 포함하는 제2의 약제학적으로 허용가능한 제제를 이러한 치료를 필요로 하는 환자에게 투여함을 포함한다.
- [0161] B형 간염 감염 또는 B형 간염/D형 간염 공동 감염의 치료 방법 또는 이를 치료하는데 있어서 다음의 용도가 또한 제공되는데, 이러한 방법 또는 용도는 서열번호 10의 올리고뉴클레오타이드 킬레이트 착물을 포함하는 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제 및 폐길화 인터페론  $\alpha$ -2a를 포함하는 제2의 약제학적으로 허용가능한 제제를 이러한 치료를 필요로 하는 환자에게 투여함을 포함한다.
- [0162] B형 간염 감염 또는 B형 간염/D형 간염 공동 감염의 치료 방법 또는 이를 치료하는데 있어서 다음의 용도가 또한 제공되는데, 이러한 방법 또는 용도는 서열번호 2를 포함하는 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제 및 티모신  $\alpha$ 1을 포함하는 제2의 약제학적으로 허용가능한 제제를 이러한 치료를 필요로 하는 환자에게 투여함을 포함한다.
- [0163] B형 간염 감염 또는 B형 간염/D형 간염 공동 감염의 치료 방법 또는 이를 치료하는데 있어서 다음의 용도가 또한 제공되는데, 이러한 방법 또는 용도는 서열번호 2의 올리고뉴클레오타이드 킬레이트 착물을 포함하는 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제 및 티모신  $\alpha$ 1을 포함하는 제2의 약제학적으로 허용가능한 제제를 이러한 치료를 필요로 하는 환자에게 투여함을 포함한다.
- [0164] B형 간염 감염 또는 B형 간염/D형 간염 공동 감염의 치료 방법 또는 이를 치료하는데 있어서 다음의 용도가 또한 제공되는데, 이러한 방법 또는 용도는 서열번호 3을 포함하는 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제 및 티모신  $\alpha$ 1을 포함하는 제2의 약제학적으로 허용가능한 제제를 이러한 치료를 필요로 하는 환자에게 투여함을 포함한다.
- [0165] B형 간염 감염 또는 B형 간염/D형 간염 공동 감염의 치료 방법 또는 이를 치료하는데 있어서 다음의 용도가 또한 제공되는데, 이러한 방법 또는 용도는 서열번호 3의 올리고뉴클레오타이드 킬레이트 착물을 포함하는 제1의

약제학적으로 허용가능한 제제 및 티모신  $\alpha_1$ 을 포함하는 제2의 약제학적으로 허용가능한 제제를 이러한 치료를 필요로 하는 환자에게 투여함을 포함한다.

- [0177] B형 간염 감염 또는 B형 간염/D형 간염 공동 감염의 치료 방법 또는 이를 치료하는데 있어서 다음의 용도가 또한 제공되는데, 이러한 방법 또는 용도는 서열번호 3의 올리고뉴클레오타이드 킬레이트 착물을 포함하는 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제 및 폐길화 인터페론  $\lambda$ 1을 포함하는 제2의 약제학적으로 허용가능한 제제를 이러한 치료를 필요로 하는 환자에게 투여함을 포함한다.
- [0178] B형 간염 감염 또는 B형 간염/D형 간염 공동 감염의 치료 방법 또는 이를 치료하는데 있어서 다음의 용도가 또한 제공되는데, 이러한 방법 또는 용도는 서열번호 10을 포함하는 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제 및 폐길화 인터페론  $\lambda$ 1을 포함하는 제2의 약제학적으로 허용가능한 제제를 이러한 치료를 필요로 하는 환자에게 투여함을 포함한다.
- [0179] B형 간염 감염 또는 B형 간염/D형 간염 공동 감염의 치료 방법 또는 이를 치료하는데 있어서 다음의 용도가 또한 제공되는데, 이러한 방법 또는 용도는 서열번호 10의 올리고뉴클레오타이드 킬레이트 착물을 포함하는 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제 및 폐길화 인터페론  $\lambda$ 1을 포함하는 제2의 약제학적으로 허용가능한 제제를 이러한 치료를 필요로 하는 환자에게 투여함을 포함한다.
- [0180] B형 간염 감염 또는 B형 간염/D형 간염 공동 감염의 치료 방법 또는 이를 치료하는데 있어서 다음의 용도가 또한 제공되는데, 이러한 방법 또는 용도는 서열번호 2를 포함하는 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제 및 GS-9620을 포함하는 제2의 약제학적으로 허용가능한 제제를 이러한 치료를 필요로 하는 환자에게 투여함을 포함한다.
- [0181] B형 간염 감염 또는 B형 간염/D형 간염 공동 감염의 치료 방법 또는 이를 치료하는데 있어서 다음의 용도가 또한 제공되는데, 이러한 방법 또는 용도는 서열번호 2의 올리고뉴클레오타이드 킬레이트 착물을 포함하는 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제 및 GS-9620을 포함하는 제2의 약제학적으로 허용가능한 제제를 이러한 치료를 필요로 하는 환자에게 투여함을 포함한다.
- [0182] B형 간염 감염 또는 B형 간염/D형 간염 공동 감염의 치료 방법 또는 이를 치료하는데 있어서 다음의 용도가 또한 제공되는데, 이러한 방법 또는 용도는 서열번호 3을 포함하는 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제 및 GS-9620을 포함하는 제2의 약제학적으로 허용가능한 제제를 이러한 치료를 필요로 하는 환자에게 투여함을 포함한다.
- [0183] B형 간염 감염 또는 B형 간염/D형 간염 공동 감염의 치료 방법 또는 이를 치료하는데 있어서 다음의 용도가 또한 제공되는데, 이러한 방법 또는 용도는 서열번호 3의 올리고뉴클레오타이드 킬레이트 착물을 포함하는 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제 및 GS-9620을 포함하는 제2의 약제학적으로 허용가능한 제제를 이러한 치료를 필요로 하는 환자에게 투여함을 포함한다.
- [0184] B형 간염 감염 또는 B형 간염/D형 간염 공동 감염의 치료 방법 또는 이를 치료하는데 있어서 다음의 용도가 또한 제공되는데, 이러한 방법 또는 용도는 서열번호 10을 포함하는 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제 및 GS-9620을 포함하는 제2의 약제학적으로 허용가능한 제제를 이러한 치료를 필요로 하는 환자에게 투여함을 포함한다.
- [0185] B형 간염 감염 또는 B형 간염/D형 간염 공동 감염의 치료 방법 또는 이를 치료하는데 있어서 다음의 용도가 또한 제공되는데, 이러한 방법 또는 용도는 서열번호 10의 올리고뉴클레오타이드 킬레이트 착물을 포함하는 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제 및 GS-9620을 포함하는 제2의 약제학적으로 허용가능한 제제를 이러한 치료를 필요로 하는 환자에게 투여함을 포함한다.

### 도면의 간단한 설명

- [0186] 도 1은 문헌(참조: Yu et al., 2011, J. Med. Chem. 54: 5660-5670)에 기술된 바와 같이 HBV 생성 세포주 HepG2.2.15로부터 HBsAg의 방출을 차단하는 것으로 밝혀진 두 개의 트리아졸로피리미딘 유도체를 도시한다. 도 1A는 본원에서 식별된 바와 같은 리드 후보 화합물 1a(PBHBV-001)를 묘사하고, 도 1B는 리드 후보 화합물 3c(PBHBV-2-15)를 묘사한다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0187] HBsAg는 HBV 감염 및 HBV/HDV 공동 감염에서 중요한 역할을 한다. 비리온 형성을 위한 필수적인 구조적 성분으로서 이의 역할을 제외하고, HBsAg는 또한 바이러스 캡시드 및 캐뉼이 결여되고, 주로 HBsAg를 혈액으로 전달하는 기능을 하는 것으로 나타나는 서브바이러스성 입자(SVP)의 형태로 감염된 대상자의 혈액으로 다량 방출된다.

SVP는 혈액 중의 HBV 또는 HDV 바이러스가 적응 면역에 의한 인식을 피할 수 있도록 SVP가 HBsAg 항체(항-HB)를 효과적으로 격리시키도록 하는 바이러스 분비에 비해 1,000-10,000배 과량으로 감염된 세포로부터 분비된다. 몇몇 연구가 또한, HBsAg가 또한 HBV 감염에 대한 적응 및 선천적 면역 반응의 활성화를 직접 차단하는 기능을 할 수 있음을 시사하였지만(참조: 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 감염 및 HBV/HDV 공동 감염에서 이러한 기능성의 존재 및 면역요법제의 활성에 대한 이의 영향은 조사되거나 확립되어 있지 않다. HBeAg 및 HBcAg는 또한 면역억제성을 갖는 것으로 나타났다(참조: 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).

[0188]

항-HB를 격리시키는 혈액 중의 과량의 HBsAg(SVP로서)의 인식된 활성 이외에, 몇몇 시험관내 및 생체내 시스템에서 사이토킨 신호전달을 차단하는 HBsAg의 능력은, HBsAg의 이러한 면역-억제성이 또한 인간 대상자의 HBV 감염 및 HBV/HDV 공동 감염에 존재할 수 있음을 시사한다. 감염된 환자의 혈액 중의 HBsAg의 큰 과량에 기인하여, 최적의 면역 기능(적응성 및 선천성 모두)에 중요한 많은 신호전달 메커니즘의 효과적인 손상 가능성이 있다. 본 명세서에 제시된 신규한 개시는 이러한 신호전달 메커니즘의 다수가 또한 면역요법제의 효과가 완전히 실현되도록 하는데 필수적일 가능성이 있음을 추가로 처음 확립한다. 이러한 개시는 또한 면역요법제의 작용을 억제하는데 있어서 순환성 HBsAg의 중요한 효과를 처음으로 확립한다.

[0189]

혈액으로부터 HBsAg를 제거할 수 있는 제1의 약제학적으로 허용가능한 제제 및 면역 기능을 자극하는 면역요법제로 이루어진 HBV 감염 및 HBV/HDV 공동 감염에 대한 효과적인 치료의 증거가 본 명세서에 제공된다. 이러한 병용 치료는 순환성 항-HBsAg 항체가 순환성 바이러스 및 바이러스 생산 세포를 직접 공격하도록 하고, HBsAg의 면역억제성의 부재하에, 면역요법의 효과의 심오한 개선을 유도하고, 이는 단독으로 사용된 면역요법에 의해서 보다 이들의 HBV 감염의 면역학적 억제를 달성하는 환자를 더 큰 비율로 유도한다.

[0190]

시험관내에서 사이토킨 신호전달을 차단하는 이의 이전에 기술된 능력 이외에, 순환성 HBsAg는 예기치 않게 또한 HBV 감염에 대해 숙주 면역 반응을 억제하는 것 이외에, HBV를 치료하기 위한 승인된 면역요법의 기능을 직접 억제한다는 새로운 증거가 본 명세서에 기술된다. 따라서, 혈액으로부터 HBsAg를 제거할 수 있는 제1 제제와 면역 기능을 자극하는 제2 제제를 조합하는 요법은 HBV 감염의 면역학적 억제의 회복을 가능하게 함에 대한 크게 향상된 효과를 갖는 이러한 두 제제 사이에 새로운 상승작용을 유도한다.

[0191]

만성 HBV 환자의 혈액으로부터 (핵산 중합체 또는 NAP를 사용하여) HBsAg (및 기타 HBV 항원)의 제거가 면역학적 회복의 일부 측정을 허용할 수 있지만, 이러한 면역학적 재활성화 수준이 대다수의 환자에서 지속성 조절을 생성하기에 충분하지 않음을 보여주는 인간 환자의 데이터가 본 명세서에 제공된다. 이 데이터는 감염된 환자의 혈액에서 HBsAg (또는 또한 다른 HBV 단백질)의 감소 또는 제거를 유도하는 임의의 기타 약제학적으로 허용 가능한 제제 또는 방법이 NAP로 달성된 것들에 의해 임의의 더 나은 치료 결과를 달성할 것으로 기대되지 않는다는 것을 명백하게 교시한다.

[0192]

HBV 감염 환자의 혈액에 HBsAg의 존재가 티모신  $\alpha$ 1 또는 폐길화 인터페론  $\alpha$ -2a와 같은 면역요법제의 생화학적 활성을 억제한다는 것을 처음으로 입증하는 사람 환자의 데이터가 본 명세서에 추가로 제공된다. NAP REP 2139를 사용하여, HBV 감염 환자의 혈액 중의 HBsAg를 티모신  $\alpha$ 1 또는 폐길화 인터페론  $\alpha$ -2a로 치료하기 전에 제거하였다. HBsAg 음성 환경에서, 이러한 두 면역요법제 중의 어느 하나에 의한 치료는 이러한 면역요법제가 단일요법에 사용될 때 통상적으로 관찰된 것보다 실질적으로 더 강하고, 훨씬 더 빠르게 발생하는 면역학적 반응(혈액 중의 항-HBsAg 항체의 생산에 의해 측정됨)을 활성화하는데 심오하고 예기치 않은 상승작용을 유도했다. 가장 중요하게는, 이러한 환자의 혈액으로부터 HBsAg의 제거는 대부분의 환자에서 면역요법에 대한 이러한 극적인 반응이 일어나도록 했다. 임의의 종류의 양성 면역학적 반응은 단일요법에 사용된 면역요법제로 치료된 환자에서 드물다.

[0193]

이러한 결과는 또한 HBV 감염 또는 HBV/HDV 감염 환자의 혈액으로부터 HBsAg의 제거가 전형적으로 사용된 것보다 더 짧은 치료 요법으로 면역요법을 수용한 대부분 또는 모든 환자에서 더 강한 면역학적 반응을 도출하는 임의의 면역요법제의 능력에 상승작용적 영향을 미친다는 것을 처음으로 입증한다. 이러한 결과는 이제 HBV 또는 HBV/HDV 공동 감염 환자의 혈액으로부터 HBsAg를 제거하는 임의의 방법 또는 약제학적으로 허용가능한 제제가 임의의 약제학적으로 허용가능한 면역요법제의 생화학적 활성을 향상시키는데 대해 동일한 유리한 상승 효과를 가질 것으로 예상된다는 것을 당해 기술 분야의 숙련가에 명백하게 교시한다. 면역요법제의 활성에서 이러한

개선은 HBsAg의 감소 또는 제거가 면역요법 이전에 또는 면역요법과 동시에 달성되었을 때 또는 HBsAg의 감소 또는 제거가 면역요법이 이전에 개시되어 계속된 후에 달성될 때 실현될 것이다.

[0194] 면역 기능을 자극하는 약제학적으로 허용가능한 제제와 조합된 혈액으로부터 (임의의 수단에 의해) HBsAg를 제거하는 약제학적으로 허용가능한 제제로 환자를 치료하는 심오한 상승작용적 항바이러스 효과의 인식은 본 명세서의 개시 이전에 당해 기술 분야에서 예측 또는 교시되지 않은 기준 면역요법으로 극적으로 개선된 항바이러스 반응을 달성하는 새로운 접근법을 나타낸다.

[0195] 용어 올리고뉴클레오타이드(ON)는 리보핵산(RNA) 및/또는 데옥시리보핵산(DNA)의 올리고머 또는 중합체를 의미한다. 이 용어는 변형된 뉴클레오염기(5'메틸시토신 및 4'티오우라실 포함), 당 및 공유 뉴클레오사이드간 (골격) 결합으로 구성된 ON 뿐만 아니라 유사하게 기능하는 비-천연 발생 부분을 갖는 ON을 포함한다. 이러한 변형되거나 치환된 ON은, 예를 들면, 감소된 면역반응성, 향상된 세포 흡수, 핵산 표적물에 대한 향상된 친화성 (안티센스 ON, siRNA 및 shRNA의 문맥에서) 및/또는 뉴클레아제 매개된 분해에 대한 증가된 안정성과 같은 바람직한 특성 때문에 천연 형태에 비해 바람직할 수 있다. ON은 또한 이중의 가닥을 가질(stranded) 수 있다. ON은 또한 단일 가닥(strand) 문자, 예를 들면, 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 스페겔머 및 압타머 뿐만 아니라, 이중 가닥 문자, 예를 들면, 작은 간섭성 RNA(siRNA) 또는 작은 헤어핀 RNA(shRNA)를 포함한다.

[0196] ON은 다양한 변형, 예를 들면, 안정화 변형을 포함할 수 있고, 따라서 포스포디에스테르 결합 및/또는 당 및/또는 염기 상에 적어도 하나의 변형을 포함할 수 있다. 예를 들면, ON은, 제한 없이, 하나 이상의 변형을 포함할 수 있거나 인용된 변형을 갖는 모든 결합 또는 당 또는 염기를 함유하기 위해 완전히 변형될 수 있다. 변형된 결합은 포스포로티오에이트 결합, 포스포로디티오에이트 결합 및/또는 메틸포스포네이트 결합을 포함할 수 있다. 변형된 결합이 유용하지만, ON은 포스포디에스테르 결합을 포함할 수 있다. 추가의 유용한 변형은, 제한 없이, 2'-0-알킬 변형, 예를 들면, 2'-0-메틸 변형, 2'-0-메톡시에틸(2' MOE), 2'-아미노 변형, 2'-할로 변형, 예를 들면, 2'-플루오로; 비활식 뉴클레오타이드 유사체를 포함하는 당의 2'-위치에서 변형을 포함한다. 기타 2' 변형은 또한 당해 기술 분야에 공지되어 있고, 예를 들면, 고정된 핵산이 사용될 수 있다. 특히, ON은 전반에 걸쳐 변형된 결합을 갖거나, 변형된 모든 결합, 예를 들면, 포스포로티오에이트를 갖고; 3'- 및/또는 5'-캡을 갖고; 말단 3'-5' 결합을 포함하고; ON은 링커(들)에 의해 결합된 둘 이상의 ON 서열로 구성된 연쇄체(concatemer)이거나 이를 포함한다. 염기 변형은 시토신 염기의 5'메틸화(5'메틸시토신 또는 뉴클레오타이드의 맥락에서, 5' 메틸시티딘) 및/또는 우라실 염기의 4'티오화(4'티오우라실 또는 뉴클레오타이드의 맥락에서, 4' 티오우리딘)를 포함할 수 있다. 상이한 화학적으로 적합한 변형된 결합은 합성 조건이 화학적으로 적합한, 예를 들면, 포스포로티오에이트 결합, 2' 리보스 변형(예: 2'0-메틸화) 및 변형된 염기(예: 5'메틸시토신)와 함께 올리고뉴클레오타이드를 가질 경우 조합될 수 있다. ON은 이러한 상이한 변형(예: 포스포로티오에이트화된 각 결합, 2' 변형된 각 리보스 및 변형된 각 염기) 모두로 완전히 추가로 변형시킬 수 있다.

[0197] 본원에서, 용어 "핵산 중합체" 또는 NAP는 핵산 표적물로 가수분해하거나 특정 단백질에 대한 결합을 유도하는 서열 특이적 2차 구조를 채택하기 위한 서열 특이적 기능을 함유하지 않는 임의의 단일 가닥 ON을 식별하고자 한다. NAP의 생화학적 활성은 ON의 틀형 수용체 인식, 표적 핵산에 의한 하이브리드화 또는 존재하는 뉴클레오타이드의 특정 순서로부터 유도되는 특정 2차/3차 ON 구조를 필요로 하는 압타머 상호작용에 의존하지 않는다. NAP는 상기한 바와 같은 염기 및/또는 결합 및/또는 당 변형을 포함할 수 있다. 예시적인 NAP 화합물은 다음을 포함한다:

[0198] 서열 AC의 반복체를 포함하는 길이 20-120 뉴클레오타이드로부터 포스포로티오에이트화 올리고뉴클레오타이드;

[0199] 서열 CA의 반복체를 포함하는 길이 20-120 뉴클레오타이드로부터 포스포로티오에이트화 올리고뉴클레오타이드;

[0200] 서열 TG의 반복체를 포함하는 길이 20-120 뉴클레오타이드로부터 포스포로티오에이트화 올리고뉴클레오타이드;

[0201] 서열 GT의 반복체를 포함하는 길이 20-120 뉴클레오타이드로부터 포스포로티오에이트화 올리고뉴클레오타이드;

[0202] 서열 UG의 반복체를 포함하는 길이 20-120 뉴클레오타이드로부터 포스포로티오에이트화 올리고뉴클레오타이드;

[0203] 서열 GU의 반복체를 포함하는 길이 20-120 뉴클레오타이드로부터 포스포로티오에이트화 올리고뉴클레오타이드; 및

[0204] 서열번호 1-10.

[0205] ON 퀄레이트 착물은 2가 또는 다가 금속 양이온에 의해 문자간 연결된 둘 이상의 ON이다. ON 퀄레이트 착물은 이러한 화합물들의 투여-관련 부작용에 기여할 수 있는 ON의 고유의 퀄레이트화 특성을 중화시킨다. ON 퀄레이

트 착물의 투여는 비킬레이트화 ON(이는 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 바와 같은 나트륨 염으로서 투여된 ON이다)와 관련된 투여-관련 부작용이 완화되는 대상자에게 ON을 투여하는 방법이다. 이러한 부작용은 정맥내 주입 또는 경결에 의한 전율, 발열 및 오한, 피하 투여에 의한 주사 부위의 염증 및 통증을 포함할 수 있다. 또한, 킬레이트화 착물로서 ON을 제조함으로써, 이들의 약동학적 거동은 향상되어 전문이 본 명세서에 참조로 인용된 국제 출원 공보 제WO 2012/021985호 및 미국 출원 공보 제2012/0046348호에 기술된 비킬레이트화 ON과 비교하여 유사한 용량으로 증가된 치료 성능을 제공할 수 있다. ON 킬레이트 착물의 투여는 통상적으로 나트륨 염으로서 사용될 경우의 ON의 생화학적 활성을 방해하지 않는다. 따라서, 본 명세서에 기술된 임의의 안티센스 ON, siRNA, 또는 NAP는 이의 생화학적 활성에 영향을 미치지 않고 임의로 ON 킬레이트 착물로서 제조될 수 있다.

[0206]

ON 킬레이트 착물은 칼슘, 마그네슘, 코발트, 철, 망간, 바륨, 니켈, 구리, 아연, 카드뮴, 수은 및 납을 포함하는 다양한 다가 금속 양이온을 함유할 수 있다. 이러한 다가 금속 양이온의 킬레이트화가 금속 양이온을 통해 결합된 둘 이상의 ON으로 구성된 ON 킬레이트 착물의 형성을 유도하고, 길이 6 뉴클레오타이드 초과의 ON으로 포스포디에스테르 또는 포스포로티오에이트 결합을 갖는 ON의 존재하에 발생한다는 것이 추가로 입증된다. ON은 임의로 포스포로티오에이트화된 각 결합을 가질 수 있다. 킬레이트화는 또한 리보스에서 2' 변형(예: 2' 0 메틸)을 함유하거나 변형된 염기, 예를 들어, 5'메틸시토신 또는 4-티오우라실을 함유하는 ON으로 발생한다. 이러한 2' 변형은 하나 이상 또는 모든 리보스 상에 존재할 수 있고, 변형된 염기는 하나 이상의 염기 상에 존재할 수 있거나 각 염기 상에 보편적으로 존재할 수 있다(즉, 모든 시토신은 5'메틸시토신으로서 존재한다). 추가로, ON 킬레이트 착물은 다수의 변형, 예를 들면, 포스포로티오에이트화된 각 결합, 2' 변형된 각 리보스 및 변형된 각 염기를 함유하는 ON을 포함할 수 있다. ON 킬레이트 착물 형성에 적합한 ON 변형은 상기 추가로 정의된다. 또한, 금속 양이온의 킬레이트화는 존재하는 뉴클레오타이드의 서열에 의존하지 않고, 대신 모든 ON에 공통인 물리화학적 특성에 의존한다.

[0207]

ON 킬레이트 착물의 형성은 임의의 2가 금속 양이온으로 달성될 수 있지만, 약물로서 사용하기 위한 ON 킬레이트 착물은 바람직하게는 단지 칼슘 및/또는 마그네슘을 함유해야 하지만, 또한 미량의 철, 망간, 구리 또는 아연을 함유할 수 있고, 코발트, 바륨, 니켈, 카드뮴, 수은, 납 또는 여기서 나열되지 않은 임의의 기타 2가 금속을 포함하지 않아야 한다.

[0208]

ON은 서열 의존적이거나 서열 독립적인 다수의 메커니즘에 의해 이들의 치료 효과를 발휘할 수 있다. 서열 의존적 메커니즘은 이들의 활성을 위해 특이적 핵산 서열을 필요로 하고, 활성이 존재하는 뉴클레오타이드 서열 중의 하나 이상의 변화에 의해 감소되는 것들이다. 이 특이적 서열은 ON의 전체 길이 또는 이의 일부만(서열 모티프)을 포함할 수 있다. 서열 의존적 ON의 예는 다음을 포함한다:

[0209]

1. 단일 가닥 또는 이중 가닥 안티센스 ON(예: 합성 간섭성 RNA(siRNA) 또는 작은 헤어핀 RNA(shRNA))은 안티센스 ON과 목적하는 mRNA의 표적화 부분 중의 서열 사이의 특정 하이브리드화에 의해 목적하는 마이크로 RNA(miRNA) 또는 메신저 RNA(mRNA)의 특정 영역을 표적화하기 위해 설계된다. 안티센스 ON이 세포에 도입되면, 이들은 mRNA 상에 또는 miRNA를 사용하여 RNase H에 의해 이 특이적 mRNA 또는 miRNA의 분해를 지시하는 이중 영역의 형성을 유도한다. siRNA가 세포에 도입되는 (또는 shRNA가 세포에서 발현되는) 경우, 안티센스 가닥 (또는 가이드 가닥)은 아고너트(Argonaute)라 칭명되는 RISC(RNA 유도 침묵 착물)의 촉매 성분에 의해 이의 절단을 수행하기 위해 표적 mRNA 상에 상보 영역을 갖는 가이드-가닥 표적화 하이브리드화를 사용하는 RISC에 도입된다.

[0210]

2. 스테아린 차단 ON은 mRNA 또는 미성숙 mRNA의 특정 부분에 상보적이지만 RNase H의 작용을 억제하는 것으로 공지된 변형인 모든 리보스의 2' 변형을 함유하거나 RNase H에 의해 인식되지 않는 변형된 ON 화학(예: 모르풀리노 ON)을 사용하여 RNase H를 활성화하지 않도록 유전자 조작된 단일 가닥 안티센스 ON이다. 이들의 표적 mRNA로 이러한 ON의 하이브리드화는 RNA 상에서 통상적으로 작용하는 단백질(예: 스플라이싱 단백질 또는 리보솜)에 스테아린 방해를 제공하는 이중 가닥 부분을 유도한다. 이러한 ON은 특별한 mRNA의 번역을 차단하거나 특별한 mRNA의 전사후 스플라이싱 및 성숙을 변형시키기 위해 사용될 수 있다.

[0211]

3. 암타머는 특정 단백질 상호작용 할 수 있는 특정 3차원 형태를 채택하고 숙주 DNA 또는 RNA와 용이하게 상호 작용하지 않는 ON이다. 암타머는 또한 ON에 높은 효소 안정성을 부여하는 D-뉴클레오타이드 대신 L-뉴클레오타이드를 사용하는 스피겔머를 포함할 수 있다.

[0212]

4. 면역자극 ON은 비-CpG 모티프 매개된 메커니즘을 통해 틀형 수용체 7, 8 및 9에의 결합 및 활성화를 유도하는 특정 변형을 함유하고, 면역 기능을 자극할 수 있다(참조: Kandimalla et al. 2011. Cell. Immunol. 270:

126-134; Struthers et al. 2010. *Cell. Immunol.* 263: 105-113).

[0213] 안티센스 ON, siRNA 또는 shRNA의 설계에서, 이들 분자의 서열은 다음의 가이드라인 내에서 특정 RNA의 의도된 표적 서열에 100% 상보적이 되도록 설계된다:

[0214] 안티센스 ON은 길이 15-25 뉴클레오타이드이고, 의도된 표적 서열에 100% 상보적인 서열을 함유한다.

[0215] siRNA의 가이드 가닥은 목적하는 mRNA의 표적화 부분에 100% 상보적인 하나의 올리고리보뉴클레오타이드 길이 19-21 뉴클레오타이드를 함유하고, 패신저 가닥(이중 구조에서 다른 가닥)는 가이드 가닥에 100% 상보적인 동일 길이의 리보뉴클레오타이드 서열을 함유한다. 가이드 및 패신저 가닥은 모두 또한 각 가닥의 3' 말단에 두 개의 추가의 데옥시티미딘 뉴클레오타이드를 갖는다.

[0216] shRNA 분자는 하나의 인접 올리고뉴클레오타이드에 가이드 및 패신저 가닥(siRNA에 대해 상기한 바와 같지만 길이 19-29 뉴클레오타이드일 수 있는)의 서열을 포함하는 긴 RNA를 생성하는 플라스미드 또는 바이러스계(예: 렌티바이러스 또는 아데노바이러스) 발현 작제물과 같은 발현 벡터로부터 생성되지만, 헤어핀을 형성하기 위해 설계된 짧은 비-상보적 올리고뉴클레오타이드 서열로 분리된다. 이러한 발현 작제물로부터 RNA의 전사는 다이어프로세스에 의해 처리되고 siRNA에 대해 상기한 바와 같이 RISC 상에 부하되는 짧은 헤어핀 RNA의 형성을 유도한다.

[0217] 본 설명에서, 용어 "항바이러스성 ON"은 이의 특정 생화학적 활성에 의해(서열 의존적이든 서열 독립적이든) 바이러스 복제의 일부 양상을 직접적으로 또는 간접적으로 억제하거나 면역학적 또는 기타 메카니즘에 의해 바이러스 감염을 제거하는 숙주의 능력을 직접적으로 또는 간접적으로 향상시키는 능력을 갖는 임의의 안티센스 ON, siRNA, shRNA 또는 NAP를 의미한다.

[0218] 본 개시에서, 용어 "ON 퀄레이트 착물"은 전문이 본 명세서에 참조로 인용된 국제 출원 공보 제WO 2012/021985 호 및 미국 출원 공보 제2012/0046348호에 기술된 바와 같은 2가 금속 양이온에 의해 분자간 결합된 용액 중의 둘 이상의 ON의 착물을 의미한다. ON 퀄레이트 착물은 안티센스 ON, siRNA 또는 NAP로 형성할 수 있다.

[0219] 본 개시에서, 용어 "항바이러스성 ON 퀄레이트 착물"은 다가 금속 양이온에 의해 분자간 결합된 용액 중의 둘 이상의 항바이러스성 ON의 착물을 의미한다.

[0220] 포스포로티오에이트화 NAP는 HBV 감염된 간세포(참조: 실시예 I)로부터 SVP의 형성 및 방출을 또한 차단하는 신규한 부류의 ON-계 광범위한 스펙트럼 항바이러스 제제이다(참조: Bernstein et al., 2008, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 52: 2727-2733; Cardin et al., 2009, *Virology Journal*, 6: 214; Guzman et al., 2007, *Antiviral Therapy*, 12: 1147-1156; Lee et al., 2008, *Virology*, 372: 107-117; Matsumura et al., 2009, *Gastroenterology*, 137: 673-681; Vaillant et al., 2006, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50: 1393-1401 및 미국 특허 제8,008,269호, 제8,008,270호 및 제8,067,385호). SVP가 HBV 환자의 혈액 중의 HBsAg의 >99.9%를 구성하기 때문에, NAP에 의해 감염된 간세포로부터 SVP 형성 및/또는 방출의 차단은 HBV로 감염된 환자의 혈액으로부터 HBsAg를 제거하는 매우 효과적인 방법이다.

[0221] 실시예 II에 기술된 바와 같이, NAP에 의한 감염된 환자의 혈액으로부터 HBsAg의 제거는 또한 혈액으로부터 HBV e-항원(HBeAg)을 제거하는 면역 반응의 부분적인 회복 및 치료 동안 혈액 중의 바이러스 수준의 실질적인 감소를 유도하지만, 치료가 중단된 후 대부분의 환자에게서 유지되지 않는다. 이러한 면역 반응의 부분적인 회복(HBsAg 및 기타 바이러스 항원의 부재하에)은 작은 비율의 환자에서 치료가 중단된 후 HBV 감염의 지속성의 면역학적 억제의 확립을 유도할 수 있지만, 치료된 환자의 대부분에서 이러한 조절 치료 종료를 달성하기에 충분하지 않다. 따라서, 임의의 방법에 의해 또는 유사한 효과를 갖는 임의의 다른 약제학적으로 허용가능한 제제를 사용하여 혈액으로부터 HBsAg를 간단히 제거하는 접근법은 제한된 비율의 환자에서 지속성 조절 치료 종료의 확립을 유도하는 단지 동일한 중간 정도 수준의 면역학적 회복을 제공한다.

[0222] NAP를 제외하고, HBV 감염된 인간 환자에서 혈액으로부터 HBsAg를 신속하게 제거하는 능력을 갖는 어떤 기타 제제도 공적으로 개시되지 않았다. 그러나, 당해 기술 분야에 익히 공지된 혈액으로부터 HBsAg의 제거를 예상대로 달성하기 위해, NAP의 사용 이외에 사용될 수 있는 다수의 기타 방법이 존재한다. 이러한 방법은 (국한되지 않지만) 다음을 포함한다:

[0223] A. SVP의 형성을 차단하고, 감염된 세포의 분비 기구를 통해 SVP의 수송을 차단하고, 감염된 간세포로부터 SVP의 혈액으로의 방출을 차단하거나 일반적으로 감염된 세포로부터 HBsAg의 방출을 차단하기 위해 SVP의 형성에 관련된 HBsAg 단백질 또는 다른 바이러스 또는 숙주 인자의 부분을 표적화하기 위해 소분자 접근법을 사용함. 이 접근법에 사용된 소분자는 문현(참조: Yu et al., 2011, *J. Med Chem.* 54: 5660-5670)에 기술된 바와 같은

트리아졸로파리미딘 유도체를 포함할 수 있고, HBV-생성 세포주로부터 HBsAg의 방출을 차단하는 것으로 밝혀진 바와 같은 특정 트리아졸로파리미딘 유도체를 포함할 수 있다. (캐나다 출원 제2,746,981호에 기술된 바와 같이) SVP의 생산에 중요할 수 있는 Apo H 단백질을 표적화하는 기타 소분자가 또한 사용될 수 있다.

- [0224] B. 특정 mRNA를 표적화하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드, siRNA 또는 shRNA 분자를 포함하고, 이에 의해 SVP(캐나다 출원 제2,746,981호에 기술된 바와 같은 Apo H 포함)의 형성에 관련되는 HBsAg(HBcAg 단백질을 생성하기 위해 사용된 mRNA의 분해를 촉매화한다) 또는 기타 바이러스 또는 숙주 인자의 합성, 감염된 세포의 분비 기구를 통해 SVP의 수송 또는 감염된 간세포로부터 SVP의 혈액으로의 방출을 억제하기 위해 이들의 분해를 촉매화하는 안티센스계 ON 접근법을 사용함. 이러한 안티센스계 접근법은 또한 감염된 간세포로부터 SVP의 형성, 세포내 수송 또는 방출에 중요한 단백질의 합성에 필요한 바이러스 또는 숙주 mRNA로 하이브리드화하고 상기한 메카니즘에 의해 이러한 mRNA의 분해를 야기하기 위해 사용될 수 있다. 특히, HBV 중의 일부 안티센스계 접근법은, 단일 안티센스 분자, 예를 들면, siRNA가 문헌(참조: Fu et al., 2008, *Acta Pharmacol. Sin.* 29: 1522-1528)에 기술된 HBsAg, HBeAg 및 HBcAg 합성에 동시에 영향을 미치는 HBV 계놈으로부터 생성된 모든 mRNA의 분해를 야기하는 HBV 계통 상의 단일 영역에 하이브리드화함으로써 바이러스 계놈으로부터 생성된 모든 HBV mRNA를 방해하도록 설계될 수 있기 때문에, 특히 유리할 수 있다. 둘 이상의 안티센스 분자는 또한 별도의 분자로서 또는 문헌(참조: Snyder et al., 2008, *Antiviral Res.*, 80: 36-44)에 기술된 바와 같은 감염된 숙주에 도입된 단일 발현 벡터로부터 생성된 분자로서 동시에 사용될 수 있다. HBV 단백질의 합성의 안티센스계 억제용으로 당해 기술 분야에 공지된 예는 다음을 포함한다:
- [0225] a. 알트리톨-변형된 siRNA 리포플렉스(참조: Hean et al., 2010, *Artificial DNA: PNA & XNA*, 1: 17-26).
- [0226] b. 하나 이상의 siRNA 서열(참조: Xin et al., 2008, *World J. Gastroenterol.*, 14: 3849-3854; Zhe et al., 2005, *J. Zhejiang Univ. Sci.*, 6B: 236-241 and reviewed in Chen et al., 2008, *Pharmaceutical Res.*, 25: 72-86).
- [0227] c. 하나 이상의 siRNA 서열 및 다중접합 시스템(ARC-520), <http://www.arrowheadresearch.com/press-releases/arrowhead-research-advances-arc-520-ind-enabling-studies-treatment-hepatitis-b-and>; [http://www.arrowheadresearch.com/sites/default/files/press\\_releases/pdf/whitepaper-hbv-3-7-12.pdf](http://www.arrowheadresearch.com/sites/default/files/press_releases/pdf/whitepaper-hbv-3-7-12.pdf).
- [0228] d. 고정된 핵산 변형된 안티센스 분자(참조: Sun et al., 2011, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 409: 430-435).
- [0229] e. 하나 이상의 shRNA(참조: Zhang et al., 2010, *BMC Microbiol.* 10:214; Starkey et al., 2009, *J. Gen Virol.* 90: 115-126 and reviewed in Chen et al., 2008, *Pharmaceutical Res.*, 25: 72-86).
- [0230] C. 혈액으로부터 이들의 제거를 촉진시키기 위해 순환에 존재하는 HBsAg, HBeAg 또는 HBcAg 단백질 또는 기타 바이러스 또는 숙주 인자(Apo H 포함)의 부분을 표적화하기 위해 ON-계 압타머 접근법(고전적인 압타머 또는 스피겔머 포함)을 사용함. 고전적인 압타머 및 스피겔머는 이들의 안정성 및 순환 반감기를 향상시키기 위해 문헌(참조: Waters et al. 2011 *Blood* 117: 5514-5522 and Wlotzka et al. 2002 *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 99: 8898-8902)에 기술된 바와 같이 추가로 폐길화될 수 있다.
- [0231] D. HBsAg를 직접 표적화하고 혈액으로부터 이의 제거를 가속화하기 위해 항체계 접근법을 사용함.
- [0232] 본 명세서에 사용된 용어 "혈액으로부터 HBsAg의 제거"는 애보트 아키텍트(Abbott Architect<sup>TM</sup>) 정량적 HBsAg 분석에 의해 측정된 전처리 HBsAg 혈액 농도에 비해 혈액 중의 농도 HBsAg의 임의의 통계학적으로 유의한 감소를 의미한다. 이 혈청 HBsAg 분석은 혈액 중의 HBsAg의 수준의 측정에 허용되는 표준이고, 인간 환자에서 진단 용도를 위해 승인된다.
- [0233] 본 개시에 유용할 수 있는 ON의 예는 표 1에 제공된다.

### 표 1

본 개시에 유용할 수 있는 ON의 예

ON 부류	핵산 형태	서열(5'-3')	변형
NAP	DNA	(AC) <sub>20</sub> (서열번호 2)	모든 결합 PS

NAP	DNA	(CA) <sub>20</sub> (서열번호 1)	모든 결합 PS
NAP	DNA	(A-5'MeC) <sub>20</sub> (서열번호 3)	모든 결합 PS
NAP	DNA	(5'MeC-A) <sub>20</sub> (서열번호 4)	모든 결합 PS
NAP	RNA	(2'OMeA-2'OMeC) <sub>20</sub> (서열번호 5)	모든 결합 PS
NAP	RNA	(2'OMeC-2'OMeA) <sub>20</sub> (서열번호 6)	모든 결합 PS
NAP	DNA	(TG) <sub>20</sub> (서열번호 7)	모든 결합 PS
NAP	DNA	(GT) <sub>20</sub> (서열번호 8)	모든 결합 PS
NAP	RNA	(2'OMe, 5'MeC-2'OMeA) <sub>20</sub> (서열번호 9)	모든 결합 PS
NAP	RNA	(2'OMeA-2'OMe, 5'MeC) <sub>20</sub> (서열번호 10)	모든 결합 PS
안티센스	DNA/RNA	서열은 바이러스 또는 숙주 mRNA(예: Apo H) 또는 HBV mRNA에 100% 상보적이다	모든 결합 PS는 2'리보스 변형을 갖는 RNA 또는 LNA의 일부를 함유할 수 있다
siRNA	이중 가닥 RNA/DNA	바이러스 또는 숙주 mRNA(예: Apo H) 또는 HBV mRNA에 100% 상보적인 서열을 함유한다	2'리보스 변형을 갖는 RNA를 함유할 수 있고, PS를 함유할 수 있다
shRNA	발현 벡터로부터 생성된 이중 가닥 RNA	바이러스 또는 숙주 mRNA(예: Apo H) 또는 HBV mRNA에 100% 상보적인 서열을 함유한다	RNA

PS = 포스포로티오에이트, 2'OMe = 2'0 메틸, 5'MeC = 5'메틸시토신

[0235] 혈액으로부터 HBsAg 제거를 달성하기 위해 사용될 수 있는 상기한 각종 약제학적으로 허용되는 담체를 위한 예시적인 유효한 용량 처방은 다음과 같다:

[0236] HBV 또는 apoH mRNA의 분해를 야기하는 모든 NAP 및 포스포로티오에이트화 안티센스 올리고뉴클레오파이드의 경우, 100-500mg의 화합물의 매주 비경구 투여의 통상적인 사용은 이하 실시예에서 NAP 및 문헌(참조: Akdim et al. 2010 Journal of the American College of Cardiology 55: 1611-1618)에 의해 간 특이적 mRNA(아포지단백질 B100의 경우)의 분해를 야기하는 포스포로티오에이트화 안티센스 ON에 대해 기술된 바와 같이 간에서 이러한 화합물의 치료학적 활성 수준의 달성을 유도하기 위해 당해 기술 분야에서 충분히 확립된다.

[0237] 간에서 활성의 치료학적 수준을 달성하기 위해, siRNA는 전형적으로 캡슐화되고, 다음에 기술된 바와 같이 인간 환자의 간에서 PCSK9를 위해 mRNA를 분해시키는 특정 용도로 투여된다:

[0238] [http://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&ved=0CDgQFjAB&url=http%3A%2F%2Fwww.alnylam.com%2Fcapella%2Fwp-content%2Fuploads%2F2012%2F01%2FALNY-PCS-PhiI-PrelimResults-Jan2012.pdf&ei=i6UUZnBLZbe4AO8roHoBA&usg=AFQjCNGiN3K7\\_fVEcY-\\_2F91nDuepwraZA&sig=3ZAZvGQOJXQ1xU4W--Rb5w&bvm=bv.46471029,d.dmg&cad=rja](http://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&ved=0CDgQFjAB&url=http%3A%2F%2Fwww.alnylam.com%2Fcapella%2Fwp-content%2Fuploads%2F2012%2F01%2FALNY-PCS-PhiI-PrelimResults-Jan2012.pdf&ei=i6UUZnBLZbe4AO8roHoBA&usg=AFQjCNGiN3K7_fVEcY-_2F91nDuepwraZA&sig=3ZAZvGQOJXQ1xU4W--Rb5w&bvm=bv.46471029,d.dmg&cad=rja)

[0239] 상기한 바와 같이, 캡슐화된 siRNA는 0.015 내지 0.20mg/kg 범위의 비경구 용량으로 인간 환자의 간에서 치료 효과를 달성할 수 있고, 2주마다 한번 또는 한달에 한번 투여로 지속적인 효과를 제공할 수 있을 것으로 기대된다.

[0240] 인간 설정에서는 아직 사용되지 않았지만, 설치류에서 생체내에서 작용하는 shRNA는, shRNA를 발현시키기 위해 설계된 발현 벡터가, siRNA와 필적할 만한 농도로 마우스에게 투여될 경우, siRNA와 동등하게 효과적일 수 있다 (참조: McAnuff et al. 2007. Journal of Pharmaceutical Science 96: 2922-2930)는 것을 나타냈다. 따라서, 상기한 바와 같은 바이러스계 또는 캡슐화계 전달 시스템을 사용하는 shRNA 투여는 siRNA에 대해 사용된 것과 필적할 만한 용량 처방으로 간에서 필적할 만한 효과를 달성한다는 것이 기대된다.

- [0241] 압타머는 전형적으로 향상된 안정성을 달성하기 위해 폐길화되고, 문헌(참조: Waters et al. 2011 Blood 117: 5514-5522)에 기술된 바와 같이 100-600  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 매주 비경구 용량으로 치료학적으로 유효할 수 있다.
- [0242] 스피겔머는 또한 전형적으로 향상된 순환 반감기를 달성하기 위해 폐길화되고, 미국 조지아주 아틀랜타 제54회 ASH 회의 및 박람회에서 제시된 문헌(참조: Riecke et al. 2012 Abstract 2432)에 의해 기술된 바와 같이 격일로 제공된  $> 1.2\text{mg}/\text{kg}$ 의 비경구 용량으로 치료학적으로 유효할 수 있다. HBV 감염 환자의 혈액으로부터 HBsAg 또는 기타 HBV 단백질에 대한 결합 및 이의 제거를 가속화함과 관련하여, HBV 감염 환자에게 전형적으로 존재하는 고농도의 HBsAg에 기인하여 압타머 또는 스피겔머 둘 다의 높은 용량이 필요할 수 있다.
- [0243] 상기한 바와 같이, HBV 감염의 치료에 대한 면역요법적 접근은 제한된 효능을 갖는다. 인터페론계 단일요법의 제한 중의 하나는 매우 적은 비율의 환자의 혈액으로부터 HBsAg 제거의 달성이다(참조: Moucari et al., 2009, Antiviral Ther., 14: 1183-1188; Reijnders et al., 2011, J. Hepatol., 54: 449-454). 이 HBsAg 제거는 이러한 적은 비율의 치료 환자에서 HBV DNA 치료 계속 및 종료(on and off treatment)의 지속가능한 조절의 달성의 기초가 될 수 있다(참조: Moucari et al., 2009, Hepatology, 49: 1151-1157). 인터페론계 요법의 다른 중요한 제한은, 이것이 48주 노출 후 치료 중인 환자의 매우 적은 비율에서 항-HB 생산의 중간 정도 수준(< 50mIU/ml)만을 도출한다는 점이다(참조: Reijnders et al., 2011, J. Hepatol., 54: 449-454; Harayiannis et al., 1990, J. Hepatol., 10: 350-352). 이러한 중요한 제한은 아마도 면역요법 후 제한된 수의 환자에서만 지속적인 바이러스 반응의 달성이 기초가 되는 중요한 요인이다.
- [0244] 상기한 바와 같이, HBsAg는 면역 기능의 사이토킨 매개된 자극에 중요한 신호전달 경로를 차단할 수 있다. 많은 상이한 부류의 면역요법제가 면역 활성화를 수행하기 위해 다수의 공통적인 신호 전달 경로를 사용한다는 것이 당해 기술 분야에 익히 공지되어 있다. 본 명세서에 제공된 개시는 면역요법제에 의해 사용된 이러한 신호 전달 경로 중의 다수 (또는 대부분)가 또한 HBsAg의 작용에 의해 차단될 수 있음을 추가로 보여준다. 본 명세서의 새로운 개시는, 상이한 면역요법의 작용이 구체적으로 HBsAg의 존재에 의해 억제되고, 이러한 상이한 면역요법의 치료 효과가, 치료 요법에 제공될 경우, HBsAg의 부재하에 상승적으로 향상된다는 것을 나타낸다. 따라서, 혈액으로부터 HBsAg의 제거는 또한 다수의 상이한 면역요법제의 최적 활성에 필요한 신호전달 경로의 더 약한 억제를 유도한다. 따라서, 혈액에서 이미 HBsAg가 제거되거나 면역요법 동안 혈액에서 HBsAg를 활성적으로 제거하는 환자에게 면역요법의 적용은 아마도 임의의 면역요법의 면역자극 효과에 대한 유사한 상승적 영향을 경험할 것이다.
- [0245] 본 개시에서, 용어 면역요법제는 이의 특정 생화학적 활성에 의하여 숙주의 면역 기능을 직접적으로 또는 간접적으로 향상시키는 능력을 갖는 소분자 또는 폴리펩타이드 또는 사이토킨 또는 호르몬을 의미한다. 폴리펩타이드는 천연 유도되거나 재조합될 수 있다. 폴리펩타이드는 천연 발생 폴리펩타이드의 부분으로부터 재조합적으로 유도될 수 있다. 폴리펩타이드는 폐길화되거나 되지 않을 수 있다.
- [0246] 폴리펩타이드의 폐길화 방법 및 이러한 폴리펩타이드의 생화학적 활성과 폐길화의 적합성은 당해 기술 분야에 익히 공지되어 있고, 특정 아미노산 잔기에서 문제의 폴리펩타이드에 대한 폴리에틸렌글리콜(PEG)의 가닥의 결합으로 이루어진다. 폐길화의 주요 기능은 폴리펩타이드의 순환 수명을 증가시키고 또한 이의 면역원성을 감소시키는 것이다. 이러한 특성은 문제의 폴리펩타이드의 내성을 향상시키고, 최적의 치료 효과를 위해 필요한 투여 빈도를 감소시킨다. 폴리펩타이드에 PEG 잔기의 부착은 문제의 폴리펩타이드의 특정 생화학적 활성에 영향을 미치지 않고 달성될 수 있다는 것이 당해 기술 분야에 추가로 공지되어 있다. 폐길화는 또한 문제의 폴리펩타이드의 수용해도를 증가시켜 이의 제형화 용이성을 향상시키는 것으로 공지되어 있다. 폐길화된 폴리펩타이드의 다수의 예는 당해 기술 분야에 공지되어 있고, 에리트로포이에틴의 폐길화 형태, 미르세라(Mircera<sup>TM</sup>); 인간 과립구 콜로니-자극 인자의 폐길화 형태, 뉴라스타(Neulasta<sup>TM</sup>); 인간 인터페론  $\alpha$ -2a의 폐길화 형태, 페가시스(Pegasys<sup>TM</sup>); 인간 인터페론  $\alpha$ -2b의 폐길화 형태, 페그-인트론(Peg-intron)<sup>TM</sup>; 및 폐길화 인터페론  $\lambda$ 1(이는 현재 임상 개발 중이다)을 포함한다.
- [0247] 추가로, HBV 단백질의 존재하에(예: 감염된 환자, 침팬지 또는 세포상 모델에서) 유용한 면역요법 활성을 갖는 것으로 이전에 제시되지 않았던 면역요법제는 이제 혈액으로부터 HBsAg의 제거로 유용한 면역요법 활성을 갖는 것으로 제시될 수 있고, 혈액으로부터 HBsAg를 제거하는 임의의 제제와 함께 HBV의 치료에 추가로 유용할 수 있다.
- [0248] 임의의 면역요법제의 항바이러스 활성의 입증은 일반적으로 이 자극된 면역 기능이 항바이러스 효과를 갖도록 면역 기능을 자극하는 이의 능력의 간접적 척도로서 일반적으로 허용된다. 따라서, 항바이러스 활성을 갖는 임

의의 면역요법제는 면역 기능을 자극하는 능력을 갖는다.

[0249] HBV 및 C형 간염(HCV) 치료용 폐길화 인터페론  $\alpha$ -2a(폐가시스<sup>TM</sup>), HBV 및 HCV 치료용 인터페론  $\alpha$ -2b(인트론- $A^{\text{TM}}$ ) 및 대부분의 아시아 국가에서 HBV 치료용 티모신  $\alpha$ 1(자닥신(Zadaxin<sup>TM</sup>))을 포함하는 다수의 면역요법제가 바이러스 감염 치료용으로 현재 승인되고 있다. 사이토킨 인터페론  $\lambda$ 1,  $\lambda$ 2,  $\lambda$ 3 및  $\gamma$  및 TNF  $\alpha$ (참조: Friberg et al., 2013, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 57: 1312-1322; Lau et al. 1991, Hepatology 14: 975-979; McClary et al. 2000. Journal of Virology 74: 2255-2264; Robek et al. 2005. Journal of Virology 79: 3851-3854), 폐길화 인터페론  $\lambda$ 1(참조: Muir et al., 2010, Hepatology, 52: 822-832), 및 소분자 톤형 수용체 작용제, 예를 들면, GS-9620(현재 길리드 사이언시즈(Gilead Sciences)에 의해 개발중), ANA-773(현재 아나디스(Anadys)에 의해 개발중) 및 면역자극 올리고뉴클레오파이어 IMO-2055 및 IMO-2125(현재 아이데라 파마슈티칼스(Idera Pharmaceuticals)에 의해 개발중)(참조: Wu et al., 2007, Hepatology, 46: 1769-1778; Horscroft et al., 2012, J. Antimicrob. Chemotherapy, 67: 789-801; Lanford et al. 2013 Gastroenterology Feb 12 in press; www.natap.org/2010/AASLD/AASLD\_39.htm)를 포함하는 입증된 항바이러스 활성을 갖는 기타 면역요법제가 또한 존재한다. 추가로, 호르몬 테하이드로에피안드로스테론(5-안드로스텐-3 $\beta$ -17-온, DHEA) 및 많은 이의 대사산물(안드로스텐디올(5-안드로스텐-3 $\beta$ -17 $\beta$ -디올,  $\beta$ AED), 안드로스텐트리올(5-안드로스텐-3 $\beta$ -7 $\beta$ -17 $\beta$  트리올  $\beta$ AET)을 포함)은 바이러스 감염에 대한 보호성 백신 반응의 개발을 향상시키고, 생체내 다수의 바이러스 감염에 대해 직접 항바이러스 활성을 제공하는 능력과 함께 명확한 충분히 확립된 면역자극 기능성을 갖는다(참조: Araeno et al., 1993, J. Inf. Dis., 167: 830-840; Danenberg et al., 1995, Vaccine, 13: 1445-1448; Khorram et al., 1997, J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci., 52: M1-M7; Loria and Padgett, 1998, Rinsho Byori, 46: 505-517; Loria, 2002, Steroids, 67: 953-966; Knoferl et al., 2003, J. Appl. Physiol., 95: 529-535; Oberbeck et al., 2007, Inten. Car Med., 33: 2207-2213; Burdnick et al., 2009, Int. Immunopharmacol., 9: 1342-1346; Hazeldine et al., 2010, J. Steroid Biochem. Mol. Biol., 120: 127-136; Schmitz et al., 2013, Med. Chem., Feb 15, Epub ahead of print).

[0250] 본 개시 및 HBV 감염의 맥락에서 기술된 바와 같은 면역 기능의 자극의 측정은 (이에 국한되지 않지만) 면역요법을 수용한 환자에서 생성되는 유리 항-HBsAg 항체의 수준의 변화에 의해 가장 용이하게 측정된다. 애보트 아키텍트(Abbott Architect<sup>TM</sup>) 정량적 항-HBsAg 항체 시험의 사용은 만성 HBV 감염 환자의 혈청에서 유리 항-HBsAg 항체의 평가 수준을 위해 전세계적으로 허용된 방법이고, HBV 감염 환자에서 항-HBsAg 항체의 외관 및 증가된 생산은 면역요법 또는 HBV 폴리머라제 억제 요법을 수용한 이러한 환자에서 면역 반응의 허용되는 대리 척도이다.

[0251] 상기한 병용 치료의 존재하에 면역 기능의 향상을 모니터하기 위해 사용될 수 있는 면역 기능의 다른 허용되는 척도가 있다. 이러한 척도는 인터페론-반응 유전자의 전사 활성의 증가, 혈액 중의 HBV-특이적 CD4+ 또는 CD8+ T-세포의 수준의 증가 또는 혈액 중의 각종 사이토킨, 예를 들면, IL2의 증가된 수준을 포함할 수 있다(참조: Liang et al. 2011. Virology Journal 8: 69).

[0252] HBV(전형적으로 항원으로서 HBsAg를 사용)에 대한 백신 접종의 사용은 HBV 감염을 효과적으로 예방하는 익히 인식된 방법이고, HBV 감염의 확산을 예방하기 위해 전세계적으로 채택된 방법이다. 그러나, HBV 항원에 대한 백신 접종은, 백신이 두 개의 상이한 HBV 항원, 예를 들면, HBsAg 및 HBcAg(Mahtab et al. 2013. J. Hepatol. 58 (supp 1) abstract 760)를 조합하는 경우에도, 치료 설정에서 단지 중간 정도 내지 무시할 수 있는 효과를 갖는다. 본 명세서에 제공된 개시에 따라서, 이 빈약한 효과는 이러한 환자의 혈액에 존재하는 HBsAg의 순환 수준에 기인할 수 있고, 따라서 HBsAg (또는 다른 HBV 단백질)에 대한 새로운 항체의 생산을 자극하는 백신의 능력은 혈액으로부터 HBsAg의 제거로 크게 향상시킬 수 있다.

[0253] 따라서, 혈액으로부터 HBsAg의 제거 이전, 제거 동안 또는 제거 후에 투여될 때 유용할 수 있는 면역 기능을 자극할 수 있는 것으로 공지된 많은 면역요법제가 존재하고, 이러한 면역요법제는 (제한 없이) 다음을 포함한다:

[0254] 티모신  $\alpha$ 1;

[0255] 임의의  $\alpha$ -인터페론 또는 이의 폐길화 유도체;

[0256] 임의의  $\beta$ -인터페론 또는 이의 폐길화 유도체;

[0257] 임의의  $\gamma$ -인터페론 또는 이의 폐길화 유도체;

- [0258] 임의의  $\lambda$ -인터페론 또는 이의 페길화 유도체;
- [0259] 인터페론  $\alpha$ -2a 또는  $\alpha$ -2b 또는  $\alpha$ -N3;
- [0260] 인터페론  $\beta$ -1a 또는  $\beta$ -1b;
- [0261] 인터페론  $\gamma$ -1b;
- [0262] 인터페론  $\lambda$ 1 또는  $\lambda$ 2 또는  $\lambda$ 3;
- [0263] 페길화 인터페론  $\alpha$ -2a 또는  $\alpha$ -2b 또는  $\lambda$ 1 또는  $\lambda$ 2;
- [0264] 타이믹 단백질 A;
- [0265] 임의의 항바이러스 사이토킨 또는 이의 페길화 유도체;
- [0266] 항바이러스 활성 또는 면역자극 활성을 갖는 것으로 제시된 임의의 폴리펩타이드;
- [0267] 면역자극 올리고뉴클레오타이드, 예를 들면, IMO-2125 및 IMO-2055;
- [0268] 임의의 HBV 항원을 표적화하는 백신;
- [0269] 소분자 톨형 수용체 작용제, 예를 들면, GS-9620, 및 ANA-773; 및
- [0270] 항바이러스 활성 또는 면역자극 활성을 갖는 것으로 제시된 임의의 호르몬, 예를 들면, DHEA 또는 이의 대사산물.
- [0271] 면역 기능의 자극을 달성하기 위해 사용되는 면역요법제의 예시적인 유효한 용량 처방은 다음을 포함할 수 있다:
- [0272] (패키지 인서트에 따라) 페가시스<sup>TM</sup>의 경우 90-180ug의 주간 용량;
- [0273] (패키지 인서트에 따라) 자닥신<sup>TM</sup>의 경우 1.6mg의 주간 용량;
- [0274] (패키지 인서트에 따라) 인트론-A<sup>TM</sup>의 경우  $1 \times 10^7$ U의 주간 용량;
- [0275] 문현(참조: Muir et al., 2010, Hepatology, 52: 822-832)에 기술된 바와 같은 페길화 인터페론  $\lambda$ 1의 경우 1.5-3.0 ug/kg의 주간 용량;
- [0276] 페길화되든 페길화되지 않은 임의의 사이토킨 또는 면역요법 펩타이드에 대해 상기한 바와 같은 유사한 주간 용량;
- [0277] 다음에 기술된 바와 같은 비 CpG 면역자극 올리고뉴클레오타이드 IMO-2125에 대한 0.16-0.48 mg/kg/주의 주간 용량:
- [0278] <http://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=4&ved=0CEsQFjAD&url=http%3A%2F%2Fwww.iderapharma.com%2Fdevelopment%2FIMO-2125-AASLD-10312010.pdf&ei=WTiUUfnxHdWp4AO9vYGoBw&usg=AFQjCNENcwjLWM1b2r8Gf0JmWPRaeh-Xbw&sig2=kyENERyNTYmQoADWGoP1uQ&bvm=bv.46471029,d.dmg&cad=rja>
- [0279] 당해 기술 분야에서, 특히 HBV 백신 에너지스(Energix)-B<sup>TM</sup>, 리콤비박스(Recombivax)-HB<sup>TM</sup>에 대한 관행에 따라 일반적으로 금지된 백신 용량.
- [0280] 따라서, 본 명세서에 제시된 개시로, 상기 인용된 임의의 면역요법제에 의한 숙주 면역 기능의 자극과 결합될 때 환자의 혈액에서 HBsAg의 제거를 달성할 수 있는 임의의 상기 인용된 방법 또는 제제가 HBV 감염 또는 HBV/HDV 공동 감염 환자에서 면역 기능의 재구성에 대한 상승 효과를 생성할 것으로 기대된다. 감염 치료 종료의 조절을 더 잘 지속할 수 있는 면역 기능의 회복의 달성을 이외에, 이러한 상승작용은 또한 대부분의 환자에서 치료학적으로 유효한 면역 반응을 확립하기 위해 필요한 어느 하나의 제제로 하나 또는 두 제제의 용량 및 심지어 치료 지속 기간을 감소시킬 것으로 예상될 수 있다. 실시예 III은 NAP REP 2139에 의한 HBsAg의 제거가 티모신  $\alpha$ 1 또는 페길화 인터페론  $\alpha$ -2a에 의한 부가 요법에 이어질 때 면역학적 회복에 대한 상승 효과를 예시한다.

- [0281] 혈액으로부터 HBsAg를 제거할 수 있는 제제를 면역요법제와 결합하는 맥락에서, 임의의 HBsAg 제거량은 면역요법의 활성에 상승적 개선을 제공할 수 있고, 특별한 면역요법제의 분획화 용량은, HBsAg가 완전히 제거되지 않더라도, 면역요법제의 필적하거나 훨씬 더 우수한 면역자극 활성을 유도할 수 있다. 따라서, 혈액으로부터 HBsAg 제거를 유도하는 임의의 제제를 임의의 면역요법제와 결합하면 항바이러스 반응(숙주 면역학적 억제) 치료 종료(off treatment)의 지속성을 향상시킬 가능성을 갖는 두 제제의 작용에 대한 상승 효과를 가질 수 있고, 또한 어느 하나가 단일요법에 사용될 경우와 유사하거나 훨씬 더 우수한 효과를 달성하기 위한 두 제제의 감소된 용량을 필요로 할 수 있다.
- [0282] 따라서, 본 명세서에 제공된 개시에 따라서, 제2의 약제학적으로 허용가능한 면역요법제와 조합하여 혈액으로부터 HBsAg의 감소 또는 클리어런스를 유도하는 약제학적으로 허용가능한 제제로 HBV 감염 또는 HBV/HDV 공동 감염 대상자를 치료하는 것이 유용할 수 있다.
- [0283] 두 약제학적으로 허용가능한 제제를 동일한 약제학적 조성물로 투여하거나 두 약제학적으로 허용가능한 제제를 별도의 약제학적 조성물로 동시에 또는 상이한 시간에 투여하는 것이 또한 유용할 수 있다.
- [0284] 약제학적으로 허용가능한 제제를 동일하거나 상이한 투여 경로로 투여하는 것이 또한 유용할 수 있다.
- [0285] 대상자에게 최상의 가능한 항바이러스 반응을 제공하기 위해, 상기한 병용 요법에 HBV 폴리머라제 억제제, 예를 들면, (이에 국한되지 않지만) 테노포비르 디소프록실 푸마레이트, 엔테카비르, 텔부비딘, 아데포비르 디피복실 또는 라미부딘을 첨가하는 것이 필요할 수 있다. 이러한 항바이러스 약물은 HBV에서 이중 가닥 바이러스 게놈의 복제를 예방하고 혈액에서 HBV 바이러스의 농도를 낮출 수 있다.
- [0286] 본 명세서에 기술된 조성물은 임의의 적합한 수단에 의해, 예를 들면, 경구로, 예를 들면, 정제, 캡슐제, 과립제 또는 산제 형태로; 설하; 비경구로, 예를 들면, 피하, 정맥내, 근육내 또는 주사 또는 주입 기술로(예: 멸균 주사가능한 수성 또는 비수성 용액 또는 혼탁액으로서); 흡입; 국소로, 예를 들면, 크림 또는 연고 형태로; 또는 직장, 예를 들면, 좌제 또는 관장제 형태로; 무독성의 약제학적으로 허용되는 비허를 또는 희석제를 함유하는 투여 단위 제형으로 투여될 수 있다. 본 조성물은, 예를 들면, 즉시 방출 또는 지속 방출에 적합한 형태로 투여될 수 있다. 즉시 방출 또는 지속 방출은 적합한 약제학적 조성물의 사용으로, 또는 특히 지속 방출의 경우에는 피하 이식체 또는 삼투압 펌프와 같은 장치의 사용으로 달성될 수 있다. 따라서, 상기한 조성물은 경구 섭취, 흡입, 피하 주사, 근육내 주사, 복강내 주사, 정맥내 주사 또는 주입, 또는 국소 중의 임의의 하나에 의한 투여용으로 적합할 수 있다.
- [0287] 본 개시는 다음 실시예를 참조하여 보다 용이하게 이해될 것이다.
- [0288] 실시예 I
- [0289] **NAP는 세포외 HBsAg의 운송을 억제한다**
- [0290] HBsAg는 HBV 감염에 대한 면역 반응의 많은 양상을 차단하는 것으로 제시되었다(참조: Cheng et al., 2005, J. Hepatology, 43: 465-471; Moucarri et al., Hepatology 49: 1151-1157; Vanlandschoot et al., 2002, J. Gen. Virol. 83: 1281-1289; Woltman et al., 2011, PloS One 6: e15324; Wu et al., 2009, Hepatology 49: 1132-1140 and Xu et al., 2009, Mol. Immunology 46: 2640-2646). 따라서, 순환성 HBsAg의 제거는 만성 B형 간염 환자에서 면역능력의 회복을 가능하게 하는데 있어서 중요한 인자일 수 있다. 순환에서 HBsAg를 제거하는 효율적인 방법은 감염된 세포로부터 서브바이러스성 입자(SVP)의 형성 및/또는 방출을 예방하는 것이다(SVP는 혈액으로의 HBsAg의 주요 담체이다). SVP의 형태 형성 및 세포내 수송은 SVP에 특별히 풍부한 형태인 HBsAg 단백질(sHBsAg)의 작은 형태를 발현시킴으로써 BHK-21 세포에서 시험관내 모델화할 수 있다. 이 모델 시스템은 HBV SVP의 형태 형성 및 수송을 위한 대리 모델인 것으로 간주된다(참조: Patient et al., 2007, J. Virology 81: 3842-3851). HBV 감염의 만성화를 허용하는데 있어서 혈청 HBsAg의 중요한 역할 때문에, 이 모델에서 화합물의 효능은 HBV에 대한 이들의 항바이러스 활성을 입증한다.
- [0291] 각종 NAP 화합물을 완전 변성 포스포로티오에이트화 NAP REP 2006 및 REP 2107, 비-포스포로티오에이트화된 완전 2' O 메틸화 변성 NAP(REP 2086) 뿐만 아니라 폴리 AC 서열: REP 2055(서열번호 2) 및 REP 2148(서열번호 3)로 이루어진 NAP를 포함하는 sHBsAg-발현 BHK-21 세포에서 시험하였다. 이러한 NAP를 전기천공법을 사용하여 sHBsAg 발현을 위한 주형 RNA와 동시에 BHK-21 세포에 도입시켰다. BHK 모델 시스템에서의 활성은 면역형광 현미경법에 의해 BHK-21 세포 내부에서 HBsAg 단백질의 위치를 가시화함으로써 평가하였다. 핵주위 공간에서 SVP의 형성은 투과 전자 현미경법으로 가시화하였다. 화합물은, HBsAg가 핵주위 공간으로 제한되고, 세포 주변으

로의 수송(분비)이 예방되었거나 SVP의 형성이 예방되었을 경우, 활성인 것으로 판단되었다. 각종 NAP 화합물의 활성은 이하 표 2에 요약된다.

표 2

BHK-21 세포에서 HBsAg 수송에 대한 각종 NAP의 효과

NAP	핵주위 공간에 유지된 HBsAg	세포 주위로 HBsAg 수송	SVP 형성
대조군(NAP가 전혀 존재하지 않음)	-	++++	++++
REP 2006	++++	-	-
REP 2107	+++	+	-
REP 2086	-	++++	++++
REP 2055 (서열번호 2)	++++	-	시험되지 않음
REP 2148 (서열번호 3)	++++	-	시험되지 않음

- = 효과가 관찰되지 않음  
+ 내지 +++ = 효과를 완료하기 위한 한계가 관찰됨

[0293] REP 2006 및 REP 2107로 shHBsAg 발현 BHK-21 세포의 치료 결과는 서열 독립 방식으로 SVP의 형성 및 shHBsAg의 수송을 차단하는 NAP에 대한 능력을 입증한다. REP 2086에 의한 활성의 부족은 이러한 NAP의 활성이 포스포로티오에이트화의 존재에 엄격하게 의존한다는 것을 입증한다. 또한, 이 능력은 2' 리보스 변형(REP 2107 중에서) 및 염기 변형(REP 2148의 경우에 5' 메틸시토신)의 존재하에 유지되었다. 추가로, REP 2107, REP 2055는 완전히 임의의 면역조절 활성의 결여인 것으로 공지되어 있고, REP 2006에 대해 동등하게 활성이었다. 또한, 폴리 AC (REP 2055 및 REP 2148)의 정의된 서열은 변성 서열(REP 2006 및 REP 2107)에 동등하게 활성이었다.

[0294] 이러한 결과는 변성 서열 및 교호성 퓨린/피리미딘 뉴클레오파이드의 반복체, 예를 들면, AC (및 따라서 또한 CA) 및 또한, 예를 들면, TG 및 GT 또는 UG 및 GU를 함유하고 임의로 2' 리보스 변형 및/또는 염기 변형을 포함하는 서열의 문맥내에서, NAP는 미국 특허 제8,008,269B2호, 제8,008,270B2호 및 제8,067,385B2호에 기술된 바와 같은 NAP의 서열 독립적 특성에 따라서 20-120 뉴클레오파이드의 올리고뉴클레오파이드 길이에서 감염된 세포로부터 SVP의 형성 및 세포내 수송 및 분비를 차단할 수 있는 것으로 기대된다는 것을 보여준다.

### 실시예 II

#### 다른 HBV 단백질의 제거 및 면역학적 회복에 대한 HBV 감염 환자의 혈액으로부터 HBsAg 클리어런스의 효과

[0297] HBV로 만성적으로 감염된 환자를 NAP REP 2055(또한 REP 9AC, 서열번호 2로서 공지되어 있다)로 처리하여 이들의 혈액으로부터 HBsAg를 제거하였다. 혈액 중의 HBsAg 수준에 대한 REP 2055 투여(전형적으로 400mg의 주간 용량)의 효과를 애보트 아키텍트™ 정량적 HBsAg 시험을 사용하여 모니터링하였고, 표 3에 제시한다.

표 3

만성 HBV 감염 환자에서 HBsAg의 혈액 수준에 대한 NAP REP 2055에 의한 치료 효과

환자	전처리 HBsAg (IU/ml)	치료 종료 HBsAg (IU/ml)
1	934	0.14
2	1885.4	0.38
3	384.1	0.00
4	126465.07	0.03
5	158180	0.00
6	36996	7.00
7	4672.5	43.7

[0299] 혈액으로부터 HBsAg의 제거는 순환성 HBeAg의 추가의 감소(애보트 아키텍트™ 정량적 HBeAg 시험에 의해 두 환자

에서 측정됨 - 표 4 참조), 유리 항-HBsAg 항체의 외관(애보트 아키텍트™ 정량적 시험에 의해 측정됨 - 표 5 참조) 및 혈액 중의 HBV 바이러스의 감소(로슈 코바스(Roche Cobas™) 정량적 시험에 의해 측정된 HBV DNA - 표 6 참조)에 의해 증명된 바와 같이 면역학적 회복을 유발하였다. 순환성 HBV 바이러스의 감소가 모든 환자에서 관찰되었지만, 이들은 다양한 정도였다. 또한, 이러한 환자 대부분에서 치료시 검출된 유리-항-HBsAg 항체 역가수준은 잘해야 중간 정도였고, 대부분의 경우, 건강한 비감염 성인의 HBsAg 백신 접종으로 관찰된 혈액 중의 항-HBsAg 항체 역가보다 열등하다.

표 4

[0300] HBeAg 클리어런스에 대한 HBsAg 클리어런스의 효과

환자	전처리 HBeAg (IU / ml*)	치료중 HBeAg (IU / ml*)
1	1181.29	7.63
2	78.25	8.211

\*애보트 아키텍트™ 정량적 분석을 사용하여 측정됨

표 5

[0301] 만성 HBV 감염 환자에서 유리 항-HBsAg 항체의 검출에 대한 HBsAg 클리어런스 효과

환자	전처리 항-HBsAg* (mIU/ml)	치료 종료 항-HBsAg* (mIU/ml)
1	0	13.2
2	1	22.8
3	5.68	277
4	3	5.39
5	4.99	385.7
6	1	19.7
7	2	19.2

\*애보트 아키텍트™ 정량적 분석을 사용하여 측정됨

표 6

[0302] HBV 바이러스(HBV DNA)의 혈중 농도에 대한 HBsAg 클리어런스 효과

환자	전처리 HBV DNA* (카페/혈청 ml)	치료 완료 HBV DNA* (카페/혈청 ml)
1	$2 \times 10^6$	< 500
2	$1.4 \times 10^7$	$1.39 \times 10^4$
3	$4.5 \times 10^7$	< 116
4	$1.9 \times 10^{12}$	$3.1 \times 10^6$
5	$7.9 \times 10^{11}$	< 116
6	$4.8 \times 10^{11}$	372
7	$1.8 \times 10^7$	$3.5 \times 10^6$

\*로슈 코바스™ 분석을 사용하여 측정됨

[0303] 이러한 환자로부터 REP 2055 치료의 제거는 혈청 HBV 단백질이 제거된 5/7 환자에서 바이러스 혈증의 궁극적인 장기간 회복(혈액 중 HBsAg의 재출현, 혈액 중 항-HBsAg 항체의 감소 또는 소실 및 HBV DNA의 전처리 수준으로 상승)을 유도했다. 따라서, NAP, 또는 혈액으로부터 HBsAg (및 기타 HBV 항원)의 제거를 유도하는 임의의 다른 제제에 의한 치료는, 치료가 임의의 부수적인 면역요법의 부재하에 중단될 때 바이러스 활성에서 유사한 회복을 경험할 것으로 기대된다.

#### 실시예 III

##### 인간 환자에서 만성 B형 간염의 치료에서 NAP 킬레이트 착물 및 두 개의 상이한 면역요법에 의한 병용 요법

[0305] REP 2139-Ca는 존재하는 100mg의 올리고뉴클레오타이드마다 30mg의  $\text{CaCl}_2$ 의 비를 사용하여 통상의 식염수 중에서 제조된 NAP REP 2139 (서열번호 10)의 칼슘 킬레이트 착물이다. 칼슘 킬레이트 착물로서 REP 2139의 제조를 사용하여 ON 투여의 지속성을 향상시키고(참조: 국제 출원 공보 제WO2012/021985호 및 미국 출원 공보 제2012/0046348호), 이의 특별한 항바이러스 활성을 방해하지 않는다. REP 2139-Ca(전형적으로 주간 500mg 용량으로 투여됨)는 HBV 감염 환자에서 혈액으로부터 HBsAg (및 후속적으로 HBeAg) 및 HBV 비리온(HBV DNA)을 동일한 작용 메카니즘(참조: 각각 표 3, 4 및 6 대 7, 8 및 9)을 통해 REP 2055와 동일한 방식으로 제거하고, 따라서 또한 2' 리보스 변형 및 변형된 염기(예: REP 2139)를 모두 함유하는 NAP가 혈액 중 HBsAg를 감소시키는 작용을 할 수 있고, 킬레이트 착물(예: REP 2139-Ca)로서 제조된 ON은 혈액으로부터 HBsAg를 감소시키거나 제거하기 위해 사용될 수 있다는 것을 입증한다.

표 7

[0307] 만성 HBV 감염 환자에서 혈청 HBsAg에 대한 REP 2139-Ca 단일요법의 효과

환자	혈청 HBsAg ( $\text{mIU}/\text{mL}$ ) <sup>*</sup>	
	전처리	REP 2139-Ca
1	70050	0.19
2	13400	0
3	3654.3	0.34
4	47689.7	180.44
5	107659	32.15
6	58937.87	9.91
7	17988	29.21
8	125000	0.01
9	1288.56	0.02

<sup>\*</sup> 애보트 아키텍트<sup>TM</sup> 정량적 HBsAg 분석을 사용하여 측정됨

표 8

[0308] 혈청 HBeAg 수준에 대한 REP 2139-Ca 유도된 HBsAg 클리어런스의 효과

환자	혈청 HBeAg (인덱스) <sup>*</sup>	
	전처리	REP 2139-Ca
1	1.488	0.38
2	556.27	0.34
3	662.09	1.62
4	1100.43	0.31
5	1815.75	1.11
6	561.96	0.32
7	15.27	18.27
8	1767.85	0.40
9	101.73	19.35

<sup>\*</sup> < 1 = 검출되지 않음,  $\geq 1$  = 매우 감염 상태

표 9

[0309] 만성 HBV 감염 환자에서 혈청 HBV DNA(비리온)에 대한 REP 2139-Ca 단일요법의 효과

환자	혈청 HBV (카피/ml) <sup>*</sup>	
	전처리	REP 2139-Ca
1	$9.89 \times 10^{8**}$	791
2	$1.66 \times 10^8$	1680
3	$2.01 \times 10^8$	3643
4	$1.28 \times 10^8$	9060
5	$9.89 \times 10^8$	$2.52 \times 10^6$
6	$8.71 \times 10^8$	558
7	$7.1 \times 10^5$	$1.94 \times 10^4$
8	$9.89 \times 10^8$	552
9	$9.9 \times 10^6$	3250

\* 로슈 코바스™ 분석을 사용하여 측정됨

\*\* 정량화의 상한치

[0310] 실시예 II에 기술된 바와 같이, NAP 요법 (또는 HBsAg를 제거할 수 있는 임의의 요법)의 제한은 항-HBs 생산의 환자의 현재 수준이 NAP 요법 동안 바이러스를 제거하기 위해 "유리되는" 동안, 대부분의 환자에서 항체 생산 (및 HBsAg에 의해 유발된 면역-억제의 제거)의 이 수준은 NAP 치료가 중단된 후, HBV 감염의 완전한 억제를 제공하기에 충분하지 않다는 것이다. 혈액으로부터 REP 2139-매개된 HBsAg 클리어런스는 단일요법에 사용될 때 (참조: 표 5 및 10[단일요법의 말기]) REP 2055와 혈액 중의 항-HBsAg 항체의 동일한 일반적 수준을 달성하였고, 그 자체는 치료가 NAP REP 2055(참조: 상기 실시예 II)에 대한 경우에서와 같이 철회될 때 면역학적 억제의 동일한 불량한 유지를 유도할 것으로 명백하게 기대된다. 단일요법에 사용된 NAP의 결과는 아마도 이러한 항원이 혈액으로부터 제거된 후에도 HBV 감염 대상자에서 지속하는 지속성 면역학적 손상을 유발하는 HBsAg, HBeAg 및 HBcAg에의 만성 노출에 의해 유발되는 이러한 HBV 단백질의 부재하에서도 HBV 감염에 대한 완전 활성적 면역 반응을 재생시키는 면역 시스템의 능력에서 가능한 기초 (및 이전에 인식되지 않은) 결함이 무엇인지를 확인한다.

[0311] NAP 치료(혈액으로부터 HBsAg를 제거하는)가 면역요법(면역 기능의 자극)으로 상승작용할 수 있는지를 시험하기 위해, 이들의 혈청 HBV 단백질이 제거되었거나 감소되었고, REP 2139-Ca 단일요법 중인 환자들은 연속된 REP 2139-Ca 투여에 대한 부가 요법으로서 티모신 α1(자닥신™ - 1주일에 2회 1.6mg 피하 주사로서 제공됨) 또는 폐길화 인터페론 α-2a(폐가시스™ - 1주일에 1회 90 - 180 $\mu$ g 피하 주사로서 제공됨)를 수용했다. 폐길화 인터페론 α-2a는 로슈 인코포레이티드(Roche Inc.)(스위스 바젤)에 의해 상표명 폐가시스(Pegasys™)로 시판되고, 만성 HBV 감염 치료용으로 승인된다. 티모신 α1은 사이클론 파마슈티칼스(SciClone Pharmaceuticals)(미국 캘리포니아주 포스터 시티)에 의해 상표명 자닥신(Zadaxin™)으로 시판되고, 또한 만성 HBV 감염 치료용으로 승인된다.

[0312] 인터페론계 단일요법은 전형적으로 48주 치료 후 매우 적은 비율의 환자(< 10%)에서 혈액 중의 항-HBsAG 항체의 단지 중간 정도 수준(<50mIU/ml)을 유도하고(참조: Reijnders et al., 2011, J. Hepatol., 54: 449-454; Harayiannis et al., 1990, J. Hepatol., 10: 350-352), 티모신 α1의 항바이러스 효과는 유사하게 제한된다(참조: Yang et al., 2008, Antiviral Res. 77: 136-141). 그러나, 혈액으로부터 HBsAg 제거가 달성된 후 티모신 α1 또는 폐길화 인터페론 α-2a가 REP 2139-Ca 치료에 첨가될 때, NAP-매개된 HBsAg 클리어런스 단독으로 관찰된 항-HBsAg 수준 또는 면역요법 단독(참조: 표 10)에 대해 기록된 것들을 크게 초과하는 항-HBsAg 항체 수준의 심오한 증가가 모든 환자에게서 달성되었다. 또한, 항-HBsAg 항체 수준의 증가에 대한 이러한 명백히 상승 효과가 REP 2139-Ca와 병용된 13주 면역요법만으로(이러한 면역요법에 일반적으로 처방된 48주 처방과 비교하여)

달성되고, 또한 HBV 치료에 대해 일반적으로 처방된 폐가시스의 용량의 반(90ug)으로 두 환자에서 발생하였다. 또한, 이 상승 반응은 환자 9/9(100%)에게서 발생하였다. 혈액으로부터 HBV 단백질 제거 후 부가 면역요법으로 관찰된 항-HBsAg 생산의 심오한 재활성화는 HBsAg의 부재하에 면역요법의 상승적으로 향상된 기능의 유일한 하나의 직접 척도이다. 이러한 발견에 기초하여, T-세포 매개된 면역 및 선천성 면역과 같은 면역 자극의 다른 영역에서 상승적으로 개선된 성능을 예측할 것이고, 이는 또한 HBV 감염에 대해 완전한 면역학적 억제를 달성하기 위해 필요할 수 있다.

표 10

[0313] REP 2139-Ca 및 티모신 α1 또는 폐길화 인터페론 α-2a로 병용 치료 후 항-HBsAg 생산에 대한 상승 효과

병용 제공된 면역요법제	환자	혈청 항-HBsAg 항체(mIU/ml)*	
		REP 2139-Ca (단일요법 종료)	REP 2139-Ca + 부가 면역요법**
티모신 α1	1	19.36	987.03
	2	365	1302
	3	44.64	1108
폐길화 인터페론 α-2a	4***	5.36	381.57
	5***	2.12	288.85
	6	1.64	798.22
	7	19.69	223.29
	8	42.07	242.31
	9	42.61	499.05

\* 애보트 아키텍트™ 정량적 항-HBsAg ELISA를 사용하여 측정됨  
\*\* HBsAg 감소가 REP 2139-Ca 단일요법으로 달성된 후 13주 연속 면역요법(부가).  
\*\*\* 이러한 두 환자는 90ug의 폐가시스/주를 수용했다

[0314] 표 10에 제시된 결과는 혈청 HBsAg의 클리어런스가 당해 기술 분야에서 예측되지 않았던 면역 기능을 자극하는 티모신 α1 또는 폐길화 인터페론 α-2a의 능력에 대한 심오한 상승 효과를 갖는다는 것을 입증한다. 모든 환자는 단일 요법에 사용될 때 및 심지어 단지 적은 비율의 환자에서 혈액 중의 항-HBsAg 항체의 훨씬 더 낮은 역할을 달성하기 위해 일반적으로 필요할 수 있는 것보다 훨씬 더 짧은 처방의 단일요법으로 매우 높은 역가의 항-HBsAg 항체 (및 따라서 아마도 더욱 효과적인 전체 면역 자극)를 달성했다. 표 10에서, 혈청 HBsAg를 제거한 모든 환자는 면역요법에 강하게 반응했다. 다수의 경우에, 항-HBsAg 생산의 명백한 증가가 6-10 주만큼 적은 면역요법 후에 검출되었다. 숙주 면역의 자극에 대한 이러한 상승 효과는 8/9 환자에서 HBV 감염의 치료 종료 조절을 유도했고, 면역요법이 순환성 HBsAg의 부재하에 제공될 때 대부분의 HBV 감염 환자에서 활성적인 면역 반응을 재구축하는 상승적 효과를 명백히 입증한다.

[0315] 이러한 결과는, 면역요법제와 조합하여 투여될 때 혈액으로부터 HBsAg를 감소시키거나 제거할 수 있는 임의의 약제학적으로 허용가능한 제제가 만성 HBV 환자에게서 면역 기능(예를 들면, 이에 국한되지 않지만, 항-HBsAg 항체 생산)의 자극에 대한 유리한 상승 효과를 갖는다는 것을 입증한다. 실시예 III은 혈액으로부터 HBsAg의 제거가 강한 숙주 유도 항바이러스 면역 반응을 도출하는 면역요법의 능력을 상승적으로 개선시킴을 명백하게 보여주고, 단지 면역요법을 수용한 환자의 혈액에서 지속적으로 순환하는 HBsAg는 면역요법의 활성에 대한 심오한 억제 효과를 갖고 치료 종료를 견디는 감염의 면역학적 억제를 달성하는데 있어서 허용된 면역요법의 불량한 성능에 아마도 기초한다는 것을 강하게 시사한다. 실시예 III은 또한 면역 기능의 회복에 대한 상승 효과가 혈액 중의 항-HBsAg 수준을, 면역요법 단독으로 관찰된 것보다 훨씬 더 빠르게 및 훨씬 높은 수준으로, 모든 경우 건강한 비감염된 HBsAg 백신접종 개체에서 전형적으로 관찰된 항-HBsAg 항체의 수준을 초과하여 모두 달성한, 모든 환자에게서 발생된다는 것을 명백하게 보여준다. 이러한 효과는 심지어 단일요법에 사용될 때 최적 이하인 것으로 공지된 면역요법의 적은 용량(폐가시스 90ug/주)으로 달성될 수 있었다. HBV 단백질 제거 단독으로, 또는 면역요법 단독으로, 이러한 항-HBsAg 항체의 강한 보호 수준이 드물게 관찰된다.

[0316] 본 개시에서 NAP로 달성된 혈청 HBsAg의 제거는 이의 작용 메카니즘과 무관하게 혈액으로부터 HBsAg (또는 다른 HBV 항원)을 감소시키거나 제거하기 위해 설계된 임의의 다른 제제로 달성될 수 있는 최선의 효과를 예시한다.

그 자체로서, 혈액으로부터 HBsAg 제거 및 NAP 및 면역요법제 폐가시스™ 및 자닥신™을 사용하여 관찰된 면역 기능의 자극 사이의 상승작용의 관찰은 당해 기술 분야의 숙련가에게 면역요법에 의한 동일한 상승 효과가 이제 제제의 화학 또는 작용 메카니즘에 무관하게 혈액으로부터 HBsAg를 감소시키거나 제거할 수 있는 임의의 제제의 사용으로 발생한다는 것을 확실하게 예측할 수 있음을 명백하게 입증한다. 따라서, 본 명세서의 개시는 자닥신™ 또는 폐가시스™과 함께 사용된 NAP로 HBV 감염 환자에서 면역학적 자극에 대한 상승 효과가 혈액으로부터 HBsAg를 감소시키거나 제거할 수 있는 임의의 제제 또는 방법과 면역 기능을 자극할 수 있는 임의의 제2 제제의 병용으로 HBV 감염에서 실현될 수 있다는 명백하고 신규한 교시를 제공한다. REP 2139-Ca 및 티모신 α1 또는 폐길화 인터페론 α-2a로 입증된 상승 효과는 또한 제1 제제가 혈액으로부터 HBsAg를 감소시키거나 제거할 수 있고 제2 제제가 면역 기능을 자극할 수 있는 본 개시에서 인용된 제제들의 다른 조합으로 일어나는 것으로 기대된다. 또한, 둘 이상의 상이한 면역요법제와 조합된 혈액으로부터 HBsAg를 감소시키거나 제거할 수 있는 둘 이상의 상이한 제제의 조합이 또한 유사하거나 우수한 효과를 가질 수 있음을 예상할 수 있다.

[0317] 혈액으로부터 HBsAg의 제거 단독이 아마도 면역요법에 대한 상승 효과의 대다수를 제공하지만, HBeAg 및 HBcAg의 추가의 클리어런스가 또한 이들의 고유한 면역-억제성에 기인하여 상승 효과에 약간 기여할 수 있다. 따라서, 혈액으로부터 HBeAg 및 HBcAg의 추가의 클리어런스(또한 NAP로 달성된 효과)는 최소의 성능 이점을 제공할 수 있지만, HBsAg 클리어런스의 부재하에 효과는 별로이거나 전혀 없다.

[0318] 혈액으로부터 HBsAg 제거 또는 클리어런스가 통상의 면역요법의 효과에 대해 갖는 현저한 효과는 또한 치료학적 설정에 투여될 때 HBV 항원에 대한 백신의 효과를 극적으로 향상시킬 수 있다. 본 명세서의 개시로부터, 당해 기술 분야의 숙련가는 순환성 HBsAg가 HBV 감염 대상자에서 완전히 효력화된 백신 반응을 억제하고, 추가로 백신 반응이 HBsAg의 부재하에 또는 감소된 수준에서 투여될 때 크게 향상될 것임을 합리적으로 가정할 것이다.

#### 실시예 IV

[0320] 인간 환자 중 만성 B형 간염 환자의 치료 개시시 REP 2139-Ca/폐가시스™ 병용 치료

[0321] HBV 감염 환자의 새로운 코호트에서, REP 2139-Ca(1주일에 한번 500mg) 및 폐가시스™(1주일에 180ug)은 둘 다 실시예 III에서 관찰된 상승 효과가 치료 요법에서 초기에 달성될 수 있는지를 확인하기 위한 치료의 시작에서 개시하였다. 이러한 3명의 환자에서, 혈청 HBsAg의 신속하고 극적인 감소 및 유리 항-HBsAg 항체 역가의 급속한 발전이 관찰되었다(참조: 표 11).

#### 표 11

[0322] 치료 개시시에 조합될 경우 REP 2139-Ca 및 폐가시스™의 상승작용

환자	혈청 HBsAg(U/ml*)		혈청 항-HBsAg(mIU/ml*)	
	전처리	9주 치료	전처리	치료중
1	2510.66	0.17	0.48	123.75 (17주)
2	4789.73	0.02	0.4	521.57 (15주)
3	3338.24	0.05	0.8	646.42 (11주)

\*애보트 아키텍트™ 플랫폼을 사용하여 측정됨

[0323] 실시예 IV의 결과는 혈액으로부터 HBsAg 제거와 면역요법을 동시에 결합하는 상승작용은 NAP 및 폐가시스™가 둘 다 치료 초기에 개시될 때 치료 동안 매우 초기에 발생할 수 있다는 것을 입증한다. 또한, 이러한 결과 및 실시예 III의 결과는 면역요법 효과의 심오한 개선이 면역요법이 혈액으로부터 HBsAg 제거가 달성된 후에 첨가될 때 또는 면역요법이 혈액으로부터 HBsAg 제거 동안(즉, 치료 개시시에) 첨가될 때 발생할 수 있음을 보여준다.

[0324] 실시예 II, III 및 IV는 HBV/HDV 공동 감염에서 HDV 바이러스 형성 및 면역억제에서 역할을 하는 HBsAg의 중요하고 충분히 확립된 역할을 고려하여 HBV 단일-감염 환자에서 수행하였지만, 이러한 실시예들은 본 개시에 인용된 개념이 HBV 단일감염 및 HBV/HDV 공동 감염 둘 다에 적용가능해야 한다는 명백한 교시를 제공한다.

[0325] 상기 설명은 단지 예시적인 것임을 의미하고, 당해 기술 분야의 숙련가는 첨부된 특허청구범위에 의해 정의된 바와 같은 본 발명의 범위로부터 벗어나지 않고, 기술된 구현예에 변화가 수행될 수 있음을 인식할 것이다. 첨부된 특허청구범위에 정의된 바와 같이, 본 발명의 범위에 속하는 또 다른 변형이 본 개시의 검토에 비추어 당

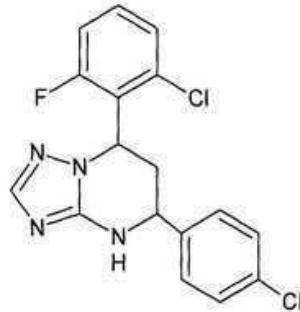
해 기술 분야의 숙련가에게 자명할 것이다.

## 도면

### 도면1

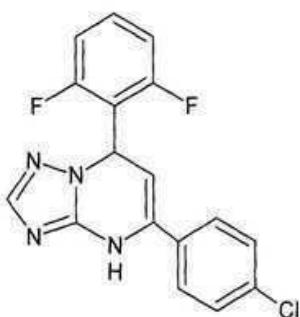
**A**

7-(2-클로로-6-플루오로페닐)-5-(4-클로로페닐)-4,5,6,7-터트라하이드로[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리미딘



**B**

5-(4-클로로페닐)-7-(2,6-디플루오로페닐)-4,7-디하이드로[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리미딘



## 서 열 목록

### SEQUENCE LISTING

- <110> REPLICOR INC.
- <120> METHODS FOR THE TREATMENT OF HEPATITIS B AND HEPATITIS D  
INFECTIONS
- <130> 05016051-38PCT
- <150> US 61/695,040
- <151> 2012-08-30
- <150> US 61/703,816
- <151> 2012-09-21
- <160> 20
- <170> Kopatent In 2.0
- <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' 0 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' 0 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)

<223> 2' 0 methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (3)

<223> 2' 0 methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (5)

<223> 2' 0 methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (7)

<223> 2' 0 methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (9)

<223> 2' 0 methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (11)

<223> 2' 0 methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (13)

<223> 2' 0 methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (15)

<223> 2' 0 methylribose modification

<220><221> misc\_feature  
<222> (17)  
<223> 2' 0 methylribose modification  
<220><221> misc\_feature  
<222> (19)  
<223> 2' 0 methylribose modification  
<220><221> misc\_feature  
  
<222> (21)  
<223> 2' 0 methylribose modification  
<220><221> misc\_feature  
<222> (23)  
<223> 2' 0 methylribose modification  
<220><221> misc\_feature  
<222> (25)  
<223> 2' 0 methylribose modification  
<220><221> misc\_feature  
<222> (27)  
<223> 2' 0 methylribose modification  
<220><221> misc\_feature  
<222> (29)  
<223> 2' 0 methylribose modification  
<220><221> misc\_feature  
<222> (31)  
<223> 2' 0 methylribose modification  
<220><221> misc\_feature  
  
<222> (33)  
<223> 2' 0 methylribose modification  
<220><221> misc\_feature  
<222> (35)  
<223> 2' 0 methylribose modification  
<220><221> misc\_feature  
<222> (37)  
<223> 2' 0 methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (39)

<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

<220><221> misc\_feature

<222> (14)..(26)

<223> 2' O methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (28)..(40)

<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

<220><221> misc\_feature

<222> (12)..(20)

<223> 2' O methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (22)..(30)

<223> 2' O methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (32)..(40)

<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' O 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)

<223> 2' O methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (4)

<223> 2' O methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (6)

<223> 2' O methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (8)

<223> 2' O methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (10)  
<223> 2' O methylribose modification  
<220><221> misc\_feature  
<222> (12)  
<223> 2' O methylribose modification  
<220><221> misc\_feature  
<222> (14)  
<223> 2' O methylribose modification  
<220><221> misc\_feature  
<222> (16)  
<223> 2' O methylribose modification

<220><221> misc\_feature  
<222> (18)  
<223> 2' O methylribose modification  
<220><221> misc\_feature  
<222> (20)  
<223> 2' O methylribose modification  
<220><221> misc\_feature  
<222> (22)  
<223> 2' O methylribose modification  
<220><221> misc\_feature  
<222> (24)  
<223> 2' O methylribose modification  
<220><221> misc\_feature  
<222> (26)  
<223> 2' O methylribose modification  
<220><221> misc\_feature  
<222> (28)  
<223> 2' O methylribose modification

<220><221> misc\_feature  
<222> (30)  
<223> 2' O methylribose modification  
<220><221> misc\_feature

<222> (32)

<223> 2' O methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (34)

<223> 2' O methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (36)

<223> 2' O methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (38)

<223> 2' O methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (40)

<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)

<223> 2' O methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (4)

<223> 2' O methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (6)

<223> 2' O methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (8)

<223> 2' O methylribose modification

<220><221> misc\_feature  
<222> (10)  
<223> 2' 0 methylribose modification  
<220><221> misc\_feature  
<222> (12)  
<223> 2' 0 methylribose modification  
<220><221> misc\_feature  
<222> (14)  
<223> 2' 0 methylribose modification  
<220><221> misc\_feature  
<222> (16)  
<223> 2' 0 methylribose modification  
<220><221> misc\_feature  
<222> (18)  
<223> 2' 0 methylribose modification  
<220><221> misc\_feature  
  
<222> (20)  
<223> 2' 0 methylribose modification  
<220><221> misc\_feature  
<222> (22)  
<223> 2' 0 methylribose modification  
<220><221> misc\_feature  
<222> (24)  
<223> 2' 0 methylribose modification  
<220><221> misc\_feature  
<222> (26)  
<223> 2' 0 methylribose modification  
<220><221> misc\_feature  
<222> (28)  
<223> 2' 0 methylribose modification  
<220><221> misc\_feature  
<222> (30)  
<223> 2' 0 methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (32)

<223> 2' O methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (34)

<223> 2' O methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (36)

<223> 2' O methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (38)

<223> 2' O methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (40)

<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

<220><221> misc\_feature

<222> (15)..(27)

<223> 2' O methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (29)..(40)

<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' 0 methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (11)..(29)

<223> 2' 0 methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (21)..(29)

<223> 2' 0 methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (31)..(40)

<223> 2' 0 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)

<223> 2' 0 methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (3)

<223> 2' 0 methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (5)

<223> 2' 0 methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (7)

<223> 2' 0 methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (9)

<223> 2' 0 methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (11)

<223> 2' 0 methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (13)

<223> 2' 0 methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (15)

<223> 2' 0 methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (17)

<223> 2' 0 methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (19)

<223> 2' 0 methylribose modification

<220><221> misc\_feature

<222> (21)

<223> 2' 0 methylribose modification

<220><221> misc\_feature  
 <222> (23)  
 <223> 2' O methylribose modification  
 <220><221> misc\_feature

<222> (25)  
 <223> 2' O methylribose modification  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (27)

<223> 2' O methylribose modification  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (29)

<223> 2' O methylribose modification  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (31)

<223> 2' O methylribose modification  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (33)

<223> 2' O methylribose modification  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (35)

<223> 2' O methylribose modification  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (37)

<223> 2' O methylribose modification  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (39)

<223> 2' O methylribose modification  
 <400> 20  
 cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca