



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년04월28일

(11) 등록번호 10-2799778

(24) 등록일자 2025년04월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07K 16/40 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)

A61K 47/02 (2006.01) A61K 47/12 (2006.01)

A61K 47/22 (2017.01) A61K 9/00 (2006.01)

A61P 7/10 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C07K 16/40 (2013.01)

A61K 47/02 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2023-7040648(분할)

(22) 출원일자(국제) 2016년03월30일

심사청구일자 2023년11월24일

(85) 번역문제출일자 2023년11월24일

(65) 공개번호 10-2023-0164767

(43) 공개일자 2023년12월04일

(62) 원출원 특허 10-2017-7031279

원출원일자(국제) 2016년03월30일

심사청구일자 2021년03월30일

(86) 국제출원번호 PCT/US2016/024921

(87) 국제공개번호 WO 2016/160926

국제공개일자 2016년10월06일

(30) 우선권주장

62/140,277 2015년03월30일 미국(US)

(뒷면에 계속)

(56) 선행기술조사문헌

WO2014152232 A2*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

다케다 파머수티컬 컴패니 리미티드

일본 오사카시 주오구 도쇼마찌 4 쯔메 1-1

(72) 발명자

정 영

미국 매사추세츠주 02421 렉싱턴 매사추세츠 애비뉴 2521

아델만 버트

미국 매사추세츠주 01742 콩코드 올드 피카드 로드 210

섹스톤 다니엘 제이.

미국 매사추세츠주 02176 멜로즈 마빈 로드 59

(74) 대리인

양영준, 박보현

전체 청구항 수 : 총 11 항

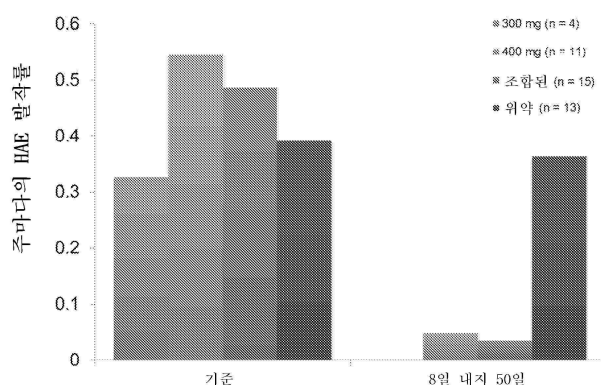
심사관 : 고일영

(54) 발명의 명칭 혈장 칼리크레인 저해제 및 유전성 혈관부종 발작을 예방하기 위한 이의 용도

(57) 요약

유전성 혈관부종 발작을 예방하거나 유전성 혈관부종 발작물을 감소시키는 데 있어서, 활성 혈장 칼리크레인에 결합하는 혈장 칼리크레인 항체 및 이러한 항체를 사용하는 방법이 본 명세서에 제공된다.

대표도 - 도7



(52) CPC특허분류

A61K 47/12 (2013.01)

A61K 47/22 (2013.01)

A61K 9/0019 (2013.01)

A61P 7/10 (2018.01)

A61K 2039/505 (2013.01)

A61K 2039/545 (2013.01)

C07K 2317/21 (2013.01)

C07K 2317/565 (2013.01)

C07K 2317/94 (2013.01)

(30) 우선권주장

62/140,289 2015년03월30일 미국(US)

62/214,293 2015년09월04일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

대상체에서 유전성 혈관부종(HAE)을 치료하는 데 사용하기 위한 약제학적 조성물로서,

활성 혈장 칼리크레인에 결합하는 항체 150mg 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하고, 여기서 상기 약제학적으로 허용되는 담체는 30mM 농도의 인산나트륨, 시트르산, 50mM 농도의 히스티딘, 90mM 농도의 염화나트륨 및 0.01%의 Tween 80을 포함하고,

상기 약제학적 조성물의 pH는 6.0이고,

상기 항체는 서열 HYIMM(서열번호 5)을 갖는 중쇄 상보성 결정 영역(CDR) 1, 서열 GIYSSGGITVYADSVKKG(서열번호 6)을 갖는 중쇄 CDR2 및 서열 RRIGVPRDEFDI(서열번호 7)을 갖는 중쇄 CDR3, 및 서열 RASQSISSWLA(서열번호 8)을 갖는 경쇄 CDR1, 서열 KASTLES(서열번호 9)를 갖는 경쇄 CDR2 및 서열 QQYNTYWT(서열번호 10)을 갖는 경쇄 CDR3을 포함하고,

상기 약제학적 조성물은 대상체에게 2주마다 1회 또는 4주마다 1회 투여되며,

상기 대상체는 항체의 투여 전 연당 적어도 2회의 유전성 혈관부종(HAE) 발작을 경험하는 것인,

약제학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 항체는

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSS(서열번호 3)의 중쇄 가변 영역 서열 및

DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASTLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPD FAFATYYCQQYNTYWTFGQGTKVEIK(서열번호 4)의 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 항체는

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCFVSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG의 중쇄(HC) 서열 및

DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASTLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPD FAFATYYCQQYNTYWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC의 경쇄(LC) 서열

을 포함하는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 항체가 IgG 항체인, 약제학적 조성물.

청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서, 피하 투여용인 약제학적 조성물.

청구항 6

제1항 또는 제2항에 있어서, 로딩 기간 동안 처음 투여된 후 유지 기간 동안 투여되는, 약제학적 조성물.

청구항 7

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 대상체가 유형 I 또는 유형 II HAE를 가지는 인간 환자인, 약제학적 조성물.

청구항 8

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 대상체가 인간 환자이고, 상기 인간 환자가 첫 투여 전 6개월 이내에 적어도 1회 HAE 발작을 겪었거나; 상기 인간 환자가 첫 투여 전 3개월 이내에 적어도 2회의 HAE 발작을 겪었거나; 또는 상기 인간 환자가 첫 투여 전 3개월 이내에 적어도 9회의 HAE 발작을 겪은 환자인, 약제학적 조성물.

청구항 9

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 약제학적 조성물의 투여가 건강한 대상체와 필적할 만한 수준으로 상기 대상체의 절단된 키니노젠을 감소시키는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 10

제6항에 있어서, 상기 유지 기간은 10주이고, 상기 항체는 28일, 42일, 56일, 70일 및 84일에 투여되는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 11

제6항에 있어서, 유지 기간 후에 대상체에게 2주 내지 4주마다 1회 추가적으로 투여되는, 약제학적 조성물.

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원

[0002] 본 출원은 35 U.S.C. § 119(e) 하에 2015년 3월 30일자로 출원된 미국 가출원 제62/140,277호, 2015년 9월 24일자로 출원된 미국 가출원 제62/214,293호 및 2015년 3월 30일자로 출원된 미국 가출원 제62/140,289호(이의 각각의 내용은 그 전문이 본 명세서에 참고로 포함됨)의 이익을 주장한다.

배경 기술

[0003] 혈장 칼리크레인은 접촉 시스템의 세린 프로테아제 성분 및 상이한 염증성, 심혈관, 감염성 (패혈증) 및 종양학

질환에 대한 잠재적 약물 표적이다(Sainz I.M. et al., Thromb Haemost 98, 77-83, 2007). 접촉 시스템은 외래 또는 음으로 하전된 표면에 노출 시 XIIa 인자에 의해 또는 프롤릴카복시펩티다제에 의해 내피 세포 표면 상에 활성화된다(Sainz I.M. et al., Thromb Haemost 98, 77-83, 2007). 혈장 칼리크레인의 활성화는 XII 인자의 이의 피드백 활성화를 통해 내재 응고를 증폭시키고, 전염증성 노나펩타이드 브래디키닌의 생성을 통해 염증을 증대시킨다. 순환에서 주요 키니노게나제로서, 혈장 칼리크레인은 맥관구조에서의 브래디키닌의 생성을 주로 담당한다. 혈장 칼리크레인의 주요 천연 저해제인, C1-저해제 단백질(C1-INH)에서의 유전자 결핍증은 유전성 혈관부종(hereditary angioedema: HAE)을 발생시킨다. HAE를 가지는 환자는 미공지 촉발 인자가 대개 참여하는 통증 있는 부종의 급성 발작을 겪는다(Zuraw B.L. et al., N Engl J Med 359, 1027-1036, 2008).

발명의 내용

- [0004] 본 개시내용은, 부분적으로, 인간 혈장 칼리크레인의 활성 형태에 결합하는 항체인 DX-2930의 용량(예를 들어, 2주마다 투여되는 30mg, 100mg, 300mg 또는 400mg)이 인간 환자에서 HAE 발작을 예방하거나 HAE 발작물을 감소시키는 데 있어서 예상치 못한 유효성을 나타낸다는 것을 보여주는 임상 연구로부터 추론된 결과에 기초한다. 추가로, DX-2930 치료는 인간에게 투여될 때 용량 제한 독성의 증거를 나타내지 않는다. 전반적으로, 본 연구로부터 얻어진 결과는 예상하지 못했는데, 왜냐하면 DX-2930이 HAE 치료에서 높은 효능을 나타낸 제1의 완전히 특이적인 혈장 칼리크레인 저해제이기 때문이다. 이것은 혈장 칼리크레인이 질환 발병에 중추적이라는 것을 나타낸다.
- [0005] 따라서, 본 개시내용의 일 양태는 HAE 발작을 예방하거나 HAE(예를 들어, I형, II형 또는 III형 HAE) 발작물을 감소시키는 방법을 특징으로 하고, 상기 방법은 인간 혈장 칼리크레인(예를 들어, DX-2930)의 활성 형태에 결합하는 항체를 유효량(예를 들어, 약 30mg 내지 400mg, 약 100mg 내지 400mg, 약 100mg 내지 300mg 또는 약 300mg 내지 400mg)으로 이를 요하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 항체는 적어도 2회 동안 2주 내지 4주마다 투여된다. 몇몇 실시형태에서, 항체는 2주 내지 4주마다(예를 들어, 2주마다 또는 4주마다) 300mg 또는 400mg으로 투여된다.
- [0006] 본 명세서에 기재된 방법의 임의의 것에서, 항체는 피하 투여에 의해 투여될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 대상체는 매년 적어도 2건의 HAE 발작(예를 들어, 제1 투여 전에 6개월 내에 적어도 1회의 HAE 발작, 제1 투여 전에 3개월 내에 적어도 2건의 HAE 발작, 또는 제1 투여 전에 적어도 9건의 HAE 발작)을 경험한 인간 환자이다. HAE는 I형 HAE 또는 II형 HAE일 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에 기재된 방법은 HAE의 예방적 치료를 위한 것이다.
- [0007] 본 명세서에 기재된 임의의 방법에서 사용된 항체는 DX-2930과 동일한 에피토프에 결합하거나 활성 인간 혈장 칼리크레인에 대한 결합에 대해 DX-2930과 경쟁하는 항체(예를 들어, 전장 항체 또는 항원 결합 단편)일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 항체는 동일한 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함한다. 일례에서, 항체는 DX-2930이다. 본 명세서에 기재된 바와 같은 임의의 항체(예를 들어, DX-2930)는 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약제학적 조성물에서 제제화될 수 있다. 몇몇 예에서, 약제학적 조성물은 인산나트륨, 시트르산, 히스티딘, 염화나트륨 및 트윈(Tween) 80을 포함한다. 일례에서, 항체(예를 들어, DX-2930)는 30mM 인산나트륨, 8.6mM 시트르산, 50mM 히스티딘, 90mM 염화나트륨 및 0.01% 트윈 80(pH 6.0) 중에 제제화된다.
- [0008] 더욱 다른 양태에서, 본 개시내용은 HAE(예를 들어, I형, II형 또는 III형)를 치료하는 방법을 특징으로 하고, 상기 방법은 인간 혈장 칼리크레인(예를 들어, DX-2930)의 활성 형태에 결합하는 항체를 유효량(예를 들어, 100 내지 400mg, 100 내지 300mg, 150mg 또는 300mg)으로 이를 요하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하고, DX-2930 항체는 로딩 기간(예를 들어, 처음에 예컨대 적어도 1주 동안 주마다 투여됨), 유지 기간(예를 들어, 후속하여 2주 내지 4주마다 투여됨), 및 임의로 추적관찰 기간을 가지는 투약량 섭생으로 투여된다.
- [0009] 몇몇 실시형태에서, 항체는 로딩 기간 동안 100 내지 300mg(예를 들어, 150mg 또는 300mg)으로 대상체에게 투여된다. 로딩 기간은 2주일 수 있다. 항체는 0일, 7일 및 14일에 예를 들어 150mg 또는 300mg으로 투여될 수 있다.
- [0010] 대안적으로 또는 또한, 항체는 유지 기간 동안 100 내지 300mg(예를 들어, 150mg 또는 300mg)으로 대상체에게 투여된다. 유지 기간은 10주 동안 지속할 수 있다. 항체는 28일, 42일, 56일, 70일 및 84일에 투여될 수 있다.
- [0011] 본 명세서에 기재된 임의의 방법에서, 상기 방법은 2주 내지 4주마다(예를 들어, 2주마다 또는 4주마다) 1회 유지 기간 후 항체를 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 몇몇 예에서, 항체는 100 내지 400mg

(예를 들어, 100mg 내지 300mg, 예를 들어 150mg 또는 300mg)으로 투여된다.

- [0012] 본 명세서에 기재된 방법의 임의의 하나의 몇몇 실시형태에서, 항체는 피하 투여에 의해 투여될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 대상체는 HAE 발작을 겪거나 가지는 것으로 의심되거나 이의 위험에 있는 인간 환자이다. 예를 들어, 본 명세서에 기재된 방법은 HAE의 예방적 치료를 위한 것이다. 대상체는 치료 전에 매년 적어도 2건의 발작(예를 들어, 4주마다 적어도 1건의 발작)을 경험한 인간 환자일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 항체는 HAE 발작을 예방하거나 HAE 발작률을 감소시키도록 투여된다.
- [0013] 몇몇 실시형태에서, 항체(예를 들어, DX-2930)는 처음에 1주, 2주 또는 3주 동안 매주 투여되고, 후속하여 2주, 3주 또는 4주마다 투여된다. 몇몇 실시형태에서, 항체(예를 들어, DX-2930)는 후속하여 10주 동안 2주마다 투여된다. 몇몇 실시형태에서, 대상체는 제1 투여 전에 4주마다 적어도 1건의 발작을 가진다.
- [0014] 본 명세서에 기재된 임의의 방법에서 사용되는 항체는 DX-2930과 동일한 에피토프에 결합하거나 활성 인간 혈장 칼리크레인에 대한 결합에 대해 DX-2930과 경쟁하는 항체일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 항체는 동일한 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함한다. 일례에서, 항체는 DX-2930이다.
- [0015] (a) HAE를 치료하는(예를 들어, HAE 발작을 예방하거나, HAE 발작률을 감소시키는) 데에 사용하기 위한, 본 명세서에 기재된 임의의 항칼리크레인 항체 및 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하고, 본 명세서에 기재된 임의의 치료 섭생 후 대상체에게 투여되는, 약제학적 조성물; 및 (b) HAE의 치료를 위한 약제의 제조를 위한 약제학적 조성물의 용도가 본 개시내용의 범위 내에 또한 포함된다. 의도된 목적을 위한 항체의 용도는 본 명세서에 기재된 바와 같은 치료 섭생 하에 수행될 수 있다.
- [0016] 본 발명의 하나 이상의 실시형태의 상세내용이 하기 설명에 기재되어 있다. 본 발명의 다른 특징 또는 이점은 하기 도면 및 몇몇 실시형태의 상세한 설명, 및 또한 첨부된 청구범위로부터 명확할 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0017] 도 1은 1b상 연구에서 HAE 환자에서의 피하 투약 후 DX-2930 혈장 약물 수준을 보여준다.
- 도 2는 1b상 연구로부터의 HAE 환자 샘플의 형광원성 활성 검정을 보여준다.
- 도 3은 1b상 연구로부터의 HAE 환자로부터의 SCAT169 혈장의 웨스턴 블롯 분석이다.
- 도 4는 1b상 연구로부터의 HAE 환자로부터의 시트르화 혈장의 웨스턴 블롯 분석이다.
- 도 5는 1b상 연구로부터의 HAE 환자로부터의 FXIIa에 의해 생체외 활성화된 시트르화 혈장의 웨스턴 블롯 분석이다.
- 도 6은 상이한 투약 코호트에서 환자에 대한 일차적 효능 평가 기간을 보여준다. A: 300mg 코호트. B: 400mg 코호트. 적색 막대는 효능에 대해 평가된 간격을 보여준다.
- 도 7은 300mg, 400mg, 조합된 (300mg 및 400mg) 또는 위약에 의해 치료된 환자에서의 HAE 발작률의 감소를 보여준다. 기준은 투약 전 마지막 3개월에 걸친 병력상 HAE 발작으로서 정의된다. 데이터는 마지막 3개월에 2건 이상의 기준 발작률을 가지는 환자를 포함한다. 8일 내지 50일 발작률은 기준 발작률에 대해 조정되지 않는다. 위약에 대한 HAE 발작률의 감소 백분율 및 p-값은, Poisson 분포를 가정하여, 공변량의 분석으로 혼합 모델 반복 측정(Mixed Model Repeated Measurement)(공변량으로서 기준 발작률)에 기초하고 계산된다.
- 도 8은 위약 치료된 대상체에서의 HAE 발작의 발병률 보여준다. X축은 연구 날짜 번호를 보여준다.
- 도 9는 30mg 투약량 후 평균 DX-2930 농도 및 HAE 발작 발생률을 보여준다.
- 도 10은 100mg 투약량 후 평균 DX-2930 농도 및 HAE 발작 발생률을 보여준다.
- 도 11은 300mg 투약량 후 평균 DX-2930 농도 및 HAE 발작 발생률을 보여준다.
- 도 12는 400mg 투약량 후 평균 DX-2930 농도 및 HAE 발작 발생률을 보여준다. (평균 약동학 곡선을 추론하기 위해) 오직 하나의 용량을 받은 1명의 환자를 배제한다.
- 도 13은 3개월마다 9건 이상의 발작의 병력상 발작률을 가지는 환자에서의 DX-2930 농도 및 HAE 발작을 보여준다. A: 위약 환자. B: 300mg으로 치료된 환자. 및 C-F: 400mg으로 치료된 환자.
- 도 14는 로딩 기간 및 유지 기간(연장된 치료 기간 또는 약효세척 기간이 후행할 수 있음)을 포함하는 예시적인

투약 섭생을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

정의

편의를 위해, 본 발명의 추가의 설명 전에, 명세서, 실시예 및 첨부된 청구범위에 사용된 소정의 용어가 본 명세서에 정의되어 있다. 다른 용어는 본 명세서에 나타난 것처럼 정의된다.

단수 형태 "일", "하나" 및 "이것"은 문맥이 명확히 다르게 나타내지 않는 한 복수 언급을 포함한다.

용어 "항체"는 적어도 하나의 면역글로불린 가변 도메인(가변 영역) 또는 면역글로불린 가변 도메인(가변 영역) 서열을 포함하는 단백질을 의미한다. 예를 들어, 항체는 중쇄(H) 가변 영역(본 명세서에서 VH 또는 HV로 축약), 및 경쇄(L) 가변 영역(본 명세서에서 VL 또는 LV로 축약)을 포함할 수 있다. 또 다른 예에서, 항체는 2개의 중쇄(H) 가변 영역 및 2개의 경쇄(L) 사슬 가변 영역을 포함한다. 용어 "항체"는 항체의 항원 결합 단편(예를 들어, 단일 사슬 항체, Fab 및 sFab 단편, F(ab')₂, Fd 단편, Fv 단편, scFv 및 도메인 항체(dAb) 단편(de Wildt et al., Eur J Immunol. 1996; 26(3):629-39)) 및 완전한 항체를 포함한다. 항체는 IgA, IgG, IgE, IgD, IgM (및 이의 아형)의 구조적 특징을 가질 수 있다. 항체는 임의의 공급원 유래일 수 있지만, 영장류(인간 및 비인간 영장류) 및 영장류화가 바람직하다.

VH 및 VL 영역은, "프레임워크 영역"("framework region: FR")이라 칭하는, 더 보존된 영역에 의해 끼인, "상보성 결정 영역"("complementarity determining region: CDR")이라 칭하는, 추가변의 영역으로 추가로 세분될 수 있다. 프레임워크 영역 및 CDR의 정도는 정의되어 있다(문헌[Kabat, E.A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication 91-3242호, 및 Chothia, C. et al. (1987) J. Mol. Biol. 196:901-917] 참조). 카바트 정의가 본 명세서에서 사용된다. 각각의 VH 및 VL은 통상적으로, 아미노 말단으로부터 카복시 말단으로 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4의 순서로 배열된, 3개의 CDR 및 4개의 FR로 이루어진다.

본 명세서에 사용된 바대로, "면역글로불린 가변 도메인 서열"은 하나 이상의 CDR 영역이 항원 결합 부위에 적합한 배좌로 배치되게끔 면역글로불린 가변 도메인의 구조를 형성할 수 있는 아미노산 서열을 의미한다. 예를 들어, 서열은 천연 발생 가변 도메인의 아미노산 서열의 전부 또는 일부를 포함할 수 있다. 예를 들어, 서열은 1개, 2개 이상의 N 또는 C 말단 아미노산, 내부 아미노산을 생략할 수 있거나, 1개 이상의 삽입 또는 추가적인 말단 아미노산을 포함할 수 있거나, 다른 변형을 포함할 수 있다. 일 실시형태에서, 면역글로불린 가변 도메인 서열을 포함하는 폴리펩타이드는 항원 결합 부위, 예를 들어 혈장 칼리크레인과 우선적으로 상호작용하는 구조를 형성하도록 또 다른 면역글로불린 가변 도메인 서열과 회합할 수 있다.

항체의 V_H 또는 V_L 사슬은 중쇄 또는 경쇄 불변 영역의 전부 또는 일부를 추가로 포함하여 각각 중쇄 또는 경쇄 면역글로불린 사슬을 형성할 수 있다. 일 실시형태에서, 항체는 2개의 중쇄 면역글로불린 사슬 및 2개의 경쇄 면역글로불린 사슬의 사합체이고, 중쇄 및 경쇄 면역글로불린 사슬은 예를 들어 이황화 결합에 의해 상호 연결된다. IgG에서, 중쇄 불변 영역은 CH1, CH2 및 CH3인 3개의 면역글로불린 도메인을 포함한다. 경쇄 불변 영역은 CL 도메인을 포함한다. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호작용하는 결합 도메인을 함유한다. 항체의 불변 영역은 통상적으로 전통적인 보체 시스템의 제1 성분(C1q) 및 면역계(예를 들어, 이펙터 세포)의 다양한 세포를 포함하는, 숙주 조직 또는 인자에 대한 항체의 결합을 매개한다. 면역글로불린의 경쇄는 카파 또는 람다의 유형일 수 있다. 일 실시형태에서, 항체는 글라이코실화된다. 항체는 항체 의존적 세포독성 및/또는 보체 매개 세포독성에 대해 기능적일 수 있다.

항체의 하나 이상의 영역은 인간 또는 효과적으로 인간일 수 있다. 예를 들어, 하나 이상의 가변 영역은 인간 또는 효과적으로 인간일 수 있다. 예를 들어, 하나 이상의 CDR은 인간, 예를 들어 HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2, 및/또는 LC CDR3일 수 있다. 각각의 경쇄(LC) 및/또는 중쇄(HC) CDR은 인간일 수 있다. HC CDR3은 인간일 수 있다. 하나 이상의 프레임워크 영역은 인간, 예를 들어 HC 또는 LC의 FR1, FR2, FR3 및 FR4일 수 있다. 예를 들어, Fc 영역은 인간일 수 있다. 일 실시형태에서, 모든 프레임워크 영역은 인간이고, 예를 들어 인간 체세포 세포, 예를 들어 면역글로불린을 생성하는 조혈 세포 또는 비조혈 세포로부터 유래한다. 일 실시형태에서, 인간 서열은 예를 들어 생식선 핵산에 의해 코딩된 생식선 서열이다. 일 실시형태에서, 선택된 Fab의 프레임워크(FR) 잔기는 가장 유사한 영장류 생식선 유전자, 특히 인간 생식선 유전자에서 상응하는 잔기의 아미노산 유형으로 전환될 수 있다. 하나 이상의 불변 영역은 인간 또는 효과적으로 인간일 수 있다. 예를

들어, 번역글로볼린 가변 도메인, 불변 영역, 불변 도메인(CH1, CH2, CH3, 및/또는 CL1), 또는 전체 항체의 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 98% 또는 100%는 인간 또는 효과적으로 인간일 수 있다.

[0026] 항체의 전부 또는 일부는 번역글로볼린 유전자 또는 이의 분절에 의해 코딩될 수 있다. 예시적인 인간 번역글로볼린 유전자는 카파, 람다, 알파(IgA1 및 IgA2), 감마(IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), 델타, 엡실론 및 뮤 불변 영역 유전자, 및 많은 번역글로볼린 가변 영역 유전자를 포함한다. 전장 번역글로볼린 "경쇄"(약 25KDa 또는 약 214개의 아미노산)는 NH₂ 말단(약 110개의 아미노산)에서 가변 영역 유전자에 의해 코딩되고, COOH-말단에서 카파 또는 람다 불변 영역 유전자에 의해 코딩된다. 전장 번역글로볼린 "중쇄"(약 50KDa 또는 약 446개의 아미노산)는 유사하게 가변 영역 유전자(약 116개의 아미노산) 및 다른 상기 언급된 불변 영역 유전자 중 하나, 예를 들어 (약 330개의 아미노산을 코딩하는) 감마에 의해 코딩된다. HC CDR3이 약 3개의 아미노산 잔기로부터 35개 초과인 아미노산 잔기로 변하므로, 인간 HC의 길이가 상당히 변한다.

[0027] 전장 항체의 용어 "항원 결합 단편"은 관심 있는 표적에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는 전장 항체의 하나 이상의 단편을 의미한다. 전장 항체의 용어 "항원 결합 단편" 내에 포함되고, 기능성을 보유하는 결합 단편의 예는 (i) VL, VH, CL 및 CH1 도메인으로 이루어진 1가 단편인 Fab 단편; (ii) 힌지 영역에서 이황화 브릿지에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 2가 단편인 F(ab')₂ 단편; (iii) VH 및 CH1 도메인으로 이루어진 Fd 단편; (iv) 항체의 단일 암의 VL 및 VH 도메인으로 이루어진 Fv 단편, (v) VH 도메인으로 이루어진 dAb 단편 (Ward et al., (1989) Nature 341:544-546); 및 (vi) 단리된 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 더욱이, VL 및 VH인 Fv 단편의 2개의 도메인이 별개의 유전자에 의해 코딩되더라도, 이들이, 단일 사슬 Fv(scFv)로서 공지된 1가 분자를 형성하도록 VL 및 VH 영역이 쌍을 지은, 단일 단백질 사슬을 만들게 하는, 합성 링커에 의해 재조합 방법을 이용하여 이들은 연결될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 제5,260,203호, 제4,946,778호 및 제4,881,175호; 문헌[Bird et al. (1988) Science 242:423-426; 및 Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883]을 참조한다.

[0028] 항체 단편은 당해 분야의 당업자에게 공지된 종래의 기술을 포함하는 임의의 적절한 기술을 이용하여 얻어질 수 있다. 용어 "단일특이적 항체"는 특정한 표적, 예를 들어 에피토프에 대해 단일 결합 특이성 및 친화도를 나타내는 항체를 의미한다. 이 용어는 "단일클론 항체" 또는 "단일클론 항체 조성물"(이는 항체가 어떻게 생성되는지와 무관하게 본 명세서에 사용된 바대로 단일 분자 조성물의 항체 또는 이의 단편 제제를 의미함)을 포함한다.

[0029] 항체는, 결합 특성이 실질적으로 보유되는 한, 프레임워크 영역에서의 하나 이상의 비생식선 아미노산을 항체의 상응하는 생식선 아미노산으로 복귀시킴으로써 "생식선화"된다.

[0030] 저해 상수(K_i)는 저해제 효력의 측정치를 제공하고; 이것은 효소 활성을 반으로 감소시키는 데 필요한 저해제의 농도이고, 효소 또는 기질 농도에 의존하지 않는다. 겘보기 K_i(K_{i,app})는 반응의 정도(예를 들어, 효소 활성)에 대한 상이한 농도의 저해제(예를 들어, 저해 결합 단백질)의 저해 효과를 측정함으로써; 모리스 식(Morrison equation)(식 1)에 대한 저해제 농도의 함수가 겘보기 K_i 값의 예측치를 생성하면서, 유사-1차 속도 상수의 변화를 맞춤으로써, 상이한 기질 농도에서 얻어진다. K_i는 기질 농도에 대한 K_{i,app}의 도면의 선형 회귀 분석으로부터 추출된 y 절편으로부터 얻어진다.

[0031] [식 1]

$$v = v_o - v_o \left(\frac{(K_{i,app} + I + E) - \sqrt{(K_{i,app} + I + E)^2 - 4 \cdot I \cdot E}}{2 \cdot E} \right)$$

[0032]

[0033] 식 중, v = 측정된 속도; v₀ = 저해제의 부재 하의 속도; K_{i,app} = 겘보기 저해 상수; I = 전체 저해제 농도; 및 E = 전체 효소 농도.

[0034] 본 명세서에 사용된 바대로, "결합 친화도"는 겘보기 결합 상수 또는 KA를 의미한다. KA는 분해 상수(KD)의 역수이다. 결합 항체는, 예를 들어 특정한 표적 분자, 예를 들어 혈장 칼리크레인에 대해 적어도 10⁵, 10⁶, 10⁷, 10⁸, 10⁹, 10¹⁰ 및 10¹¹M⁻¹의 결합 친화도를 가질 수 있다. 제2 표적에 비해 제1 표적에 대한 결합 항체의 더 높은 친화도 결합은 제2 표적의 결합에 대한 KA(또는 숫자 값 KD)보다 제1 표적의 결합에 대한 더 높은 KA(또는 더 적은 숫자 값 KD)로 표시될 수 있다. 이러한 경우에, 결합 항체는 제2 표적(예를 들어, 제2 입체구조의 동일한

단백질 또는 이의 모방체; 또는 제2 단백질)에 비해 제1 표적(예를 들어, 제1 입체구성의 단백질 또는 이의 모방체)에 대해 특이성을 가진다. (예를 들어, 특이성 또는 다른 비교에 대한) 결합 친화도의 차이는 적어도 1.5배, 2배, 3배, 4배, 5배, 10배, 15배, 20배, 37.5배, 50배, 70배, 80배, 91배, 100배, 500배, 1000배, 10,000배 또는 10^5 배일 수 있다.

[0035] 결합 친화도는 평형 투석, 평형 결합, 겔 여과, ELISA, 표면 플라즈몬 공명 또는(예를 들어, 형광 검정을 이용한) 분광법을 포함하는 다양한 방법에 의해 결정될 수 있다. 결합 친화도를 평가하기 위한 예시적인 조건은 HBS-P 완충제(10mM HEPES pH7.4, 150mM NaCl, 0.005% (v/v) 계면활성제 P20) 중에 있다. 이 기술은 결합 단백질(또는 표적) 농도의 함수로서 결합 및 유리 결합 단백질의 농도를 측정하도록 이용될 수 있다. 결합 결합 단백질의 농도([결합])는 유리 결합 단백질의 농도([유리]) 및 표적에서의 결합 단백질에 대한 결합 부위의 농도와 관련되고, 여기서 (N)은 하기 식에 의해 표적 분자마다 결합 부위의 수이다:

[0036]
$$[\text{결합된}] = N \cdot [\text{유리}] / ((1/KA) + [\text{유리}])$$

[0037] KA를 정확히 결정하는 것이 항상 필요한 것이 아니더라도, 이것이 때때로 예를 들어 ELISA 또는 FACS 분석과 같은 방법을 이용하여 측정된 친화도의 정량적 측정을 얻기에 충분하므로 KA에 비례하고, 따라서 친화도의 정성적 측정을 얻도록, 또는 실험실내 또는 생체내 검정과 같은 기능적 검정에서, 예를 들어 활성에 의해 친화도의 추론을 얻도록, 더 높은 친화도가 예를 들어 2배 더 높은지를 결정하는 것과 같은 비교에 사용될 수 있다.

[0038] 용어 "결합 항체"(또는 본 명세서에서 상호 교환되어 사용된 "결합 단백질")는 표적 분자와 상호작용할 수 있는 항체를 의미한다. 이 용어는 "리간드"와 상호 교환되어 사용된다. "혈장 칼리크레인 결합 항체"는 혈장 칼리크레인과 상호작용(예를 들어, 이것에 결합)할 수 있는 항체를 의미하고, 특히 혈장 칼리크레인과 우선적으로 또는 특이적으로 상호작용하고/하거나 이를 저해하는 항체를 포함한다. 항체는 동일한 조건 하에 항체의 부재 하에 혈장 칼리크레인의 활성과 비교하여 혈장 칼리크레인의 활성을 감소시키는 경우 혈장 칼리크레인을 저해한다.

[0039] "보존적 아미노산 치환"은 아미노산 잔기가 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기에 의해 대체된 것이다. 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기의 패밀리는 당해 분야에 정의되어 있다. 이 패밀리는 염기성 측쇄(예를 들어, 라이신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄(예를 들어, 아스파르트산, 글루탐산), 비하전 극성 측쇄(예를 들어, 글라이신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인), 비극성 측쇄(예를 들어, 알라닌, 발린, 류신, 아이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판), 베타-분지형 측쇄(예를 들어, 트레오닌, 발린, 아이소류신) 및 방향족 측쇄(예를 들어, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)를 갖는 아미노산을 포함한다.

[0040] 결합 단백질의 하나 이상의 프레임워크 및/또는 CDR 아미노산 잔기가 본 명세서에 기재된 결합 단백질에 대해 하나 이상의 돌연변이(예를 들어, 치환(예를 들어, 보존적 치환 또는 비필수 아미노산의 치환), 삽입, 또는 결실)를 포함할 수 있다. 혈장 칼리크레인 결합 단백질은 본 명세서에 기재된 결합 단백질에 대해 돌연변이(예를 들어, 치환(예를 들어, 보존적 치환 또는 비필수 아미노산의 치환), 삽입, 또는 결실)(예를 들어, 적어도 1개, 2개, 3개 또는 4개 및/또는 15개 미만, 12개, 10개, 9개, 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개 또는 2개의 돌연변이), 예를 들어 단백질 기능에 실질적인 효과를 가지지 않는 돌연변이를 가질 수 있다. 돌연변이는 프레임워크 영역, CDR, 및/또는 불변 영역에 존재할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 돌연변이는 프레임워크 영역에 존재한다. 몇몇 실시형태에서, 돌연변이는 CDR에 존재한다. 몇몇 실시형태에서, 돌연변이는 불변 영역에 존재한다. 특정한 치환이 허용되는 또는 허용되지 않든, 즉 생물학적 특성에 부정적으로 영향을 미치지 않든, 예컨대 결합 활성은 예를 들어 돌연변이가 보존적인지를 평가함으로써 또는 문헌[Bowie, et al. (1990) Science 247:1306-1310]의 방법에 의해 예측될 수 있다.

[0041] "효과적으로 인간" 면역글로불린 가변 영역은, 면역글로불린 가변 영역이 정상 인간에서 면역원성 반응을 발생시키지 않도록, 충분한 수의 인간 프레임워크 아미노산 위치를 포함하는 면역글로불린 가변 영역이다. "효과적으로 인간" 항체는, 항체가 정상 인간에서 면역원성 반응을 발생시키지 않도록, 충분한 수의 인간 아미노산 위치를 포함하는 항체이다.

[0042] "에피토프"는 결합 단백질(예를 들어, 항체, 예컨대 Fab 또는 전장 항체)에 의해 결합된 표적 화합물 상의 부위를 의미한다. 표적 화합물이 단백질인 경우, 이 부위는 전부 아미노산 성분으로 이루어지거나, 전부 단백질의 아미노산의 화학 변형(예를 들어, 글라이코실 모이어티)으로 이루어지거나, 이들의 조합으로 이루어질 수 있다. 중첩하는 에피토프는 적어도 하나의 공통의 아미노산 잔기, 글라이코실기, 포스페이트기, 설페이트기 또는 다른

분자 특징을 포함한다.

- [0043] 제1 결합 항체가 제2 결합 항체가 결합하는 표적 화합물 상의 동일한 부위에 결합하거나, 제2 결합 항체가 결합하는 부위와 중첩(예를 들어, 아미노산 서열 또는 다른 분자 특징(예를 들어, 글라이코실기, 포스페이트기 또는 설페이트기)의 면에서, 예를 들어 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 100% 중첩)하는 부위에 결합하는 경우, 제1 결합 항체는 제2 결합 항체와 "동일한 에피토프에 결합한다".
- [0044] 에피토프에 대한 제1 결합 항체의 결합이 에피토프에 결합하는 제2 결합 항체의 양을(예를 들어, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% 이상) 감소시키는 경우, 제1 결합 항체는 제2 결합 항체와 "결합에 대해 경쟁한다". 경쟁은 직접적(예를 들어, 제1 결합 항체는 제2 결합 항체가 결합한 에피토프와 동일하거나 이와 중첩하는 에피토프에 결합함) 또는 간접적(예를 들어, 에피토프에 대한 제1 결합 항체의 결합은 에피토프에 결합하는 제2 결합 항체의 능력을 감소시키는 표적 화합물의 입체 변화를 발생시킴)일 수 있다.
- [0045] 2개의 서열 사이의 "상동성" 또는 "서열 동일성"(이 용어는 본 명세서에서 상호 교환되어 사용됨)의 계산을 하기와 같이 수행한다. 최적 비교 목적을 위해 서열을 정렬한다(예를 들어, 최적 정렬을 위해 제1 아미노산 및 제2 아미노산 또는 핵산 서열 중 하나 또는 둘 다에서 갭이 도입될 수 있고, 비교 목적을 위해 비상동성 서열을 버릴 수 있음). 최적 정렬은 12의 갭 패널티(gap penalty), 4의 갭 연장 패널티(gap extend penalty) 및 5의 프레임 시프트 갭 패널티(frameshift gap penalty)를 갖는 블러섬(Blossum) 62 스코어링 매트릭스를 갖는 GCG 소프트웨어 패키지에서 GAP 프로그램을 이용하여 최고의 점수로서 결정된다. 이후, 상응하는 아미노산 위치 또는 뉴클레오타이드 위치에서의 아미노산 잔기 또는 뉴클레오타이드를 비교한다. 제1 서열에서의 위치를 제2 서열에서의 상응하는 위치와 동일한 아미노산 잔기 또는 뉴클레오타이드가 점유하는 경우, 분자는 그 위치에서 동일하다(본 명세서에 사용된 바대로 아미노산 또는 핵산 "동일성"은 아미노산 또는 핵산 "상동성"과 동일함). 2개의 서열 사이의 동일성의 백분율은 서열이 공유한 동일한 위치의 수의 함수이다.
- [0046] 바람직한 실시형태에서, 비교 목적을 위해 정렬된 기준 서열의 길이는 기준 서열의 길이의 적어도 30%, 바람직하게는 적어도 40%, 더 바람직하게는 적어도 50%, 훨씬 더 바람직하게는 적어도 60% 및 훨씬 더 바람직하게는 적어도 70%, 80%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98% 또는 100%이다. 예를 들어, 기준 서열은 면역글로불린 가변 도메인 서열의 길이일 수 있다.
- [0047] "인간화" 면역글로불린 가변 영역은, 면역글로불린 가변 영역이 정상 인간에서 면역원성 반응을 발생시키지 않도록, 충분한 수의 인간 프레임워크 아미노산 위치를 포함하도록 변형된 면역글로불린 가변 영역이다. "인간화" 면역글로불린의 상세내용은 예를 들어 미국 제6,407,213호 및 미국 제5,693,762호를 포함한다.
- [0048] "단리된" 항체는 단리된 항체가 얻어질 수 있는 천연 샘플의 적어도 하나의 성분의 적어도 90%로부터 제거된 항체를 의미한다. 관심 있는 중 또는 중의 집단이 중량-중량 기준으로 적어도 5%, 10%, 25%, 50%, 75%, 80%, 90%, 92%, 95%, 98% 또는 99% 순수한 경우, 항체는 "적어도" 소정의 정도의 순도일 수 있다.
- [0049] 본 방법에 의해 치료하고자 하는 "환자", "대상체" 또는 "숙주"(이들 용어는 상호 교환되어 사용됨)는 인간 또는 비인간 동물을 의미할 수 있다.
- [0050] 용어 "프리칼리크레인" 및 "혈장 프리칼리크레인"은 본 명세서에서 상호 교환되어 사용되고, 프리칼리크레인으로도 공지된 활성 혈장 칼리크레인의 지모겐 형태를 의미한다.
- [0051] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 용어 "실질적으로 동일한"(또는 "실질적으로 상동성")은 제1 아미노산 및 제2 아미노산 또는 핵산 서열이 유사한 활성, 예를 들어 결합 활성, 결합 선호도 또는 생물학적 활성을 갖도록 (또는 이를 갖는 단백질을 코딩하도록), 제2 아미노산 또는 핵산 서열과 동일한 또는 동등한(예를 들어, 유사한 측쇄, 예를 들어 보존된 아미노산 치환을 가짐) 아미노산 잔기 또는 뉴클레오타이드의 충분한 수를 포함하는 제1 아미노산 또는 핵산 서열을 의미하도록 본 명세서에서 사용된다. 항체의 경우에, 제2 항체는 동일한 특이성 및 동일한 항원에 비해 적어도 50%, 적어도 25% 또는 적어도 10%의 친화도를 가진다.
- [0052] 본 명세서에 개시된 서열에 유사하거나 상동성인 서열(예를 들어, 적어도 약 85%의 서열 동일성)은 또한 본 출원의 일부이다. 몇몇 실시형태에서, 서열 동일성은 약 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 혈장 칼리크레인 결합 항체는 본 명세서에 기재된 항체와 약 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열 동일성을 가질 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 혈장 칼리크레인 결합 항체는 HC 및/또는 LC 프레임워크 영역(예를 들어, HC 및/또는 LC FR 1, 2, 3 및/또는 4)에서 본 명세서에 기재된 항체와 약 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열 동일성을 가질 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 혈장 칼리크레인 결합 항체는 HC 및/또는 LC CDR(예를 들어, HC 및

/또는 LC CDR1, 2 및/또는 3)에서 본 명세서에 기재된 항체(예를 들어, DX-2930)와 약 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열 동일성을 가질 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 혈장 칼리크레인 결합 항체는 불변 영역(예를 들어, CH1, CH2, CH3 및/또는 CL1)에서 본 명세서에 기재된 항체(예를 들어, DX-2930)와 약 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열 동일성을 가질 수 있다.

[0053] 또한, 핵산 분절이 가닥의 보체에 선택적 하이브리드화 조건(예를 들어, 매우 엄격한 하이브리드화 조건) 하에 하이브리드화할 때 실질적인 동일성이 존재한다. 핵산은 전체 세포 중에, 세포 용해물 중에 또는 부분 정제된 또는 실질적으로 순수한 형태로 존재할 수 있다.

[0054] 임의의 분야 공지된 방법에 의해 통계 유의성을 결정할 수 있다. 예시적인 통계 시험은 스튜던트 T-시험, 만 휘트니(Mann Whitney) U 비모수 시험 및 윌콕슨(Wilcoxon) 비모수 통계 시험을 포함한다. 약간 통계학적으로 유의적인 관계는 0.05 또는 0.02 미만의 P 값을 가진다. 특정한 결합 단백질은, 통계학적으로 유의적인(예를 들어, 0.05 또는 0.02 미만의 P 값)인, 예를 들어 특이성 또는 결합의 차이를 나타낼 수 있다. 2개의 상태 사이의 구별 가능한 정성적 또는 정량적 차이를 나타내는 예를 들어 용어 "유도한다", "저해한다", "강화한다", "상승시킨다", "증가시킨다", "감소시킨다" 등은 2개의 상태 사이의 차이, 예를 들어 통계학적으로 유의적인 차이를 의미할 수 있다.

[0055] "치료적으로 효과적인 투약량"은 바람직하게는 치료되지 않은 대상체에 비해 통계학적으로 유의미한 정도로 또는 적어도 약 20%, 더 바람직하게는 적어도 약 40%, 훨씬 더 바람직하게는 적어도 약 60%, 더욱 더 바람직하게는 적어도 약 80%로 측정 가능한 매개변수, 예를 들어 혈장 칼리크레인 활성을 조절한다. 측정 가능한 매개변수, 예를 들어 질환 관련 매개변수를 조절하는 화합물의 능력은 인간 장애 및 병증에서 효능을 예견하는 동물 모델 시스템에서 평가될 수 있다. 대안적으로, 조성물의 이 특성은 실험실내 매개변수를 조절하는 화합물의 능력을 검사함으로써 평가될 수 있다.

[0056] 용어 "치료하는"은, 본 명세서에 사용된 바대로, 질환, 질환의 증상 또는 질환에 대한 소인을 치유하거나 혈링하거나 완화하거나 경감시키거나 변경하거나 고치거나 없애거나 개선하거나 영향을 미칠 목적으로, 알레르기 질환, 알레르기 질환의 증상 또는 알레르기 질환에 대한 소인을 가지는 대상체에 대한 하나 이상의 활성 물질을 포함하는 조성물의 적용 또는 투여를 의미한다. "예방 치료"로 또한 공지된 "예방적 치료"는 사람이 노출됐거나 노출될 수 있는 질환으로부터 사람을 보호하거나 이 질환의 위험을 감소시키는 것을 목표로 하는 치료를 의미한다.

[0057] 용어 대상체에서 질환을 "예방하는"은 질환의 적어도 하나의 증상이 예방되도록 약제학적 치료로의 대상체의 처리, 예를 들어 약물의 투여를 의미하고, 즉 원치않는 병태(예를 들어, 숙주 동물의 질환 또는 다른 원치않는 상태)의 출현 전에 투여되어서, 이것은 원치않는 병태가 발생하는 것에 대해 숙주를 보호한다. 질환을 "예방하는"은 "예방책" 또는 "예방적 치료"라 또한 칭해질 수 있다.

[0058] "예방적 유효량"은 원하는 예방적 결과를 달성하는 데 필요한 투약량에서 및 기간 동안 효과적인 양을 의미한다. 통상적으로, 예방적 용량이 질환 전에 또는 이의 초기 병기에서 대상체에서 사용되므로, 예방적 유효량은 치료적 유효량보다 낮을 것이다.

[0059] 혈장 칼리크레인에 특이적인 항체

[0060] 본 명세서에 기재된 방법에서 사용하기 위한 혈장 칼리크레인 결합 항체는 전장(예를 들어, IgG(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgM, IgA(예를 들어, IgA1, IgA2), IgD 및 IgE)일 수 있거나, 오직 항원 결합 단편(예를 들어, Fab, F(ab')₂ 또는 scFv 단편을 포함할 수 있다. 결합 항체는 2개의 중쇄 면역글로불린 및 2개의 경쇄 면역글로불린을 포함할 수 있거나, 단일 사슬 항체일 수 있다. 혈장 칼리크레인 결합 항체는 제조합 단백질, 예컨대 인간화된, CDR 그래프팅화된, 키메라, 탈면역화된 또는 시험관내 생성된 항체일 수 있고, 임의로 인간 생식선 면역글로불린 서열로부터 유래한 불변 영역을 포함할 수 있다. 일 실시형태에서, 혈장 칼리크레인 결합 항체는 단일클론 항체이다.

[0061] 일 양태에서, 본 개시내용은 혈장 칼리크레인(예를 들어, 인간 혈장 칼리크레인 및/또는 췌장 칼리크레인)에 결합하고, 적어도 하나의 면역글로불린 가변 영역을 포함하는 항체(예를 들어, 단리된 항체)를 특징으로 한다. 예를 들어, 항체는 중쇄(HC) 면역글로불린 가변 도메인 서열 및/또는 경쇄(LC) 면역글로불린 가변 도메인 서열을 포함한다. 일 실시형태에서, 항체는 혈장 칼리크레인, 예를 들어 인간 혈장 칼리크레인 및/또는 췌장 칼리크레인에 결합하고 이를 저해한다.

[0062] 항체는 하기 특징 중 하나 이상을 포함할 수 있다: (a) 인간 CDR 또는 인간 프레임워크 영역; (b) HC 면역글로

불린 가변 도메인 서열은 본 명세서에 기재된 HC 가변 도메인의 CDR과 적어도 85%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 1개 이상(예를 들어, 1개, 2개 또는 3개)의 CDR을 포함하는 특징; (c) LC 면역글로불린 가변 도메인 서열이 본 명세서에 기재된 LC 가변 도메인의 CDR과 적어도 85%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 1개 이상(예를 들어, 1개, 2개 또는 3개)의 CDR을 포함하는 특징; (d) LC 면역글로불린 가변 도메인 서열이 본 명세서에 기재된 LC 가변 도메인(예를 들어, 전체 또는 프레임워크 영역 또는 CDR에서)과 적어도 85%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 특징; (e) HC 면역글로불린 가변 도메인 서열이 본 명세서에 기재된 HC 가변 도메인(예를 들어, 전체 또는 프레임워크 영역 또는 CDR에서)과 적어도 85%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 특징; (f) 항체가 본 명세서에 기재된 항체에 의해 결합된 에피토프에 결합하거나, 본 명세서에 기재된 항체에 의한 결합에 경쟁하는 특징; (g) 영장류 CDR 또는 영장류 프레임워크 영역; (h) HC 면역글로불린 가변 도메인 서열이 본 명세서에 기재된 HC 가변 도메인의 CDR1과 적어도 1개의 아미노산, 그러나 2개 또는 3개 이하의 아미노산이 다른 CDR1을 포함하는 특징; (i) HC 면역글로불린 가변 도메인 서열이 본 명세서에 기재된 HC 가변 도메인의 CDR2와 적어도 1개의 아미노산, 그러나 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개 또는 8개 이하의 아미노산이 다른 CDR2를 포함하는 특징; (j) HC 면역글로불린 가변 도메인 서열이 본 명세서에 기재된 HC 가변 도메인의 CDR3과 적어도 1개의 아미노산, 그러나 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개 이하의 아미노산이 다른 CDR3을 포함하는 특징; (k) LC 면역글로불린 가변 도메인 서열이 본 명세서에 기재된 LC 가변 도메인의 CDR1과 적어도 1개의 아미노산, 그러나 2개, 3개, 4개 또는 5개 이하의 아미노산이 다른 CDR1을 포함하는 특징; (l) LC 면역글로불린 가변 도메인 서열이 본 명세서에 기재된 LC 가변 도메인의 CDR2와 적어도 1개의 아미노산, 그러나 2개, 3개 또는 4개 이하의 아미노산이 다른 CDR2를 포함하는 특징; (m) LC 면역글로불린 가변 도메인 서열이 본 명세서에 기재된 LC 가변 도메인의 CDR3과 적어도 1개의 아미노산, 그러나 2개, 3개, 4개 또는 5개 이하의 아미노산이 다른 CDR3을 포함하는 특징; (n) LC 면역글로불린 가변 도메인 서열이 본 명세서에 기재된 LC 가변 도메인(예를 들어, 전체 또는 프레임워크 영역 또는 CDR에서)과 적어도 1개의 아미노산, 그러나 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개 또는 10개 이하의 아미노산이 다른 특징; 및 (o) HC 면역글로불린 가변 도메인 서열이 본 명세서에 기재된 HC 가변 도메인(예를 들어, 전체 또는 프레임워크 영역 또는 CDR에서)과 적어도 1개의 아미노산, 그러나 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개 또는 10개 이하의 아미노산이 다른 특징.

- [0063] 혈장 칼리크레인 결합 단백질은 분리된 항체(예를 들어, 다른 단백질이 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 없음)일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 혈장 칼리크레인 결합 항체, 또는 이의 조성물은 혈장 칼리크레인 결합 항체와 비교하여 불활성 또는 부분으로 활성(예를 들어, 5000nM 이상의 $K_{i,app}$ 로 혈장 칼리크레인에 결합)인 항체 절단 단편(예를 들어, DX-2930)으로부터 분리된다. 예를 들어, 혈장 칼리크레인 결합 항체는 이러한 항체 절단 단편을 적어도 70% 비함유하고; 다른 실시형태에서, 결합 항체는 활성 또는 부분으로 활성인 항체 절단 단편으로부터 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 99% 또는 심지어 100% 비함유한다.
- [0064] 혈장 칼리크레인 결합 항체는 혈장 칼리크레인, 예를 들어 인간 혈장 칼리크레인을 추가로 저해할 수 있다.
- [0065] 몇몇 실시형태에서, 혈장 칼리크레인 결합 항체는 프리칼리크레인(예를 들어, 인간 프리칼리크레인 및/또는 췌장과 프리칼리크레인)에 결합하지 않지만, 혈장 칼리크레인(예를 들어, 인간 혈장 칼리크레인 및/또는 췌장과 칼리크레인)의 활성 형태에 결합한다.
- [0066] 소정의 실시형태에서, 항체는 혈장 칼리크레인의 촉매 도메인, 또는 이의 단편의 활성 부위에서 또는 이의 근처에서 결합하거나, 혈장 칼리크레인의 활성 부위와 중첩되는 에피토프에 결합한다.
- [0067] 몇몇 양상에서, 항체는 동일한 에피토프에 결합하거나, 본 명세서에 기재된 항체와 결합에 대해 경쟁한다.
- [0068] 항체는 적어도 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 , 10^{10} 및 $10^{11} M^{-1}$ 의 결합 친화도로 혈장 칼리크레인, 예를 들어 인간 혈장 칼리크레인에 결합할 수 있다. 일 실시형태에서, 항체는 1×10^{-3} , $5 \times 10^{-4} s^{-1}$, 또는 $1 \times 10^{-4} s^{-1}$ 보다 느린 K_{off} 로 인간 혈장 칼리크레인에 결합한다. 일 실시형태에서, 항체는 1×10^2 , 1×10^3 , 또는 $5 \times 10^3 M^{-1} s^{-1}$ 보다 빠른 K_{on} 으로 인간 혈장 칼리크레인에 결합한다. 일 실시형태에서, 항체는 혈장 칼리크레인에 결합하지만, 조직 칼리크레인 및/또는 혈장 프리칼리크레인에 결합하지 않는다(예를 들어, 항체는 혈장 칼리크레인에 결합하는 것보다 조직 칼리크레인 및/또는 혈장 프리칼리크레인에 덜 효과적으로(예를 들어, 음성 대조군과 비교하여 예를 들어 5배, 10배, 50배, 100배 또는 1000배 덜 또는 전혀) 결합한다).

- [0069] 일 실시형태에서, 항체는 예를 들어 10^{-5} 미만, 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} 및 10^{-10} M의 K_i 로 인간 혈장 칼리크레인 활성을 저해한다. 항체는 예를 들어 100nM 미만, 10nM, 1, 0.5 또는 0.2nM의 IC_{50} 을 가질 수 있다. 예를 들어, 항체는 혈장 칼리크레인 활성, 및 XIIa 인자(예를 들어, XII 인자로부터의) 및/또는 브래디키닌(예를 들어, 고분자량 키니노겐(HMWK)으로부터의)의 체조를 조절할 수 있다. 항체는 혈장 칼리크레인 활성 및/또는 XIIa 인자(예를 들어, XII 인자로부터의) 및/또는 브래디키닌(예를 들어, 고분자량 키니노겐(HMWK)으로부터의)의 체조를 저해할 수 있다. 인간 혈장 칼리크레인에 대한 항체의 친화도는 100nM 미만, 10nM 미만, 5nM 미만, 1nM 미만, 0.5nM 미만의 K_D 를 특징으로 할 수 있다. 일 실시형태에서, 항체는 혈장 칼리크레인을 저해하지만, 조직 칼리크레인을 저해하지 않는다(예를 들어, 항체는 혈장 칼리크레인을 저해하는 것보다 조직 칼리크레인을 덜 효과적으로 저해한다(예를 들어, 음성 대조군과 비교하여 예를 들어 5배, 10배, 50배, 100배 또는 1000배 덜 저해하거나 전혀 저해하지 않음)).
- [0070] 몇몇 실시형태에서, 항체는 1000 미만, 500, 100, 5, 1, 0.5 또는 0.2nM의 겉보기 저해 상수($K_{i,app}$)를 가진다.
- [0071] 혈장 칼리크레인 결합 항체는 단일 폴리펩타이드(예를 들어, scFv) 내에, 또는 상이한 폴리펩타이드(예를 들어, IgG 또는 Fab) 상에 포함된 이의 HC 및 LC 가변 도메인 서열을 가질 수 있다.
- [0072] 일 실시형태에서, HC 및 LC 가변 도메인 서열은 동일한 폴리펩타이드 사슬의 성분이다. 또 다른 실시형태에서, HC 및 LC 가변 도메인 서열은 상이한 폴리펩타이드 사슬의 성분이다. 예를 들어, 항체는 IgG, 예를 들어 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4이다. 항체는 가용성 Fab일 수 있다. 다른 실험에서, 항체는 Fab2', scFv, 미니바디, scFv::Fc 융합, Fab::HSA 융합, HSA::Fab 융합, Fab::HSA::Fab 융합, 또는 본 명세서에서 결합 단백질 중 하나의 항원 조합 부위를 포함하는 다른 분자를 포함한다. 이 Fab의 VH 및 VL 영역은 IgG, Fab, Fab2, Fab2', scFv, PEG화 Fab, PEG화 scFv, PEG화 Fab2, VH::CH1::HSA+LC, HSA::VH::CH1+LC, LC::HSA + VH::CH1, HSA::LC + VH::CH1, 또는 다른 적절한 작제로서 제공될 수 있다.
- [0073] 일 실시형태에서, 항체는 인간 또는 인간화 항체이거나, 인간에서 비면역원성이다. 예를 들어, 항체는 하나 이상의 인간 항체 프레임워크 영역, 예를 들어 모든 인간 프레임워크 영역, 또는 인간 프레임워크 영역과 적어도 85%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일한 프레임워크 영역을 포함한다. 일 실시형태에서, 항체는 인간 Fc 도메인, 또는 인간 Fc 도메인과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 Fc 도메인을 포함한다.
- [0074] 일 실시형태에서, 항체는 영장류 또는 영장류화 항체이거나, 인간에서 비면역원성이다. 예를 들어, 항체는 하나 이상의 영장류 항체 프레임워크 영역, 예를 들어 모든 영장류 프레임워크 영역, 또는 영장류 프레임워크 영역과 적어도 85%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일한 프레임워크 영역을 포함한다. 일 실시형태에서, 항체는 영장류 Fc 도메인, 또는 영장류 Fc 도메인과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 Fc 도메인을 포함한다. "영장류"는 인간(호모 사피엔스), 침팬치(판 트로글로다이테스 및 판 파니스쿠스(보노보스)), 고릴라(고릴라 고릴라), 긴팔원숭이, 원숭이, 여우원숭이, 다람쥐원숭이(다우벤토니아 마다가스카리엔시스) 및 안경원숭이를 포함한다.
- [0075] 몇몇 실시형태에서, 인간 혈장 칼리크레인에 대한 영장류 항체의 친화도는 1000 미만, 500, 100, 10, 5, 1, 0.5nM, 예를 들어 10nM 미만, 1nM 미만, 또는 0.5nM 미만의 K_D 를 특징으로 한다.
- [0076] 소정의 실시형태에서, 항체는 마우스 또는 토끼 유래의 서열을 포함하지 않는다(예를 들어, 쥐와 또는 토끼 항체가 아님).
- [0077] 몇몇 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법에서 사용된 항체는 본 명세서에 기재된 바와 같은 DX-2930 또는 이의 기능성 변이체, 또는 DX-2930과 동일한 에피토프에 결합하거나 또는 활성 혈장 칼리크레인에 대한 결합에 대해 DX-2930과 경쟁하는 항체일 수 있다.
- [0078] 일례에서, DX-2930의 기능성 변이체는, 동일한 방법에 의해 결정된 바대로, DX-2930과 동일한 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 또 다른 예에서, DX-2930의 기능성 변이체는 DX-2930의 V_H 및 V_L 에서의 것 과 비교하여 V_H 또는 V_L 의 FR에서의 하나 이상의 돌연변이(예를 들어, 보존적 치환)를 함유할 수 있다. 바람직하게는, 이러한 돌연변이는, 일상적인 기술에 의해 결정될 수 있는, 하나 이상의 CDR과 상호작용하는 것으로 예측된, 잔기에서 발생하지 않는다. 다른 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 기능성 변이체는 DX-2930의 하나 이상의 CDR 영역 내에 1개 이상(예를 들어, 1개, 2개 또는 3개)의 돌연변이를 함유한다. 바람직하게는, 이러한 기능성 변이체는 모체

로서 항원 결합을 책임지는 동일한 영역/잔기를 보유한다. 훨씬 다른 실시형태에서, DX-2930의 기능성 변이체는 DX-2930의 V_H 의 것과 적어도 85%(예를 들어, 90%, 92%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 V_H 사슬 및/또는 DX-2930의 V_L 의 것과 적어도 85%(예를 들어, 90%, 92%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 가지는 V_L 사슬을 포함할 수 있다. 이 변이체는 혈장 칼리크레인의 활성 형태에 결합할 수 있고, 바람직하게는 프리칼리크레인에 결합하지 않는다.

[0079] 2개의 아미노산 서열의 "동일성 백분율"은, 문헌[Karlin and Altschul *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:5873-77, 1993]에서처럼 변형된, 문헌[Karlin and Altschul *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:2264-68, 1990]의 알고리즘을 이용하여 결정된다. 이러한 알고리즘은 문헌[Altschul, *et al. J. Mol. Biol.* 215:403-10, 1990]의 NBLAST 및 XBLAST 프로그램(버전 2.0)으로 통합된다. BLAST 단백질 조사는 관심 있는 단백질 분자에 상동성인 아미노산 서열을 얻도록 XBLAST 프로그램(점수 = 50, 워드길이 = 3)에 의해 수행될 수 있다. 2개의 서열 사이에 갭이 존재하는 경우, 문헌[Altschul *et al., Nucleic Acids Res.* 25(17):3389-3402, 1997]에 기재된 바대로 갭 평된 BLAST를 이용할 수 있다. BLAST 및 갭 평된 BLAST 프로그램을 이용할 때, 각각의 프로그램(예를 들어, XBLAST 및 NBLAST)의 디폴트 매개변수를 이용할 수 있다.

[0080] 몇몇 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법 및 조성물에서 사용된 항체는 DX-2930 항체일 수 있다. DX-2930에 대한 중쇄 및 경쇄 완전 및 가변 서열은 하기 제공되고, 신호 서열은 이탤릭체이다. CDR은 (카바트 넘버링 체계에 기초하여) 볼드체이고 밑줄쳐 있다.

[0081] DX-2930 중쇄 아미노산 서열(451개의 아미노산, 49439.02Da)

MGWSCILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMM**
WVRQAPGKGLEWVS**GIYSSGGITVYADSVKGR**FTISRDN SKNTLYLQMNSL
RAEDTAVYYCAY**RRIGVPRRDEFDI**WGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSK
STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS
VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG**
(서열 번호 1)

[0082]

[0083] DX-2930 경쇄 아미노산 서열(213개의 아미노산, 23419.08Da)

MGWSCILFLVATATGAHSDIQMTQSPSTLSASVGDRVITITCRASQSISSWLA**WY
QQKPGKAPKLLIY**KASTLES**GVPSRFS GSGSGTEFTLTISSLQPD DFATYYC**QQ**
YNTYWTFGQGTKVEIKRTVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA
KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE
VTHQGLSPVTKSFNRGEC** (서열 번호 2)

[0084]

[0085] DX-2930 중쇄 가변 도메인 아미노산 서열

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMM**WVRQAPGKGLEWVS**GI**
YSSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAY**RRIG**
VPRRDEFDIWGQGTMTVSS** (서열 번호 3)

[0086]

[0087] DX-2930 경쇄 가변 도메인 아미노산 서열

DIQMTQSPSTLSASVGDRVITITCRASQSISSWLA**WYQQKPGKAPKLLIY**KAST**
LESGVPSRFS GSGSGTEFTLTISSLQPD DFATYYC**QQYNTYWT**FGQGTKVEIK**
(서열 번호 4)

[0088]

표 1

DX-2930 에 대한 CDR

CDR	아미노산 서열
중쇄 CDR1	HYIMM(서열 번호 5)
중쇄 CDR2	GIYSSGGITVYADSVKG(서열 번호 6)
중쇄 CDR3	RRIGVPRRDEFDI(서열 번호 7)
경쇄 CDR1	RASQSISSWLA(서열 번호 8)
경쇄 CDR2	KASTLES(서열 번호 9)
경쇄 CDR3	QQYNTYWT(서열 번호 10)

[0089]

[0090]

항체 제제

[0091]

본 명세서에 기재된 바와 같은 항체(예를 들어, DX-2930)는 당해 분야에 공지된 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Harlow and Lane, (1988) Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York and Greenfield, (2013) Antibodies: A Laboratory Manual, Second edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press]을 참조한다.

[0092]

관심 있는 항체, 예를 들어 DX-2930을 코딩하는 서열은 숙주 세포에서 벡터에서 유지될 수 있고, 숙주 세포는 이후 증식되고 미래의 사용을 위해 동결될 수 있다. 대안에서, 폴리뉴클레오타이드 서열은 항체를 "인간화"하거나, 친화도(친화도 성숙), 또는 항체의 다른 특징을 개선하도록 유전 조작에 사용될 수 있다. 예를 들어, 항체가 임상 실험 및 인간에서의 치료에 사용될 때, 불변 영역은 면역 반응을 피하도록 더 닮은 인간 불변 영역으로 조작될 수 있다. 표적 항원에 대한 더 높은 친화도 및 PKa1의 활성을 저해하는 데 있어서 더 높은 효능을 얻기 위해 항체 서열을 유전적으로 조작하는 것이 바람직할 수 있다. 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 변화가 항체에 이루어질 수 있고, 표적 항원에 대한 이의 결합 특이성을 여전히 유지시킨다는 것이 당해 분야의 당업자에게 명확할 것이다.

[0093]

다른 실시형태에서, 완전 인간 항체는 특이적 인간 면역글로불린 단백질을 발현하도록 조작된 상업적으로 구입 가능한 마우스를 사용함으로써 얻어질 수 있다. 더 바람직한(예를 들어, 완전 인간 항체) 또는 더 튼튼한 면역 반응을 제조하도록 설계된 형질전환 동물은 인간화 또는 인간 항체의 생성에 또한 사용될 수 있다. 이러한 기술의 예는 Amgen, Inc.(캘리포니아주 프리몬트)사의 제노마우스(Xenomouse)(등록상표) 및 Medarex, Inc.(뉴저지주 프린스턴)사제의 HuMAb-마우스(등록상표) 및 TC 마우스(등록상표)이다. 또 다른 대안에서, 항체는 파지 디스플레이 또는 효모 기술에 의해 재조합으로 제조될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 제5,565,332호; 제5,580,717호; 제5,733,743호; 및 제6,265,150호; 및 문헌[Winter et al., (1994) Annu. Rev. Immunol. 12:433-455]을 참조한다. 대안적으로, 파지 디스플레이 기술(McCafferty et al., (1990) Nature 348:552-553)은 비면역화된 도너로부터의 면역글로불린 가변(V) 도메인 유전자 레퍼토리로부터 시험관내 인간 항체 및 항체 단편을 제조하도록 사용될 수 있다.

[0094]

온전한 항체(전장 항체)의 항원 결합 단편은 일상적인 방법을 통해 제조될 수 있다. 예를 들어, F(ab')₂ 단편은 항체 분자의 펩신 분해에 의해 제조될 수 있고, Fab 단편은 F(ab')₂ 단편의 다이설파이드 브릿지를 환원시킴으로써 생성될 수 있다.

[0095]

유전적으로 조작된 항체, 예컨대 인간화 항체, 키메라 항체, 단쇄 항체 및 이중특이적 항체는 예를 들어 종래의 재조합 기술을 통해 제조될 수 있다. 일례에서, 표적 항원에 특이적인 단일클론 항체를 코딩하는 DNA는 용이하게 단리되거나 합성될 수 있다. DNA는 하나 이상의 발현 벡터에 위치할 수 있고, 이것은 이후, 재조합 숙주 세포에서 단일클론 항체의 합성을 얻도록, 숙주 세포, 예컨대 이. 콜라이 세포, 유인원 COS 세포, 중국 햄스터 난소(Chinese hamster ovary: CHO) 세포, 또는 면역글로불린 단백질을 달리 제조하지 않는 골수종 세포로 형질감염된다. 예를 들어, PCT 공보 WO 제87/04462호를 참조한다. 이후, 예를 들어 상동성 컷과 서열 대신에 인간 중쇄 및 경쇄 불변 도메인에 대한 코딩 서열을 치환함으로써(Morrison et al., (1984) Proc. Nat. Acad. Sci. 81:6851), 또는 비면역글로불린 폴리펩타이드에 대한 코딩 서열의 전부 또는 일부를 면역글로불린 코딩 서열로 공유로 연결함으로써 DNA는 변형될 수 있다. 이러한 방식으로, 표적 항원의 결합 특이성을 가지는, 유전적으로 조작된 항체, 예컨대 "키메라" 또는 "하이브리드" 항체를 제조할 수 있다.

[0096]

"키메라 항체"의 제조를 위해 개발된 기법은 당해 분야에 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[Morrison et

al. (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81, 6851; Neuberger et al. (1984) Nature 312, 604; 및 Takeda et al. (1984) Nature 314:452]을 참조한다.

[0097] 인간화 항체를 작제하는 방법은 당해 분야에 또한 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[Queen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86:10029-10033 (1989)]을 참조한다. 일례에서, 모 비인간 항체의 VH 및 VL의 가변 영역은 당해 분야에 공지된 방법에 따라 3차원 분자 모델링 분석으로 처리된다. 다음에, 동일한 분자 모델링 분석을 이용하여 정확한 CDR 구조의 형성에 중요한 것으로 예측된 프레임워크 아미노산 잔기를 확인한다. 동시에, 조사 쿼리로서 모 VH 및 VL 서열을 사용하여 임의의 항체 유전자 데이터베이스로부터 모 비인간 항체의 것에 상동성인 아미노산 서열을 가지는 인간 VH 및 VL 사슬을 확인한다. 이후, 인간 VH 및 VL 역선택 유전자를 선택한다.

[0098] 선택된 인간 역선택 유전자 내에 CDR 영역은 모 비인간 항체 또는 이의 기능성 변이체로부터 CDR 영역에 의해 대체될 수 있다. 필요할 때, CDR 영역과 상호작용하는 데 있어서 중요한 것으로 예측된 모 사슬의 프레임워크 영역 내의 잔기(상기 설명 참조)는 인간 역선택 유전자에서의 상응하는 잔기를 치환하도록 사용될 수 있다.

[0099] 중쇄 가변 영역에 대해 코딩하는 뉴클레오타이드 서열 및 경쇄 가변 영역에 대해 코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 연결함으로써 재조합 기술을 통해 단쇄 항체를 제조할 수 있다. 바람직하게는, 2개의 가변 영역 사이에 가요성 링커가 혼입된다. 대안적으로, 단일 사슬 항체의 제조에 기재된 기법(미국 특허 제4,946,778호 및 제4,704,692호)은 파지 또는 효모 scFv 라이브러리를 제조하도록 수정될 수 있고, PKa1에 특이적인 scFv 클론은 일상적인 절차 후 라이브러리로부터 확인될 수 있다. 양성 클론은 PKa1 활성을 저해하는 것을 확인하도록 추가의 스크리닝으로 처리될 수 있다.

[0100] 몇몇 항체, 예를 들어 Fab는 박테리아 세포, 예를 들어 이. 콜라이 세포에서 제조될 수 있다. (예를 들어, 문헌[Nadkarni, A. et al., 2007 Protein Expr Purif 52(1):219-29] 참조). 예를 들어, Fab가 디스플레이 집합체와 박테리오파지 단백질(또는 이의 단편) 사이의 억제 가능한 중지 코돈을 포함하는 파지 디스플레이 벡터에서 서열에 의해 코딩되는 경우, 벡터 핵산은 중지 코돈을 억제할 수 없는 박테리아 세포로 전달될 수 있다. 이 경우에, Fab는 유전자 III 단백질에 융합되지 않고, 주변세포질 및/또는 배지로 분비된다.

[0101] 항체는 진핵 세포에서 또한 제조될 수 있다. 일 실시형태에서, 항체(예를 들어, scFv)는 효모 세포, 예컨대 피치아(*Pichia*)(예를 들어, 문헌[Powers et al., 2001, J. Immunol. Methods. 251:123-35; Schoonoghe S. et al., 2009 BMC Biotechnol. 9:70; Abdel-Salam, HA. et al., 2001 Appl Microbiol Biotechnol 56(1-2):157-64; Takahashi K. et al., 2000 Biosci Biotechnol Biochem 64(10):2138-44; Edqvist, J. et al., 1991 J Biotechnol 20(3):291-300] 참조), 한세울라(*Hansenula*) 또는 사카로마이세스(*Saccharomyces*)에서 발현된다. 당해 분야의 당업자는 예를 들어 산소 조건(예를 들어, 문헌[Baumann K., et al. 2010 BMC Syst. Biol. 4:141] 참조), 삼투압농도(예를 들어, 문헌[Dragosits, M. et al., 2010 BMC Genomics 11:207] 참조), 온도(예를 들어, 문헌[Dragosits, M. et al., 2009 J Proteome Res. 8(3):1380-92] 참조), 발효 조건(예를 들어, 문헌[Ning, D. et al. 2005 J. Biochem. 및 Mol. Biol. 38(3): 294-299] 참조), 효모의 균주(예를 들어, 문헌[Kozyr, AV et al. 2004 Mol Biol (Mosk) 38(6):1067-75; Horwitz, AH. et al., 1988 Proc Natl Acad Sci U S A 85(22):8678-82; Bowdish, K. et al. 1991 J Biol Chem 266(18):11901-8] 참조), 항체 제조를 증대시키기 위한 단백질의 과발현(예를 들어, 문헌[Gasser, B. et al., 2006 Biotechnol. Bioeng. 94(2):353-61] 참조), 배양물의 산도의 수준(예를 들어, 문헌[Kobayashi H., et al., 1997 FEMS Microbiol Lett 152(2):235-42] 참조), 기질 및/또는 이온의 농도(예를 들어, 문헌[Ko JH. et al., 2006 Appl Biochem Biotechnol 60(1):41-8] 참조)를 최적화함으로써 효모에서 항체 제조를 최적화할 수 있다. 또한, 효모 시스템은 연장된 반감기를 가지는 항체를 제조하도록 사용될 수 있다(예를 들어, 문헌[Smith, BJ. et al. 2001 Bioconjug Chem 12(5):750-756] 참조).

[0102] 바람직한 일 실시형태에서, 항체는 포유동물 세포에서 제조된다. 클론 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 발현하기 위한 바람직한 포유동물 숙주 세포는 중국 햄스터 난소(CHO 세포)(예를 들어, 문헌[Kaufman and Sharp, 1982, Mol. Biol. 159:601-621]에 기재된 바와 같은 DHFR 선택 가능한 마커와 사용되는, 문헌[Urlaub and Chasin, 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-4220]에 기재된 dhfr- CHO 세포 포함), 림프구 세포주, 예를 들어 NS0 골수종 세포 및 SP2 세포, COS 세포, HEK293T 세포(J. Immunol. Methods (2004) 289(1-2):65-80), 및 형질전환 동물, 예를 들어 형질전환 포유동물로부터의 세포를 포함한다. 예를 들어, 세포는 유방 상피 세포이다.

[0103] 몇몇 실시형태에서, 혈장 칼리크레인 결합 항체는 식물 또는 세포 비함유 기반 시스템에서 제조된다(예를 들어,

문헌[Galeffi, P., et al., 2006 J Transl Med 4:39] 참조).

[0104] 다각화된 면역글로불린 도메인을 코딩하는 핵산 서열 이외에, 재조합 발현 벡터는 부가적인 서열, 예컨대 숙주 세포에서 벡터의 복제를 조절하는 서열(예를 들어, 복제 기원) 및 선택 가능한 마커 유전자를 보유할 수 있다. 선택 가능한 마커 유전자는 벡터가 도입된 숙주 세포의 선택이 수월하게 한다(예를 들어, 미국 특허 제 4,399,216호, 제4,634,665호 및 제5,179,017호 참조). 예를 들어, 통상적으로 선택 가능한 마커 유전자는 벡터가 도입된 숙주 세포에서 G418, 하이그로마이신 또는 메토포렉세이트와 같은 약물에 내성을 부여한다. 바람직한 선택 가능한 마커 유전자는 엽산 환원효소(DHFR) 유전자(메토포렉세이트 선택/증폭에 의한 *dhfr*⁻ 숙주 세포에서의 사용을 위한) 및 *neo* 유전자(G418 선택을 위한)를 포함한다.

[0105] 항체, 또는 이의 항원 결합 부분의 재조합 발현을 위한 예시적인 시스템에서, 항체 중쇄 및 항체 경쇄 둘 다를 코딩하는 재조합 발현 벡터는 인간갈습 매개 형질감염에 의해 *dhfr*⁻ CHO 세포로 도입된다. 재조합 발현 벡터 내에, 항체 중쇄 및 경쇄 유전자는 각각 인핸서/프로모터 조절 요소(예를 들어, SV40, CMV, 아데노바이러스 등, 예컨대 CMV 인핸서/AdMLP 프로모터 조절 요소 또는 SV40 인핸서/AdMLP 프로모터 조절 요소로부터 유래)에 작동적으로 연결되어서, 유전자의 높은 수준의 전사를 추진시킨다. 재조합 발현 벡터는 또한 DHFR 유전자를 보유하고, 이것은 메토포렉세이트 선택/증폭을 사용하여 벡터에 의해 형질감염된 CHO 세포의 선택을 허용한다. 선택된 형질전환체 숙주 세포는 항체 중쇄 및 경쇄의 발현을 허용하도록 배양되고, 온전한 항체는 배양 배지로부터 회수된다. 표준 분자 생물학 기법은 재조합 발현 벡터를 제조하고, 숙주 세포를 형질감염시키고, 형질감염체를 선택하고, 숙주 세포를 배양하고, 배양 배지로부터 항체를 회수하기 위해 사용된다. 예를 들어, 몇몇 항체는 단백질 A 또는 단백질 G 커플링된 매트릭스를 가지는 친화도 크로마토그래피에 의해 분리될 수 있다.

[0106] Fc 도메인을 포함하는 항체의 경우, 항체 제조 시스템은 Fc 영역이 글라이코실화된 항체를 제조할 수 있다. 예를 들어, IgG 분자의 Fc 도메인은 CH2 도메인에서 아스파라긴 297에서 글라이코실화된다. 이 아스파라긴은 2안테나(biantennary) 유형 올리고사카라이드에 의한 변형에 대한 부위이다. 이 글라이코실화가 Fcg 수용체 및 보체 C1q에 의해 매개되는 이펙터 기능에 필요한 것으로 입증되었다(Burton and Woof, 1992, Adv. Immunol. 51:1-84; Jefferis et al., 1998, Immunol. Rev. 163:59-76). 일 실시형태에서, Fc 도메인은 아스파라긴 297에 상응하는 잔기를 적절히 글라이코실화하는 포유동물 발현 시스템에서 제조된다. Fc 도메인은 다른 진핵생물 번역 후 변형을 또한 포함할 수 있다.

[0107] 항체는 형질전환 동물에 의해 또한 제조될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 제5,849,992호는 형질전환 동물의 유선에서 항체를 발현하는 방법을 기재한다. 몇 특이적 프로모터 및 관심 있는 항체를 코딩하는 핵산 및 분비를 위한 신호 서열을 포함하는 전이유전자가 작제된다. 이러한 형질전환 포유동물의 암컷에 의해 제조된 것은, 내부에 분비된, 관심 있는 항체를 포함한다. 항체는 것으로부터 정제될 수 있거나, 몇몇 분야에 대해, 바로 사용될 수 있다.

[0108] 약제학적 조성물

[0109] 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체(예를 들어, DX-2930)는 조성물, 예를 들어 약제학적으로 허용 가능한 조성물 또는 약제학적 조성물에 존재할 수 있다. 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체(예를 들어, DX-2930)는 약제학적으로 허용 가능한 담체와 함께 제제화될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 30mg 내지 400mg의 DX-2930 항체가, 임의로 약제학적으로 허용 가능한 담체와 함께, 조성물, 예를 들어 약제학적으로 허용 가능한 조성물 또는 약제학적 조성물에 존재한다. 몇몇 실시형태에서, 30mg, 100mg, 150mg, 300mg 또는 400mg의 DX-2930 항체는, 임의로 약제학적으로 허용 가능한 담체와 함께 조성물, 예를 들어 약제학적으로 허용 가능한 조성물 또는 약제학적 조성물에 존재한다.

[0110] 약제학적으로 허용 가능한 담체는 생리학적으로 상용성인 임의의 및 모든 용매, 분산 매질, 코팅, 항박테리아제 및 항진균제, 등장화제 및 흡수 지연제 등을 포함한다. 바람직하게는, 담체는 피하, 정맥내, 근육내, 비경구, 척추, 또는 표피 투여(예를 들어, 주사 또는 주입에 의해)에 적합하지만, 흡입 및 비강 투여에 적합한 담체가 또한 고려된다. 몇몇 실시형태에서, 약제학적으로 허용 가능한 담체는 인산나트륨, 시트르산, 히스티딘, 염화나트륨 및 트윈 80 중 하나 이상이다. 몇몇 실시형태에서, 약제학적으로 허용 가능한 담체는 인산나트륨, 시트르산, 히스티딘, 염화나트륨 및 트윈 80이다. 몇몇 실시형태에서, 항체, 예컨대 DX-2930은 30mM 인산나트륨, 8.6mM 시트르산, 50mM 히스티딘, 90mM 염화나트륨, 0.01% 트윈 80(pH 6.0) 중에 제제화된다. 몇몇 실시형태에서, 조성물은 30mM 인산나트륨, 8.6mM 시트르산, 50mM 히스티딘, 90mM 염화나트륨, 0.01% 트윈 80의 1mL 용액마다 100mg DX-2930을 포함하거나, 이것으로 이루어진다.

- [0111] 약제학적으로 허용 가능한 염은 화합물의 원하는 생물학적 활성을 보유하고 임의의 원치 않는 독성학적 효과를 부여하지 않는 염이다(예를 들어, 문헌[Berge, S.M., et al., 1977, J. Pharm. Sci. 66:1-19] 참조). 이러한 염의 예는 산 부가염 및 염기 부가염을 포함한다. 산 부가염은 비독성 무기산, 예컨대 하이드로염산, 질산, 인산, 황산, 하이드로브롬산, 하이드로요오드산, 인 등, 및 비독성 유기산, 예컨대 지방족 모노- 및 다이카복실산, 페닐 치환된 알칸산, 하이드록시 알칸산, 방향족 산, 지방족 및 방향족 설폰산 등으로부터 유래한 것을 포함한다. 염기 부가염은 알칼리 토금속, 예컨대 나트륨, 칼륨, 마그네슘, 칼슘 등, 및 비독성 유기 아민, 예컨대 N,N'-다이벤질에틸렌다이아민, N-메틸글루카민, 클로로프로카인, 콜린, 다이에탄올아민, 에틸렌다이아민, 프로카인 등으로부터 유래한 것을 포함한다.
- [0112] 상기 조성물은 다양한 형태일 수 있다. 이것은 예를 들어 액체, 반고체 및 고체 제형, 예컨대 액체 용액(예를 들어, 주사용 및 주입용 용액), 분산액 또는 현탁액, 정제, 환제, 분말, 리포솜 및 좌제를 포함한다. 형태는 의도된 투여 방식 및 치료적 용도에 따라 달라질 수 있다. 많은 조성물은 주사용 또는 주입용 용액, 예컨대 항체를 가지는 인간의 투여에 사용된 것과 유사한 조성물의 형태이다. 예시적인 투여 방식은 비경구(예를 들어, 정맥내, 피하, 복막내, 근육내)이다. 일 실시형태에서, 혈장 칼리크레인 결합 단백질은 정맥내 주입 또는 주사에 의해 투여된다. 또 다른 바람직한 실시형태에서, 혈장 칼리크레인 결합 단백질은 근육내 또는 피하 주사에 의해 투여된다. 또 다른 바람직한 실시형태에서, 혈장 칼리크레인 결합 단백질 복막내 주사에 의해 투여된다.
- [0113] 구절 "비경구 투여" 및 "비경구로 투여된다"는, 본 명세서에 사용된 바대로, 장용 및 국소 투여 이외의 투여 방식, 보통 주사에 의한 것을 의미하고, 제한 없이 정맥내, 근육내, 동맥내, 척추강내, 관절내, 안와내, 심장내, 피내, 복강내, 기관지경, 피하, 각피내, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내, 경막외 및 흉골내 주사 및 점적주사를 포함한다.
- [0114] 상기 조성물은 용액, 마이크로에멀전, 분산액, 리포솜, 또는 높은 약물 농도에 적합한 다른 순서화된 구조로서 제제화될 수 있다. 무균 주사용 용액은 필요한 바대로 상기 열거된 성분 중 하나 또는 이의 조합에 의해 적절한 용매 중에 필요한 양으로 결합 단백질을 혼입한 후 제조될 수 있고, 이후 무균 여과한다. 일반적으로, 분산액은 염기성 분산 매질 및 상기 열거된 것으로부터 필요한 다른 성분을 함유하는 무균 비히클로 활성 화합물을 혼입함으로써 제조된다. 무균 주사용 용액의 제조를 위한 무균 분말의 경우, 바람직한 제조 방법은 이의 이전에 무균 여과된 용액으로부터 활성 성분과 임의의 추가적인 원하는 성분의 분말을 생성시키는 진공 건조 및 동결 건조이다. 용액의 적절한 유동성은 예를 들어 코팅, 예컨대 레시틴의 사용에 의해, 분산액의 경우에 필요한 입자 크기의 유지에 의해 및 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다. 조성물에서 흡수를 지연시키는 물질, 예를 들어 모노스테아레이트 염 및 젤라틴을 포함시킴으로써 주사용 조성물의 연장 흡수가 생길 수 있다.
- [0115] 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체(예를 들어, DX-2930)는 다양한 방법, 예컨대 정맥내 주사 또는 주입에 의해 투여될 수 있다. 예를 들어, 일부 치료적 분야에 대해, 항체는 30 미만, 20, 10, 5, 또는 1mg/분의 속도로 정맥내 주입에 의해 투여되어서 약 1 내지 100mg/m² 또는 7 내지 25mg/m²의 용량에 도달할 수 있다. 투여의 경로 및/또는 방식은 원하는 결과에 따라 변할 것이다. 소정의 실시형태에서, 활성 화합물은 신속한 방출에 대해 화합물을 보호하는 담체, 예컨대 제어 방출 제제, 예컨대 임플란트, 및 마이크로캡슐화 전달 시스템에 의해 제조될 수 있다. 생분해성, 생체적합성 중합체, 예컨대 에틸렌 비닐 아세테이트, 폴리언하이드라이드, 폴리글라이콜산, 콜라겐, 폴리오르토에스터 및 폴리락트산을 사용할 수 있다. 이러한 제제의 많은 제조 방법이 이용 가능하다. 예를 들어, 문헌[Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson, ed., 1978, Marcel Dekker, Inc., New York]을 참조한다.
- [0116] 약제학적 조성물은 의학 장치에 의해 투여될 수 있다. 예를 들어, 일 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 약제학적 조성물은 장치, 예를 들어 무침 피하 주사 장치, 펌프 또는 임플란트에 의해 투여될 수 있다.
- [0117] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체(예를 들어, DX-2930)는 생체내 적절한 분포를 보장하도록 제제화될 수 있다. 예를 들어, 혈액-뇌 장벽(BBB)은 많은 매우 친수성인 화합물을 배제한다. 본 명세서에 개시된 치료적 화합물이 (원하는 경우) BBB를 횡단한다는 것을 보장하기 위해, 이것은 예를 들어 리포솜에서 제제화될 수 있다. 리포솜의 제조의 방법에 대해, 예를 들어 미국 특허 제4,522,811호; 제5,374,548호; 및 제5,399,331호를 참조하다. 리포솜은 특정한 세포 또는 장기로 선택적으로 수송되어서, 표적화된 약물 전달을 증대시키는 하나 이상의 모이어티를 포함할 수 있다(예를 들어, 문헌[V.V. Ranade, 1989, J. Clin. Pharmacol. 29:685] 참조).
- [0118] 투약량 섭생은 최적 원하는 반응(예를 들어, 치료적 반응)을 제공하도록 조정된다. 예를 들어, 단일 볼루스를 투여할 수 있고, 몇몇 분할된 용량을 시간에 걸쳐 투여할 수 있거나, 용량은 치료적 상황의 응급상황에 의해 표

시된 바대로 비례하여 감소하거나 증가할 수 있다. 투여의 용이성 및 투약량의 균일성을 위해 단위 제형에서 비경구 조성물을 제제화하는 것이 특히 유리하다. 본 명세서에 사용된 바대로 단위 제형은 치료되는 대상체에 대한 단위 투약량으로서 적합한 물리적으로 별개의 단위를 의미하고; 각각의 단위는 필요한 약제학적 담체와 관련하여 원하는 치료 효과를 생성하도록 계산된 활성 화합물의 미리 결정된 분량을 함유한다. 단위 제형에 대한 사양은 (a) 활성 화합물의 독특한 특징 및 달성되는 특정한 치료 효과, 및 (b) 개인에서 감수성의 치료를 위해 이러한 활성 화합물의 배합에 고유한 제한에 의해 기술되고 직접적으로 이에 따라 달라질 수 있다.

- [0119] 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체(예를 들어, DX-2930)의 치료적 또는 예방적 유효량에 대한 예시적인, 비제한적인 범위는 30mg 내지 400mg 또는 예를 들어 100 내지 400mg, 100 내지 300mg 또는 300 내지 400mg 사이의 임의의 정수이다. 몇몇 실시형태에서, 치료적 또는 예방적 유효량은 30mg, 100mg, 150mg, 200mg, 250mg, 300mg, 350mg 또는 400mg이다.
- [0120] 몇몇 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체(예를 들어, DX-2930)의 치료적 또는 예방적 유효량은 30mg, 100mg, 150mg, 300mg 또는 400mg이다. 몇몇 실시형태에서, 치료적 또는 예방적 유효량은 150mg이다. 몇몇 실시형태에서, 치료적 또는 예방적 유효량은 300mg이다. 몇몇 실시형태에서, 치료적 또는 예방적 유효량은 400mg이다.
- [0121] 몇몇 실시형태에서, 치료적 또는 예방적 유효량은 적어도 2회, 적어도 3회, 적어도 4회, 적어도 5회, 적어도 6회, 적어도 7회, 적어도 8회, 적어도 9회, 적어도 10회, 또는 이것 초과로 투여된다. 몇몇 실시형태에서, 치료적 또는 예방적 유효량은 격주로(즉, 2주마다) 투여된다. 몇몇 실시형태에서, 치료적 또는 예방적 유효량은 300mg 또는 400mg이고, 이 양은 2주마다 투여된다. 몇몇 실시형태에서, 치료적 또는 예방적 유효량은 300mg이고, 항체의 이 양은 2주마다 투여된다. 몇몇 실시형태에서, 치료적 또는 예방적 유효량은 400mg이고, 항체의 이 양은 2주마다 투여된다.
- [0122] 몇몇 실시형태에서, 임의의 항-pKa1 항체, 예컨대 DX-2930의 치료는 적어도 로딩 기간 및 유지 기간을 포함하는 치료 섭생을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 로딩 기간에 대한 항체의 치료적 또는 예방적 유효량은 각 투여마다 100 내지 300mg(예를 들어, 150mg 또는 300mg)이다. 이 기간 동안, 항체는 매주(예를 들어, 1주, 2주 또는 3주 동안 매주) 투여될 수 있다. 일례에서, 로딩 기간은 2주이고, 항체는 0일, 7일 및 14일에 투여된다.
- [0123] 대안적으로 또는 또한, 유지 기간에 대한 치료적 또는 예방적 유효량은 각각의 투여마다 약 100 내지 300mg(예를 들어, 150mg 또는 300mg)이다. 이 기간 동안, 항체는 격주로(즉, 2주마다), 3주마다, 또는 4주마다(예를 들어, 10주 동안 2주마다, 5의 용량 전체의 전달을 발생시킴) 투여될 수 있다. 일례에서, 유지 기간은 10주 동안 지속할 수 있고, 항체는 28일, 42일, 56일, 70일 및 84일에 투여된다.
- [0124] 몇몇 실시형태에서, 항-pKa1 항체, 예컨대 DX-2930은 150mg 또는 300mg으로 투여되고, 그 양은 처음에 적합한 기간 동안 매주(예를 들어, 1주, 2주 또는 3주 동안 매주) 투여되고, 후속하여 적합한 기간 동안 2주 내지 4주마다(예를 들어, 2주, 3주 또는 4주마다) 투여된다.
- [0125] 본 명세서에 기재된 임의의 방법에서, 치료 섭생은 유지 기간 후에 추적관찰 기간을 추가로 포함할 수 있다. 추적관찰 기간에, 항체, 예컨대 DX-2930은 100-300mg, 예를 들어 300mg으로 2-4주마다 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 투약량은 로딩 기간, 유지 기간 및 추적관찰 기간 중 하나 이상에서 400mg으로 증가할 수 있다.
- [0126] 본 명세서에 개시된 약제학적 조성물은 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체(예를 들어, DX-2930)의 "치료적 유효량" 또는 "예방적 유효량"을 포함할 수 있다.
- [0127] **키트**
- [0128] 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체(예를 들어, DX-2930)는 예를 들어 키트의 성분으로서 키트에 제공될 수 있다. 예를 들어, 키트는 (a) DX-2930 항체, 예를 들어 항체를 포함하는 조성물(예를 들어, 약제학적 조성물), 및, 임의로 (b) 정보 자료를 포함한다. 정보 자료는, 본 명세서에 기재된 방법 및/또는 예를 들어 본 명세서에 기재된 방법에 대한 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체(예를 들어, DX-2930)의 사용에 관한, 서술적, 지도적, 마케팅 또는 다른 자료일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 키트는 DX-2930의 하나 이상의 용량을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 하나 이상의 용량은 30mg, 100mg, 150mg, 300mg 또는 400mg이다.
- [0129] 키트의 정보 자료는 이의 형태가 제한되지 않는다. 일 실시형태에서, 정보 자료는 화합물의 제조, 화합물의 분자량, 농도, 만료 일자, 배취 또는 제조 사이트 정보 등에 관한 정보를 포함할 수 있다. 일 실시형태에서, 정보 자료는 장애 및 병태, 예를 들어 혈장 칼리크레인 연관 질환 또는 병태의 진단, 또는 이 질환 또는 병태를 치료

하거나 예방하기 위한 항체의 사용에 관한 것이다.

[0130] 일 실시형태에서, 정보 자료는 본 명세서에 기재된 방법을 수행하기에 적합한 방식으로, 예를 들어 적합한 용량, 제형, 투여 방식 또는 투약 스케줄(예를 들어, 본 명세서에 기재된 용량, 제형, 투약 스케줄 또는 투여 방식)로 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체(예를 들어, DX-2930)를 투여하기 위한 복약지도를 포함할 수 있다. 또 다른 실시형태에서, 정보 자료는 적합한 대상체, 예를 들어 인간, 예를 들어 혈장 칼리크레인 연관 질환 또는 병태를 가지거나 이의 위험이 있는 인간에게 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체(예를 들어, DX-2930)를 투여하기 위한 복약지도를 포함할 수 있다. 예를 들어, 자료는 예를 들어 본 명세서에 기재된 투약 스케줄에 따라 본 명세서에 기재된 장애 또는 병태, 예를 들어 혈장 칼리크레인 연관 질환을 가지는 환자에게 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체(예를 들어, DX-2930)를 투여하기 위한 복약지도를 포함할 수 있다. 키트의 정보 자료는 이의 형태가 제한되지 않는다. 많은 경우에, 정보 자료, 예를 들어 복약지도는 프린트로 제공되지만, 또한 다른 포맷, 예컨대 컴퓨터 판독 가능한 자료일 수 있다.

[0131] 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체(예를 들어, DX-2930)는 임의의 형태, 예를 들어 액체, 건조 또는 동결건조 형태로 제공될 수 있다. 항체가 실질적으로 순수하고/하거나, 무균인 것이 바람직하다. 항체가 액체 용액 중에 제공되는 경우, 액체 용액은 바람직하게는 수성 용액이고, 무균 수성 용액이 바람직하다. 항체가 건조 형태로서 제공될 때, 재구성은 일반적으로 적합한 용매의 첨가에 의한다. 용매, 예를 들어 무균수 또는 완충제는 임의로 키트에 제공될 수 있다.

[0132] 키트는 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체(예를 들어, DX-2930)를 함유하는 조성물을 위한 하나 이상의 용기를 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 키트는 조성물 및 정보 자료를 위한 별개의 용기, 분리장치 또는 구획을 함유한다. 예를 들어, 상기 조성물은 병, 바이알 또는 주사기에 함유될 수 있고, 정보 자료는 용기와 연관되어 함유될 수 있다. 다른 실시형태에서, 키트의 별개의 부재는 단일의 미분할 용기 내에 함유된다. 예를 들어, 상기 조성물은 라벨의 형태로 정보 자료가 부착된 병, 바이알 또는 주사기에 함유된다. 몇몇 실시형태에서, 키트는 개별 용기의 다수(예를 들어, 팩)를 포함하고, 각각은 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체(예를 들어, DX-2930)의 하나 이상의 단위 제형(예를 들어, 본 명세서에 기재된 제형)을 함유한다. 예를 들어, 키트는 복수의 주사기, 앰플, 호일 팩킷 또는 블리스터 팩을 포함하고, 예를 들어 각각은 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체(예를 들어, DX-2930)의 단일 단위 용량을 함유한다. 키트의 용기는 기밀, 방수(예를 들어, 수분 또는 증발의 변화에 불투과성) 및/또는 빛 차단(light-tight)일 수 있다.

[0133] 키트는 임의로 상기 조성물의 투여에 적합한 장치, 예를 들어 주사기 또는 임의의 이러한 전달 장치를 포함한다. 일 실시형태에서, 상기 장치는 항체의 계량 용량을 분배하는 이식형 장치이다. 본 개시내용은 또한 예를 들어 본 명세서에 기재된 성분을 조합함으로써 키트를 제공하는 방법을 특징으로 한다.

[0134] 치료

[0135] 몇몇 양태에서, 본 개시내용은 HAE를 치료하는 데 있어서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체(예를 들어, DX-2930)의 용도를 제공한다.

[0136] 유전성 혈관부종

[0137] 유전성 혈관 부종(HAE)은 또한 "퀸케(Quincke) 부종", C1 에스테라제 저해제 결핍증, C1 저해제 결핍증 및 유전성 혈관신경성 부종(HANE)으로 공지되어 있다. HAE는 예를 들어 사지, 얼굴, 생식기, 위장관 및 기도에 영향을 미칠 수 있는 심각한 종창(혈관 부종)의 재발성 삽화를 특징으로 한다. HAE의 증상은 예를 들어 팔, 다리, 입술, 눈, 혀 및/또는 목의 종창; 목 종창 및 갑작스런 목숨을 포함할 수 기도 폐색; 명확한 원인이 없는 복부 경련의 반복 삽화; 및/또는 장의 종창(중증일 수 있고, 복부 경련, 구토, 탈수, 설사, 통증 및/또는 쇼크를 발생시킬 수 있음)을 포함한다. 이 HAE를 갖는 개인의 약 1/3이 발작 동안 윤곽성 홍반이라 불리는 가렵지 않은 발진을 전개시킨다.

[0138] 기도의 종창은 삶을 위협할 수 있고, 몇몇 환자에서 사망을 야기한다. 사망률은 15 내지 33%로 추정된다. HAE는 매년 약 15,000 내지 30,000회의 응급실 방문을 발생시킨다.

[0139] 외상 또는 스트레스, 예를 들어 치아 시술, 질병(예를 들어, 바이러스 질병, 예컨대 감기 및 독감), 월경 및 수술은 혈관 부종의 발작을 촉발할 수 있다. HAE의 급성 발작을 예방하기 위해, 환자는 이전에 야기된 발작을 갖는 특수 자극을 피하도록 시도할 수 있다. 그러나, 많은 경우에, 공지된 촉발물질 없이 발작이 발생한다. 통상적으로, HAE 증상은 처음에 어린이에서 나타나고, 사춘기 동안 악화된다. 대체로, 치료되지 않은 개인은 1주 내지 2주마다 발작을 갖고, 대부분의 삽화는 약 3일 내지 4일 동안 지속한다.

(ghr.nlm.nih.gov/condition/hereditary-angioedema). 발작의 빈도 및 기간은 유전성 혈관 부종을 갖는 사람 중에서, 심지어 동일한 가족의 사람 중에서 매우 변한다.

- [0140] I형, II형 및 III형으로 공지된 3개의 유형의 HAE가 존재하고, 이들 모두는 본 명세서에 기재된 방법에 의해 치료될 수 있다. HAE가 50,000명 중 1명의 사람에게 영향을 미치고, I형이 사례의 약 85%를 차지하며, II형이 사례의 약 15%를 차지하고, III형이 매우 희귀한 것으로 추정된다. I형 또는 II형 HAE를 가지는 환자는 통상적으로 C1-INH가 결핍된다. 이러한 환자는 결합성 C1-INH 유전자를 가지고, 이에 따라 C1-INH를 생성하지 않거나, 비전형적 C1-INH 단백질을 생성한다. III형이 가장 새로 기재된 형태이고, 원래 여성에게만 발생하는 것으로 생각되었지만, 이환된 남성을 갖는 가족이 확인되었다. III형 HAE는 C1-INH와 회합된다고 생각된다. III형 HAE를 가지는 환자는 정상 C1-INH 단백질을 가질 수 있다.
- [0141] HAE는 상염색체 우성 패턴으로 유전되어서, 이환된 사람은 1명의 이환된 부모로부터 돌연변이를 유전 받을 수 있다. 유전자에서의 새로운 돌연변이가 또한 발생할 수 있고, 이에 따라 HAE는 이의 가족에서 장애의 병력을 갖지 않은 사람에서 또한 발생할 수 있다. 사례의 20 내지 25%는 새로운 자발적 돌연변이로부터 생기는 것으로 추정된다.
- [0142] SERPING1 유전자의 돌연변이는 유전성 혈관 부종 I형 및 II형을 발생시킨다. SERPING1 유전자는 염증을 조절하는 데 중요한 C1 저해제 단백질을 만드는 명령을 제공한다. C1 저해제는 염증을 촉진하는 소정의 단백질의 활성을 차단한다. 유전성 혈관 부종 I형을 발생시키는 돌연변이는 혈액 중 C1 저해제의 수치를 감소시킨다. 반대로, II형을 발생시키는 돌연변이는 비정상적으로 작용하는 C1 저해제를 생성시킨다. 적절한 수치의 기능적 C1 저해제 없이는, 과도한 양의 브래디키닌이 생성된다. 브래디키닌은 혈관벽을 통해 신체 조직으로 유체의 누출을 증가시키으로써 염증을 촉진한다. 신체 조직에서의 과도한 유체 축적은 유전성 혈관 부종 I형 및 II형을 갖는 개인에서 보이는 종창의 삽화를 발생시킨다.
- [0143] F12 유전자의 돌연변이는 유전성 혈관 부종 III형의 몇몇 경우와 연관된다. F12 유전자는 응고 XII 인자를 만드는 명령을 제공한다. 혈액 응고(응혈)에서의 중요한 역할 이외에, XII 인자는 또한 염증의 중요한 자극제이고, 브래디키닌의 생성에 관여한다. F12 유전자의 소정의 돌연변이는 활성이 증가한 XII 인자를 생성시킨다. 그 결과, 더 많은 브래디키닌이 생성되고, 혈관벽은 더 누출이 되어, 종창의 삽화를 발생시킨다. 유전성 혈관 부종 III형의 다른 사례의 원인은 공지되지 않은 채 있다. 하나 이상의 아직 확인되지 않은 유전자의 돌연변이는 이 사례에서 장애에 원인이 될 수 있다.
- [0144] HAE는 알레르기 또는 다른 의학 병증으로부터 생긴 혈관 부종의 다른 형태와 유사하게 존재할 수 있지만, 이것은 원인 및 치료에서 상당히 다르다. 유전성 혈관 부종이 알레르기로 오진될 때, 이것은 항히스타민, 스테로이드 및/또는 에피네프린(통상적으로 HAE에서 비효과적이지만, 에피네프린은 삶을 위협하는 반응에 사용될 수 있음)으로 가장 흔히 치료된다. 오진은 또한 복부 종창을 갖는 환자에 대해 불필요한 시험적 수술을 발생시키고, 몇몇 HAE 환자에서 복부 통증은 정신신체증(psychosomatic)으로 부정확하게 진단된다.
- [0145] C1 저해제 치료, 및 HAE에 대한 다른 치료제는 문헌[Kaplan, A.P., J Allergy Clin Immunol, 2010, 126(5):918-925]에 기재되어 있다.
- [0146] HAE 발작의 급성 치료는 가능한 빨리 부종의 진행을 중지시키도록 제공된다. 정맥내 투여되는 공여자 혈액으로부터의 C1 저해제 농축물은 하나의 급성 치료제이지만; 이 치료제는 많은 나라에서 이용 가능하지 않다. C1 저해제 농축물이 이용 가능하지 않은 응급 상황에서, 새로 냉동된 혈장(fresh frozen plasma: FFP)이 또한 C1 저해제를 함유하므로, 이를 대안으로서 사용할 수 있다.
- [0147] 유럽에서 1979년 이후로 인간 혈액으로부터 유래한 정제된 C1 저해제가 사용되었다. 몇몇 C1 저해제 치료제가 미국에서 현재 이용 가능하고, 2종의 C1 저해제 제품이 캐나다에서 현재 이용 가능하다. 급성 발작을 위해 2009년에 식품의약청(F.D.A.)이 살균된 베리네트(Beriner) P(CSL Behring)를 허가하였다. 예방을 위해 2008년에 식품의약청이 나노여과된 신리지(Cinryze)(ViroPharma)를 허가하였다. 루신(Rhucin)(Pharming)은 인간 혈액 매개 병원균으로 인해 감염성 질환 전달의 위험을 보유하지 않는 개발 하에 재조합 C1 저해제이다.
- [0148] 급성 HAE 발작의 치료는 또한 통증 경감을 위한 약제 및/또는 IV 유체를 포함할 수 있다.
- [0149] 다른 치료 양상은 C1 저해제의 합성을 자극하거나 C1 저해제 소비를 감소시킬 수 있다. 안드로겐 약제, 예컨대 다나졸(danazol)은 C1 저해제의 생성을 자극함으로써 발작의 빈도 및 중증도를 감소시킬 수 있다.
- [0150] 헬리코박터 파일로리(helicobacter pylori)는 복부 발작을 촉발할 수 있다. 에이치. 파일로리를 치료하는 항생

제는 복부 발작을 감소시킬 수 있다.

- [0151] 더 새로운 치료는 접촉 캐스케이드를 발작한다. 에칼란타이드(KALBITOR(등록상표), DX-88, Dyax)는 혈장 칼리크레인을 저해하고, 미국에서 승인되었다. 이카티반트(Icatibant)(FIRAZYR(등록상표), Shire)는 브래디키닌 B2 수용체를 저해하고, 유럽 및 미국에서 승인되었다.
- [0152] HAE의 진단은 예를 들어 가족 병력 및/또는 혈액 시험에 의존할 수 있다. HAE I형, II형 및 III형과 연관된 실험실 발견은 예를 들어 문헌[Kaplan, A.P., J Allergy Clin Immunol, 2010, 126(5):918-925]에 기재되어 있다. I형 HAE에서, C4의 수치와 같이 C1 저해제의 수치가 감소하지만, C1q 수치는 정상이다. II형 HAE에서, C1 저해제의 수치는 정상이거나 증가하지만; C1 저해제 기능은 비정상이다. C4 수치는 감소하고, C1q 수치는 정상이다. III형에서, C1 저해제, C4 및 C1q의 수치는 모두 정상일 수 있다.
- [0153] HAE의 증상은, 예를 들어 질의서, 예를 들어 환자, 임상의 또는 가족 구성원이 완료한 질의서를 사용하여 평가될 수 있다. 이러한 질의서는 당해 분야에 공지되어 있고, 예를 들어 육안 아날로그 스케일을 포함한다. 예를 들어, 문헌[McMillan, C.V. et al. Patient. 2012; 5(2):113-26]을 참조한다.
- [0154] 항-PKα1 항체에 의한 HAE의 치료
- [0155] 본 개시내용은 예를 들어 본 명세서에 기재된 투약 스케줄에 따라 HAE를 가지거나 가지는 것으로 의심되는 대상체에게 본 명세서에 기재된 항체(예를 들어, 본 명세서에 기재된 항체의 치료적 유효량)를 투여함으로써 유전성 혈관부종(HAE)을 치료(예를 들어, 하나 이상의 증상을 경감, 안정화 또는 제거)하는 방법을 제공한다. 예를 들어, 본 명세서에 기재된 투약 스케줄에 따라 또는 예를 들어, 본 명세서에 기재된 제2 치료제, 예를 들어 다른 물질과 조합하여 본 명세서에 기재된 항체(예를 들어, 본 명세서에 기재된 항체의 치료적 유효량)를 투여함으로써 HAE를 치료하는 방법이 추가로 제공된다. 본 개시내용은 또한 예를 들어 본 명세서에 기재된 투약 스케줄에 따라 HAE를 발생시킬 위험에 있는 대상체(예를 들어, HAE 또는 이에 대한 유전적 소인을 가지는 가족을 가지는 대상체)에게 본 명세서에 기재된 항체(예를 들어, 본 명세서에 기재된 항체의 예방적 유효량)를 투여함으로써 HAE 또는 이의 증상을 예방하는 방법을 제공한다. 몇몇 예에서, 대상체는 치료의 시간에 HAE 증상을 가지지 않는 인간 환자일 수 있다.
- [0156] 치료하는 것은 장애, 장애의 증상 또는 장애에 대한 소인을 완화하거나 경감시키거나 변경하거나 고치거나 없애거나, 개선하거나 영향을 미치기에 효과적인 양을 투여하는 것을 포함한다. 치료는 또한 질환 또는 병태의 발생을 지연, 예를 들어 발생을 예방하거나 악화를 예방할 수 있다.
- [0157] DX-2930 항체를 투여하는 방법은 "약제학적 조성물"에 또한 기재되어 있다. 사용된 항체의 적합한 투약량은 대상체의 연령 및 체중 및 사용된 특정한 약물에 따라 달라질 수 있다. 항체는 예를 들어 혈장 칼리크레인과 이의 기질(예를 들어, XII 인자 또는 HMWK) 사이의 바람직하지 않은 상호작용을 저해하거나 감소시키는 경쟁 물질로서 사용될 수 있다. 항체의 용량은 환자, 특히 질환의 부위에서 혈장 칼리크레인의 활성의 90%, 95%, 99% 또는 99.9%를 차단하기에 충분한 양일 수 있다. 이것은 예를 들어 2주마다 투여되는 30mg, 100mg, 300mg 또는 400mg을 요할 수 있다.
- [0158] 일 실시형태에서, 항체는 예를 들어 생체내 혈장 칼리크레인의 활성을 저해(예를 들어, 혈장 칼리크레인의 적어도 하나의 활성을 저해, 예를 들어 XIIa 인자 및/또는 브래디키닌 제조를 감소)하도록 사용된다. 결합 단백질은 홀로 사용되거나 물질, 예를 들어 세포독성 약물, 세포독소 효소, 또는 방사성 동위원소에 접합될 수 있다.
- [0159] 항체는 천연 보체 의존적 세포독성(complement-dependent cytotoxicity: CDC) 또는 항체 의존적 세포 세포독성(antibody dependent cellular cytotoxicity: ADCC)을 통해 항원 발현 세포를 제거하도록 생체내 직접적으로 사용될 수 있다. 본 명세서에 기재된 항체는 보체 결합 이펙터 도메인, 예컨대 IgG1, -2, 또는 -3으로부터의 Fc 부분 또는 보체에 결합하는 IgM의 상응하는 부분을 포함할 수 있다. 일 실시형태에서, 표적 세포의 집단은 본 명세서에 기재된 항체 및 적절한 이펙터 세포에 의해 생체의 치료된다. 치료는 보체 또는 보체를 함유하는 혈청의 첨가에 의해 보충될 수 있다. 추가로, 본 명세서에 기재된 항체에 의해 코팅된 표적 세포의 식균작용은 보체 단백질의 결합에 의해 개선될 수 있다. 또 다른 실시형태에서, 보체 결합 이펙터 도메인을 포함하는 항체에 의해 코팅된 표적 세포는 보체에 의해 용해된다.
- [0160] DX-2930 항체를 투여하는 방법은 "약제학적 조성물"에 기재되어 있다. 사용된 분자의 적합한 투약량은 대상체의 연령 및 체중 및 사용된 특정한 약물에 따라 달라질 것이다. 항체는 예를 들어 천연 물질 또는 생리학적 물질과 혈장 칼리크레인과 이의 기질 사이의 바람직하지 않은 상호작용을 저해하거나 감소시키기 위한 경쟁물질로서 사용될 수

있다.

- [0161] 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체의 치료적 유효량은 HAE를 가지거나 가지는 것으로 의심되거나 이의 위험이 있는 대상체에게 투여될 수 있어서, 장애를 치료(예를 들어, 장애의 증상 또는 특징을 경감시키거나 개선하거나, 질환 진행을 느리게 하고/하거나 안정화시키고/시키거나 중지)한다.
- [0162] 본 명세서에 기재된 항체는 치료적 유효량으로 투여될 수 있다. 항체의 치료적 유효량은, 이러한 치료의 부재 하에 예상된 것을 넘는 정도로, 대상체에게 단일 또는 다중 용량 투여 시 대상체를 치료하는, 예를 들어 대상체에서의 장애의 적어도 하나의 증상을 치유하거나 경감시키거나 완화하거나 개선하는 데 효과적인 양이다.
- [0163] 투약량 섭생은 최적의 원하는 반응(예를 들어, 치료적 반응)을 제공하도록 조정될 수 있다. 예를 들어, 단일 볼루스를 투여할 수 있고, 몇몇 분할된 용량을 시간에 걸쳐 투여할 수 있거나, 용량은 치료적 상황의 응급상황에 의해 표시된 바대로 비례하여 감소하거나 증가할 수 있다. 투여의 용이성 및 투약량의 균일성을 위해 단위 제형에서 비경구 조성물을 제제화하는 것이 특히 유리하다. 본 명세서에 사용된 바대로 단위 제형은 치료되는 대상체에 대한 단위 투약량으로서 적합한 물리적으로 별개의 단위를 의미하고; 각각의 단위는 필요한 약제학적 담체와 관련하여 원하는 치료 효과를 생성하도록 계산된 활성 화합물의 미리 결정된 분량을 함유한다.
- [0164] 몇몇 실시형태에서, DX-2930 항체는 다중 용량에 의해, 예컨대 2주마다 1회, 3주마다 1회, 4주마다 1회, 6주마다 1회, 8주마다 1회 또는 덜 빈번하게 투여된다. 각각의 다중 용량은 30mg, 100mg, 150mg, 300mg, 350mg 또는 400mg일 수 있다. 몇몇 경우에, 환자는 적합한 기간 동안 2주마다 1회 다중 용량이 제공될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, DX-2930은 2주마다 300mg 또는 400mg으로 투여될 수 있다. 다른 실시형태에서, DX-2930은 4주마다 300mg 또는 400mg으로 투여될 수 있다. 훨씬 다른 실시형태에서, DX-2930은 4주마다 150mg으로 투여될 수 있다. 본 명세서에 기재된 임의의 방법에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 다중 용량에 대해 DX-2930에 의해 치료된 대상체는 유지 치료가 추적관찰될 수 있다.
- [0165] 본 명세서에 기재된 임의의 방법에서, 대상체는 로딩 기간에 다중 용량에 대해 DX-2930에 의해 치료될 수 있고, 이후 유지 기간이 후행할 수 있다. 로딩 기간에, 대상체는 적합한 기간 동안 2주 내지 4주마다(예를 들어, 2주마다, 3주마다 또는 4주마다) 1회 약 100mg 내지 약 400mg(예를 들어, 100 내지 300mg 또는 150 내지 300mg, 예를 들어 100mg, 150mg, 200mg, 300mg 또는 400mg)으로 DX-2930에 의해 치료될 수 있다. 로딩 기간에, 대상체는 적합한 기간 동안 2주 내지 4주마다(예를 들어, 2주마다, 3주마다 또는 4주마다) 1회 약 100mg 내지 약 300mg(예를 들어, 100 내지 300mg 또는 150 내지 300mg, 예를 들어 100mg, 150mg, 200mg 또는 300mg)으로 DX-2930에 의해 치료될 수 있다.
- [0166] 몇몇 실시형태에서, 환자는 치료 전에 및 후에 또는 치료의 과정 동안 부작용(예를 들어, 크레아티닌 포스포타제 수치의 상승) 및/또는 항체에 의한 pK_a의 저해 수준(예를 들어, 항체의 혈청 또는 혈장 농도 또는 pK_a 활성 수준)에 대해 모니터링될 수 있다. 부작용이 관찰되는 경우, 항체의 용량은 감소하거나 치료는 종료할 수 있다. 저해 수준이 최소 치료적 수준보다 낮은 경우, 항체의 추가의 용량이 환자에게 투여될 수 있다.
- [0167] 몇몇 실시형태에서, 항체(예를 들어, DX-2930)의 혈장 또는 혈청 농도는 치료의 효능을 평가하기 위해 치료의 과정 동안(예를 들어, 초기 투약량 후) 측정될 수 있다. 항체의 혈장 또는 혈청 농도가 약 80nM 미만인 경우, 초기 투약량과 동일하거나 이보다 높을 수 있는 추적관찰 투약량이 필요할 수 있다. 항체의 혈장 또는 혈청 농도는, 예를 들어 면역 검정 또는 MS 검정에 의해, 대상체로부터 얻은 혈장 또는 혈청 샘플에서의 항체의 단백질 수준을 결정함으로써 측정될 수 있다. 항체의 혈장 또는 혈청 농도는 항체에 의해 치료되는 대상체로부터 얻은 혈장 또는 혈청 샘플에서의 pK_a의 저해 수준을 결정함으로써 또한 측정될 수 있다. 이러한 검정은 본 명세서에 기재된 바와 같은 절단된 키나노젠을 측정하기 위해 합성 기질 검정 또는 웨스턴 블롯 검정을 포함할 수 있다.
- [0168] 대안적으로 또는 또한, 크레아티닌 키나제의 혈장 또는 혈청 수준은 치료의 과정 동안 모니터링될 수 있다. 크레아티닌 키나제의 혈장 또는 혈청 수준이 치료 동안 상승하는 것으로 발견된 경우, 항체의 투약량은 감소할 수 있거나, 치료는 종료할 수 있다.
- [0169] 몇몇 실시형태에서, 항체(예를 들어, DX-2930)의 최적 투약량(예를 들어, 최적 예방적 투약량 또는 최적 치료적 투약량)은 하기한 바대로 결정될 수 있다. 항체는 초기 용량에서 치료를 필요로 하는 대상체에게 제공된다. 대상체에서의 항체의 혈장 농도가 측정된다. 혈장 농도가 80nM 미만인 경우, 항체의 용량은 후속하는 투여에서 증가한다. 약 80nM 초과로 항체 혈장 농도를 유지시키는 항체의 투약량은 대상체에 대한 최적 투약량으로서 선택될 수 있다. 대상체의 크레아티닌 포스포키나제 수치는 치료의 과정 동안 모니터링될 수 있고, 그 대상체에 대한 최적 투약량은 크레아티닌 포스포키나제 수치에 기초하여 추가로 조정될 수 있고, 예를 들어 항체의 투약량

은 감소하고, 크레아티닌 포스포키나제의 상승이 치료 동안 관찰된다. 몇몇 실시형태에서, 항체, 예컨대 DX-2930은 절단된 키니노겐의 수치를 건강한 대상체에 필적하는 수치로 감소시키도록 투여된다.

[0170] 몇몇 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 임의의 항체, 예컨대 DX-2930 및 이의 기능성 변이체는 HAE 발작의 병력을 가지는 인간 환자에서 HAE 발작을 예방하거나 HAE 발작률을 감소시키도록 사용될 수 있다. 몇몇 예에서, 인간 환자는 치료 전에 매년 적어도 2건의 HAE 발작을 및 임의로 6개월 내에 적어도 1건을 경험한다. 다른 예에서, 인간 환자는 치료 전에 3개월 내에 적어도 2건의 HAE 발작을 경험한다. 다른 예에서, 인간 환자는 치료 전에 3개월 내에 적어도 9건의 HAE 발작 및 임의로 치료 전에 12개월 내에 적어도 25건의 발작(예를 들어, 36건의 발작)을 가진다.

[0171] **병용 치료**

[0172] 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체(예를 들어, DX-2930)는 혈장 칼리크레인 활성과 연관된 질환 또는 병태, 예를 들어 본 명세서에 기재된 질환 또는 병태를 치료하기 위해 하나 이상의 다른 치료제와 병용되어 투여될 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체(예를 들어, DX-2930)는 수술, 또 다른 항-혈장 칼리크레인 Fab 또는 IgG(예를 들어, 본 명세서에 기재된 또 다른 Fab 또는 IgG), 또 다른 혈장 칼리크레인 저해제, 펩타이드 저해제 또는 소분자 저해제에 의해 치료적으로 또는 예방적으로 사용될 수 있다. 본 명세서에 기재된 혈장 칼리크레인 결합 항체와 병용 치료에서 사용될 수 있는 혈장 칼리크레인 저해제의 예는 예를 들어 WO 제 95/21601호 또는 WO 제 2003/103475호에 기재된 혈장 칼리크레인 저해제를 포함한다.

[0173] 하나 이상의 혈장 칼리크레인 저해제는 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체(예를 들어, DX-2930)와 병용되어 사용될 수 있다. 예를 들어, 병용은 부작용이 감소하도록 필요한 저해제의 용량의 감소를 발생시킬 수 있다.

[0174] 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체(예를 들어, DX-2930)는 HAE를 치료하기 위해 하나 이상의 현재 치료제와 병용되어 투여될 수 있다. 예를 들어, DX-2930 항체는 제2의 항-HAE 치료제, 예컨대 에칼란티드, C1 에스터라제 저해제(예를 들어, CINRYZE(상표명)), 아프로티닌(TRASYLOL(?)), 및/또는 브래디키닌 B2 수용체 저해제(예를 들어, 이카티반트(FIRAZYR(등록상표)))와 동시에 사용될 수 있다.

[0175] 용어 "병용"은 동일한 환자를 치료하기 위한 2개 이상의 물질 또는 치료제의 사용을 의미하고, 물질 또는 치료제의 사용 또는 작용은 시간이 중첩한다. 물질 또는 치료제는 동시에(예를 들어, 환자에게 투여되는 단일 제제로서 또는 함께 투여되는 2개의 별개의 제제로서) 또는 임의의 순서로 순차적으로 투여될 수 있다. 순차적 투여는 상이한 시간에 제공된 투여이다. 하나의 물질과 또 다른 물질의 투여 사이의 시간은 분, 시간, 일 또는 주일 수 있다. 본 명세서에 기재된 혈장 칼리크레인 결합 항체의 사용은, 예를 들어 투여되는 또 다른 물질과 연관된 부작용을 감소시키기 위해, 또 다른 치료제의 투약량을 감소시키도록 또한 사용될 수 있다. 따라서, 병용은 혈장 칼리크레인 결합 항체의 부재 하에 사용되는 것보다 적어도 10, 20, 30, 또는 50% 낮은 투약량으로 제2 물질을 투여하는 것을 포함할 수 있다.

[0176] 병용 치료는 다른 치료의 부작용을 감소시키는 물질을 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 이 물질은 혈장 칼리크레인 연관 질환 치료의 부작용을 감소시키는 물질일 수 있다.

[0177] 추가의 노력 없이, 당해 분야의 당업자는, 상기 설명에 기초하여, 본 발명을 이의 가장 완전한 정도로 이용할 수 있다고 믿는다. 따라서, 하기 구체적인 실시형태는 단지 예시적이고, 무엇이든 임의의 방식으로 본 개시내용의 나머지를 제한하지 않는 것으로 해석되어야 한다. 본 명세서에서 인용된 모든 공보는 본 명세서에 언급된 목적 또는 대상을 위해 참고로 포함된다.

[0178] **실시예**

[0179] **실시예 1: 유전성 혈관부종 대상체에서 DX-2930의 안전성, 관용성 및 약동학을 평가하기 위한 1b상, 이중 맹검, 다중 상승 용량 연구**

[0180] 유전성 혈관부종(HAE) 대상체에서 상이한 용량 수준에서 DX-2930의 다중 피하 투여의 안전성 및 관용성을 평가하도록 1b상 실험을 수행하였다. 연구에 포함된 HAE 환자는 하기 모두에 기초하여 HAE(I형 또는 II형)의 기록된 진단을 가지는 환자를 포함하였다: HAE와 일치하는 기록된 임상 병력(두드러기를 동반하지 않는 피하 또는 점막, 비소양성 종창 삽화), 정상 수치의 40% 미만의 C1 저해제(C1-INH) 항원 또는 기능적 수치(정상 수준의 항원 또는 기능적 C1-INH 수치 40-50%를 가지는 대상체는 정상 범위보다 낮은 C4 수준을 또한 가지는 경우 등록하고, HAE I형 또는 II형과 일치하는 가족 병력), 제1 혈관부종 증상의 보고된 발병 시 30세 이하의 연령 또는 HAE I형 또는 II형과 일치하는 가족 병력, 및 매년 2건 이상의 HAE 발작을 경험(대상체에 의해 기록된 지난 6개

월에 적어도 1건의 발작). 등록한 HAE 환자는 활성 약물 대 위약의 2:1 비율로 무작위화되고, 14일로 분리된 2개의 용량에서 30mg(n = 4), 100mg(n = 4), 300mg(n = 5) 및 400mg(n = 11) 또는 위약(n = 13)으로 DX-2930의 피하 용량이 투여된다. 400mg 그룹에서의 1명의 환자는 오직 하나의 용량을 받았고, 이후 제2 용량에 이용 가능하지 않고 대체되었다. 대체 환자는 또한 연구와 관련되지 않은 이유로 연구를 완료할 수 없어서, 전체 10명의 환자가 400mg 용량을 완료하였고 평가에 포함되었다. 400mg 용량을 받은 그룹에서를 제외하고 혈장을 120일(15주)까지 투여 후 시점에 수집하였고, 여기서 데이터는 50일까지 이용 가능하였다. 분석은 안전성, 약동학, 약물학(바이오마커) 및 효능을 포함하였다. 약물 그룹 및 위약 그룹은 연령, 인종, 민족성 및 BMI의 면에서 묶이지만, DX-2930(67%) 대 위약(54%) 그룹에 여성이 약간 더 많이 존재했다.

[0181] DX-2930의 약동학

[0182] DX-2930(M293-D02)에 대해 항이디오타입 항체를 사용한 검증된 면역검정에 의해 혈장에서 DX-2930 약물 수준을 측정하였다. DX-2930 투여 후의 일자에 대한 각각의 용량 그룹에 대한 평균 혈장 약물 수준의 도면으로부터, 약물 수준이 용량 의존적이고 인간 단일클론 항체에 통상적인 연장된 반감기를 나타낸다는 것이 명확하다. 중요한 약동학 관찰은 표 2 및 도 1에 요약되어 있다. 우선, C_{max} 약물 수준은 예상한 바대로 용량 증가에 따라 증가하였다. 또한, 제2 용량 후 T_{max} 는 약 20일이고, 반감기는 대략 14일이었다. 이 매개변수는 건강한 지원자에서의 1a상 연구에서 얻은 값과 일치하고, 1달 1회 또는 2회 투약을 지지한다.

표 2

약동학적 관찰

용량	$C_{max}(ng/ml)$	$T_{max}(일)$	$t_{1/2}(일)$
30mg	3895.0(2159.8)	17.9(1.1)	14.2(0.8)
100mg	7890.0(2058.4)	18.0(0.5)	14.6(3.4)
300mg	27460.0(14542.5)	18.2(1.5)	13.8(3.3)
400mg	45322.2(8704.6)	17.7(1.0)	15.0(2.4)

[0183]

[0184] 제시된 값은 평가된 환자에 대한 평균 값이고, 표준 편차는 괄호에 있다.

[0185] DX-2930의 약물학적 활성: 형광원성 활성 검정

[0186] 2개의 상이한 바이오마커 검정을 이용하여 HAE 환자 혈장에서의 DX-2930의 약물학적(PD) 활성을 조사하였다. 제 1 PD 검정은 형광원성 활성 검정이라 불리고, 이것은, DX-2930의 약동학 특성을 결정하기 위해 사용되는 것처럼, 투약 후 동일한 시점에 치료된 환자로부터 얻어진 시트르화 혈장에서 DX-2930의 바이오활성의 측정치를 제공한다. 이 검정은 접촉 경로의 활성화 후 희석된 혈장에서 생성된 활성 혈장 칼리크레인의 양을 측정하였다. 구체적으로, 희석 혈장을 접촉 경로의 효소 캐스케이드를 전파시키는 XIIa 활성 인자(FXIIa)에 의해 스파이킹하고, 2분 후 FXIIa 저해제인 콘 트립신(Corn Trypsin) 저해제를 첨가하여 반응을 중지시키고, 형광성촉진 합성 펩타이드 기질을 가수분해하는 이의 능력에 의해 샘플에 존재하는 활성 혈장 칼리크레인의 양을 측정하였다. 치료된 건강한 지원자(1a상 연구) 또는 HAE 환자(1b상 연구)의 혈장에서의 DX-2930의 증가 수준의 존재는 관찰된 혈장 칼리크레인 효소 속도의 용량 의존적 감소와 연관된다(도 2). 각각의 환자에 대해 사전용량 샘플에서 혈장 칼리크레인 활성의 양에 대해 각각의 시점에 관찰된 저해의 백분율을 계산하였다. 도 2에서 관찰된 바이오활성은 도 1에서 DX-2930의 약동학 특성과 매우 상관되었다. 투약 후 300mg 및 400mg 용량에서 현저한 저해가 관찰되었다. 중간 저해는 100mg 용량에서 관찰되었고, 30mg 용량에서 명확한 저해가 입증되지 않았다.

[0187] DX-2930의 약물학적 활성: 웨스턴 블롯 검정

[0188] HAE 환자는 혈장 칼리크레인의 내인성 저해제인 C1-저해제가 결핍된다. 그 결과, 이 환자는 상승한 활성 혈장 칼리크레인을 가지고, 이것은 이의 1-사슬 고분자량 키노젠 기질을 2-사슬 및 브래디키닌(HAE에서의 통증 및 부종의 중요한 매개자)으로 전환시킨다. DX-2930은 2-사슬 및 브래디키닌 생성을 차단하는 활성 혈장 칼리크레인의 매우 강력한 저해제이다.

- [0189] 웨스틴 블롯 검정은 상이한 혈장 항응고제 및 치료 조건에서 혈장에서 1-사슬 및 2-사슬 높은 분자량 키니노겐의 상대 양을 측정하기 위해 개발되었다. 도 3은 프로테아제 저해제의 존재 하에 수집된 HAE 환자 혈장(SCAT169 혈장)에서 관찰된 2-사슬(%)을 보여준다. SCAT169 혈장의 존재는 접촉 시스템의 활성화 및 혈액 수집 및 혈장으로의 처리 동안 발생할 수 있는 후속하는 2-사슬 생성을 예방하였다. 그러므로, 2-사슬의 이 수준은 1b상 실험에서의 HAE 환자(27%)에서 및 건강한 지원자(12%)에서 내인성 수준의 것과 가깝게 일치하는 것으로 예상되었다. DX-2930 치료된 HAE 환자는 투약 후 8일 또는 22일에 수집된 샘플에서 측정된 바대로 더 낮은 2-사슬 수준을 나타냈다.
- [0190] 도 4에서, 1b상 실험에서 HAE 환자로부터 얻은 사전용량 시트르화 혈장은 대략 52% 2-사슬을 함유하였다. 반대로, 1a상 연구에서 얻은 건강한 지원자로부터의 시트르화 혈장 샘플은 대략 8%의 2-사슬을 함유하였다. 8일 및 22일에 수집된 1b상 대상체의 혈장에서의 평균 2-사슬 수준은 또한 조사되었고, 도 4에 도시되어 있다. 사전용량 수준에 대한 300mg 및 400mg 용량 그룹에서의 2-사슬 수준의 통계학적으로 유의미한 감소는 DX-2930의 약물학적 활성을 입증하였다.
- [0191] 도 5는 DX-2930 투약된 HAE 환자로부터의 시트르화 혈장이 응고 인자 XIIa(FXIIa)에 의한 생체의 활성화 후 더 적은 2-사슬을 나타낸다는 것을 보여준다. 300mg 및 400mg 용량 그룹은 건강한 지원자에서 관찰된 것 아래의 수준으로 2-사슬의 양을 감소시켰다. 이 생체의 활성화는 중증 HAE 발작의 시험관내 모델로 생각될 수 있다.
- [0192] 이 PD 바이오마커 검정의 둘 다는 300mg 및 400mg 용량 그룹에서 얻어진 약물 수준을 달성하는 용량 선택을 지지하였다.
- [0193] 안전성
- [0194] 부작용의 요약은 하기 표 3에 기재되어 있다. DX-2930의 안전성 문제를 나타낸, 치료 응급 부작용(treatment emergent adverse event: TEAE)의 불균형이 없었다. 대부분의 흔한 AE는 HAE 발작, 주사 부위 통증 및 두통이었다. 3개의 중증 TEAE(1분 지속하는 주사 부위 통증, 1분 지속하는 악화하는 두통 및 도한)가 있었다. 기준치, 활력 징후 또는 신체 검사로부터의 임상 실험실 비정상 또는 변화, 또는 심전도(ECG)에서의 비정상 또는 변화에 대해 안전성 신호가 확인되지 않았다. 이 결과는 DX-2930이 400mg까지의 용량에서 HAE 환자에서 매우 관용성으로 보인다는 것을 제안한다.

표 3

치료 부작용의 요약

	DX-2930 30mg (N = 4)	DX-2930 100mg (N = 4)	DX-2930 300mg (N = 5)	DX-2930 400mg (N = 11)	모든 DX- 2930 치료된 (N = 24)	위약 (N = 13)
TEAE*	1	3	2	8	14(58%)	10(77%)
사망 또는 대상체 중단	0	0	0	0	0	0
중증 부작용	0	0	0	0	0	1(8%)
중증 TEAE	1	0	2	2	5(21%)	5(39%)
관련 TEAE**	1	2	0	4	7(29%)	5(39%)

* TEAE: 치료 응급 부작용. AE는, 발생 시간이 120일의 투약 후 최종 추적관찰 방문에 걸쳐 연구 약물의 투여 후인 경우, 치료 응급이거나 또는, 발생 시간이 연구 약물 투여에 선행하는 경우에, 120일의 투약 후 추적관찰 기간 동안, 중증도의 AE 증가이다. ** 치료 관련 AE: 연구 약물에 대한 AE의 관련성은 맹검인 조사자에 의해 평가되었다.

- [0195]
- [0196] 면역원성
- [0197] 5명의 환자는 항-약물 항체 양성(5명 중 2명은 간헐적인, 변동하는 결과를 가짐)이었다. 그러나, 양성 샘플이 중화되지 않았고, 과민성의 임상 증거가 없었고, 약동학 또는 바이오마커에 대한 명확한 효과가 없었다.

[0198] 효능 평가

[0199] 위약과 비교하여, DX-2930의 300mg 및 400mg 용량에 집중한, 전향적 일차적 효능 분석을 개별적으로 및 조합하여 수행하였다. 1a상으로부터의 PK 모델링이 이 시간 간격 동안 주목할만한 약물 노출을 제시하므로, 6주 일차적 평가 기간(8일 내지 50일)을 이용하였다(도 6a 및 도 6b). 일차적 분석은 지난 3개월에 적어도 2건의 발작의 최소 기준 병력을 가지는 대상체에 집중하였다. 최소를 만족시킨 대상체의 대부분은 지난 3개월에 적어도 2건의 발작의 기준 병력을 요했다. 13명의 위약 대상체 중에, 11명이 이 요건을 충족시켰다. 300mg 또는 400mg DX-2930에 의해 치료된 16명의 대상체 중에, 15명이 이 요건을 충족시켰다. 위약, 300mg 및 400mg 그룹에서의 기준 HAE 발작률은 각각 주마다 0.39건, 0.33건 및 0.55건의 발작이었다. 조합된 300mg 및 400mg 그룹에서의 기준 발작률은 주마다 0.49건의 발작이었다.

[0200] 일차적 접근은 치료 의향(intent-to-treat: ITT) 분석이었다. 공변량으로서 기준 발작률을 이용하여 공변량의 분석(ANOVA)에 의해, 반복 측정의 모델을 이용하였다. 관독은 위약 발작률과 비교하여 DX-2930에 의한 HAE 발작의 감소의 백분율로서 표시되고, p 값을 계산하였다.

[0201] 효능 평가의 결과는 표 4 및 표 5 및 도 7에 기재되어 있고, 둘 다, 위약과 비교하여, 개별적으로 및 조합되어, DX-2930의 300mg 및 400mg 용량에 의한 HAE 발작률의 감소를 나타낸다. 특히, 300mg 또는 400mg에 의해 치료된 15명 중 13명의 DX-2930 대상체는 연구 동안 발작이 없었지만, 위약 그룹의 경우, 11명 중 불과 3명의 대상체는 발작이 없었다.

표 4

8일 내지 50일에 HAE 발작률의 감소

	DX-2930 300mg (N = 4)	DX-2930 400mg (N = 11)	DX-2930 조합된 300 및 400mg (N = 15)
위약에 대한 감소(%)	100	88	91
위약에 대한 P-값*	<0.0001	0.005	0.0012

주의: 마지막 3개월에서의 적어도 2건의 발작의 기준 발작률을 가지는 대상체만이 포함된다.

* 공변량의 분석에 의하고 Poisson 분포를 가정한, 혼합 모델 반복된 측정(공변량으로서 기준 발작 빈도).

[0202]

표 5

발작이 없는 대상체의 비율

	DX-2930 300mg (N = 4)	DX-2930 400mg (N = 11)	DX-2930 조합된 300 및 400mg (N = 15)	위약 (N = 11)
발작이 없는 대상체 (8일 내지 50일)	4/4(100%) p = 0.026	9/11(82%) p = 0.030	13/15(87%) p = 0.004	3/11(27%)

[0203]

[0204] 위약 대상체 중에, 일차적 효능 평가 기간 동안 전체 24건의 발작이 있었다. 이들 24건의 발작 중에서, 일차적 발작 위치는 이들 중 13건에서 복부이고 1건에서 후두였다. 발작 중 10건은 심각하고, 6건은 보통이었다. 24건 중 22건의 발작에서 발작에 대한 급성 치료를 받았다.

[0205] 300mg 또는 400mg DX-2930에 의해 치료된 대상체 중에, 400mg에 의해 치료된 1명의 대상체는 단일 HAE 발작을 가졌다. 이 발작은 말초이고, 온화하며, 8시간 지속되었고, 임의의 급성 치료를 요하기 않았다. 발작을 겪은 다른 400mg DX-2930 치료된 대상체는 2건의 말초 발작을 가졌다. 1건의 발작은 보통이고 다른 것은 심각하였고; 발작 둘 다는 급성 치료에 의해 치료되었다. HAE 발작의 특징의 요약은 표 6에 기재되어 있다.

표 6

HAE 발작의 특징(8일 내지 50일)

	DX-2930 300mg (N = 4)	DX-2930 400mg (N = 11)	위약 (N = 11)
발작	0	3	24
일차적 발작 위치			
말초	0	3	10
복부	0	0	13
후두	0	0	1
발작 중증도			
경증	0	1	8
중등도	0	1	6
중증	0	1	10
치료를 요하는 급성 발작	0	2	22

[0206]

[0207]

다음에, 변형된 치료 의향(mITT) 사후 분석을 수행하였다. 2명의 대상체(2 투여를 받지 않은 1명의 대상체 및 HAE 1형 또는 2형을 가지지 않는 1명의 대상체)가 배제된다는 것을 제외하고는, ITT 집단을 사용하였다. 변형 분석의 결과는 표 7에 기재되어 있다. 이 변형된 치료 의향 분석에서, 위약과 비교하여 8일 내지 50일에, 300mg DX-2930 그룹은 0.0001 미만의 p 값으로 100%의 발작의 감소를 가졌다. 400mg DX-2930 그룹은 0.0022의 p 값으로 95%의 발작의 감소를 가졌다. 조합된 300mg 및 400mg DX-2930 그룹은 0.0007의 p 값으로 97%의 HAE 발작의 감소를 가졌다.

표 7

일차적 효능 분석(8일 내지 50일)(변형된 치료 의향 분석)

	DX-2930 300mg (N = 4)	DX-2930 400mg (N = 9)	DX-2930 조합된 300 및 400mg (N = 13)
위약에 대한 감소(%)	100	95	97
위약에 대한 P-값*	<0.0001	0.0022	0.0007

주의: 마지막 3개월에서의 적어도 2건의 발작의 기준 발작률을 가지는 대상체만이 포함된다. MITT 집단은 I형 또는 II형 HAE가 없는 1명의 대상체 및 DX-2930의 오직 1개의 투여를 받은 1명의 대상체인 2명의 대상체를 배제한다.

* 공변량의 분석에 의하고 Poisson 분포를 가정한, 혼합 모델 반복된 측정(공변량으로서 기준 발작 빈도).

[0208]

[0209]

시간에 따른 약물 노출과 관련된 HAE 발작의 발병률을 또한 평가하였다. 이론에 구속되고자 바라지 않으면서, 가설은 더 높은 약물 수준이 HAE 발작의 예방과 상관되어야 한다는 것이고, 이것은 (a) 투약 전에 및 투약 후 수일에, 발작이 관찰되어야 하고, (b) 약물 수준이 축적되면서, 발작이 드물어지거나 심지어 부재해야 하고, (c) 약물 수준이 감소하면서, 발작이 재출현해야 한다는 것을 의미한다. 이 평가의 결과는 도 8-13에 도시되어 있다.

[0210]

위약 그룹에서, 발작의 높은 발병률이 명확하다(도 8). 이 사건은 임의의 특정한 패턴 없이 연구의 전체 기간에

걸쳐 분포하였다.

- [0211] 30mg 및 100mg DX-2930 그룹에서, 8일 내지 50일에 발작이 발생하지 않았다(도 9 및 도 10). 그러나, 이 그룹에 대한 기준 발작률은 비교적 더 낮고, 30mg 그룹에 대한 약물학적 효과는 위약에 대한 것과 눈에 띄게 다르지 않았다. 300mg DX-2930 그룹에서, 투약 전에 발작이 발생했다. 약물 수준이 상승하면서, 대상체는 발작이 없어지고, 약물 수준이 감소하면서, 발작이 재출현하였다(도 11). 400mg DX-2930 그룹에서 유사한 패턴이 또한 관찰되었다(도 12). 발작 발생률은 주목할만한 약물 노출의 기간 동안, 특히 8일 내지 50일 시간 간격 내에 실질적으로 감소했다. 약물 축적 전에 또는 약물 수준이 감소하면서, 더 낮은 약물 노출의 시간 동안 발생한 발작에 의해 이 기간은 분류되었다. 이 결과는 HAE 발작의 예방과 DX-2930 약물 노출 사이에 명확한 연관성이 있다는 것을 보여준다.
- [0212] DX-2930의 효능을 추가로 평가하기 위해, 높은 기준 발작률을 가지는 HAE 환자에서 또한 관찰된 DX-2930의 치료 효과를 조사하였다. 투약 전에 과거 3개월에 적어도 9건의 발작을 가지는 대상체를 확인하고 평가하였다. 이러한 대상체는 6명이 있고, 1명은 위약으로 치료되고, 1명은 300mg DX-2930으로 치료되고, 4명은 400mg DX-2930으로 치료되었다.
- [0213] 위약 대상체에서, 관찰 기간에 걸쳐 높은 발작률이 발생했다(도 13, 패널 A). 반대로, 약물 수준이 높을 때 300mg DX-2930에 의해 치료된 대상체는 발작이 없었다(도 13, 패널 B).
- [0214] 400mg DX-2930에 의해 치료된 높은 기준 발작률을 가지는 4명의 대상체에서, 이들 대상체 중 모든 4명은 8일 내지 50일 시간 간격 동안 발작이 없었다(도 13, 패널 C-F). 이것은 과거 3개월에 36건의 매우 높은 기준 발작률을 가지는 1명의 대상체를 포함하였다. 이 DX-2930 치료된 대상체에서의 발작의 패턴은 300mg 및 400mg 그룹 전체에서 관찰된 것과 일치하였다. 이들 개인은 약물 수준이 높을 때 임의의 발작을 경험하지 않았다. 의미 있는 약물 축적 전에 또는 약물 수준이 감소한 후, 약물 수준이 낮을 때 발작이 오직 발생했다.
- [0215] 이들 데이터로부터, DX-2930의 치료 효과가 또한 높은 기준 발작률로 HAE 환자에서 명확하다는 것이 관찰되었다.
- [0216] 요약하면, 이 연구는 (a) DX-2930에 대한 명확한 안전성 신호가 없고, (b) PK 프로필이 전체적으로 단일클론 항체와 일치하고, 2주마다 1회의 또는 심지어 덜 빈번한 투약의 섭생을 지지하고, (c) 약물학적 데이터는 DX-2930이 적어도 키니노젠 바이오마커 검정의 맥락에서 HAE 혈장의 비정상 불안정성을 정상화한다는 것을 입증하고, (d) DX-2930에 의한 HAE 발작 예방의 매우 통계학적으로 유의미한 발견이 관찰된다는 것을 보여준다. 구체적으로, 위약과 비교하여, 각각 300mg 및 400mg DX-2930 치료 그룹에 의해 100% 및 88%의 발작의 감소가 있었다. 이 임상 효과는 시간에 따라 약물 노출과 논리적으로 연관되고, 높은 기준 발작률로 환자의 하위집단에서 또한 관찰되었다.
- [0217] 이 데이터는 HAE 발작에 대한 장기간 예방책에서의 DX-2930에 대한 개념 증명을 입증한다.
- [0218] **실시예 2: 유전성 혈관부종 환자에서 혈장 칼리크레인에 대한 DX-2930의 약물학적 효과**
- [0219] 유전성 혈관부종(HAE)의 발작은 혈장 칼리크레인(pK₁)의 폭발을 생성하는 비제어 접촉 시스템 활성화로부터 생기고, 이것은 고분자량 키니노젠(HMWK)을 절단시켜 2-사슬 HMWK 및 브래디키닌인 부종 유도 펩타이드를 생성시킨다. DX-2930은 HAE 발작의 예방을 위한 전개에서 pK₁의 인간 단일클론 항체 저해제이다. HAE를 가지는 대상체에서 DX-2930의 약물학적 바이오활성을 평가하였다.
- [0220] 상기 실시예 1에 기재된 바대로, 1형 또는 2형 HAE를 가지는, 1b상 다기관, 이중 맹검 연구, 무작위화 대상체는 30mg, 100mg, 300mg 또는 400mg의 용량 그룹(n = 4, 4, 5, 11) 또는 위약(n=13)에서 DX-2930의 2개의 피하 용량을 받았다. 연구 약물의 투여 전 및 후(1일, 8일, 22일, 64일, 92일, 120일)에 혈액 샘플을 얻었다. 2-사슬 HMWK에 대해 웨스턴 블롯을 이용하여 기준 및 FXIIA-활성화 시트르화 혈장에서 pK₁을 저해하는 DX-2930의 능력을 평가하였다.
- [0221] 이 연구로부터 얻은 결과는 위약 치료된 대상체와 비교할 때, 평균 2-사슬 HMWK 수준은 유의미하게 감소하고 각각 8일 및 22일에, 및 8일, 22일 및 50일에 300mg 및 400mg 용량 그룹에서 본질적으로 정상화된다는 것을 보여준다. 300mg 또는 400mg DX-2930에 의한 치료는, FXIIA-활성화 샘플에서 건강한 개인에서 관찰된 것과 같거나 낮은 수준으로, 2-사슬 생성의 폭발을 또한 약화시켰다. 2-사슬 HMWK의 수준은, 낮은 약물 노출의 기간에 상응하는, DX-2930 후 64일, 92일 또는 120일에 수집된 활성화 또는 불활성화 샘플에서 사전용량 혈장 샘플과 다르지 않았다.

- [0222] 요약하면, 이 연구는 DX-2930이 HAE 환자에서 용량 및 시간 의존적 방식으로 pK_a를 저해한다는 것을 나타낸다.
- [0223] **실시예 3: 유전성 혈관부종을 가지는 대상체에서 DX-2930의 1b상 연구에서 관찰된 임상 반응과 약물 노출 사이의 관계**
- [0224] DX-2930은 유전성 혈관부종(HAE) 발작의 예방을 위한 전개에서의 혈장 칼리크레인의 인간 단일클론 항체 저해제이다. 상기 실시예 1에 기재된 바대로 HAE 대상체에서의 DX-2930의 1b상 연구로부터의 데이터를 분석하여 약물 노출과 임상 반응 사이의 관계를 규명하였다.
- [0225] 1형 또는 2형 HAE를 가지는, 이 1b상 다기관, 이중 맹검 연구, 무작위화 대상체는 30mg, 100mg, 300mg 또는 400mg의 용량 그룹(n = 4, 4, 5, 11) 또는 위약(n = 13)에서 DX-2930의 2개의 피하 용량을 받았다. 이 사후 분석에서, HAE 발작의 발병률을 시간에 따른 약물 노출과 관련하여 평가하였다. 또한, 사후 변형된 치료 의향 효능 분석(MITT)을 수행하여 DX-2930의 완전 용량 섭생을 받는 대상체의 맥락에서 임상 효과를 평가하였다.
- [0226] 위약 치료된 대상체는 연구에 걸쳐 HAE 발작을 보고하였다(9명의 대상체, 65건의 HAE 발작). 300mg 및 400mg 용량 그룹에서, 초기 투약 전에 또는 바로 후에 HAE 발작이 보고되었다. 약물 수준이 높을 때(8일 내지 50일), 1명을 제외한 모든 대상체가 발작이 없었다. 약물 수치가 줄어들면서, 발작이 재출현하였다. MITT 효능 분석에서, 위약과 비교하여 8일 내지 50일에, 300mg 및 400mg DX-2930 그룹은 각각 100%(P < 0.0001) 및 95%(P = 0.0022)의 발작 감소를 가졌다.
- [0227] 따라서, 이 연구는 HAE 발작이 상당한 약물 노출의 기간 동안 실질적으로 감소하거나 제거된다는 것을 나타내어, 더 높은 약물 수준이 HAE 발작 예방과 상관되어야 한다는 제안과 일치한다.
- [0228] **실시예 4: 유전성 혈관부종의 장기간 예방책에 대한 DX-2930의 잠재적 투약 섭생을 확인하기 위한 잠재적 투약 섭생**
- [0229] DX-2930은 유전성 혈관부종(HAE) 발작의 예방에 대한 전개에서 혈장 칼리크레인의 인간 단일클론 항체 저해제이다. 상기 실시예 1에 기재된 바와 같은 DX-2930의 1상 연구로부터의 데이터를 모델링하고 분석하여 잠재적 투약 섭생을 확인하였다.
- [0230] 1상 임상 연구로부터의 약동학적, 약물학적 및 효능 데이터를 조사하였다. HAE 발작의 발병률을 혈장 약물 농도와 관련하여 평가하여 발작을 예방하는 데 필요한 정상 상태 트로프 약물 수준을 예상하였다.
- [0231] 2주마다(q2) 또는 4주마다(q4)의 300mg DX-2930, 및 150mg q4주의 투약 섭생은 중추적 효능 연구에 고려된다. 약동학 모델링은 각각 27,000, 9,500 및 4,750ng/mL의 정상 상태 트로프 혈장 농도를 예측한다. 1b상 연구에서, 27,000ng/mL(300mg DX-2930에 대해 22일에 근사 약물 수준에 상응)에서, 2-사슬 고분자량 키니노겐은 건강한 대상체에서 관찰된 것에 근사한 수준으로 억제되었다. 300mg q2는 따라서 정상 상태에서 HAE 혈장의 불안정성을 정상화시키는 것으로 예측된다. 성공적인 HAE 예방책이 이러한 높은 수준의 약물학적 효과를 요구하지 않을 수 있으므로, 혈장 약물 농도에 관한 임상 효과의 분석을 또한 수행하였다. DX-2930 치료 후 1b상 연구에서, 24/25 발작(96%), 21/25 발작(84%) 및 18/25 발작(72%)이 각각 27,000, 9,500 및 4,750ng/mL의 혈장 농도 아래에서 발생하여서, 임상 반응의 의미 있는 범위가 약물 노출의 이 범위와 연관된다는 것을 제안한다.
- [0232] 이 분석에서, DX-2930의 가능한 투약 섭생은 중추적 효능 연구에서 추가의 임상 조사에 대해 확인되었다.
- [0233] **실시예 5: 유전성 혈관부종은 건강 분석 클레임 데이터베이스의 분석에서 신경병증성 통증, 전신 홍반성 루푸스 및 전신 비만세포증과 연관된다**
- [0234] 혈장 칼리크레인 키닌 시스템(kallikrein kinin system: KKS)은 유전성 혈관부종(HAE)의 중요한 매개자인 것 이외에 다양한 질환과 연관된다. 이 연구에서 HAE 환자가 이러한 KKS 연관 질환을 발생시키는 성향이 있는지에 대해 조사되었다: 복부 대동맥류, 아나필락시스, 심장 혈관마비 증후군, 크론병, 당뇨병성 황반부종, 특발성 아나필락시스, 신경병증성 통증, 건선, 건선성 관절염, 망막병증, 류마티스성 관절염, 전신 홍반성 낭창(SLE), 시스템 비만세포증, 전신 혈관염, 혈전성 내혈관 사고 및 케양성 대장염.
- [0235] 1/2010 내지 7/2014의 미국에서의 8000만 명의 삶에 대한 의학 지급인 및 Medicare 보충 계획으로부터의 개별 수준 클레임 데이터(individual-level claims data)를 함유하는 Truven MarketScan 데이터베이스를 이 연구에 이용하였다. 이 데이터세트 내에, HAE 집단(n = 1063) 및 2개의 대조군 집단: 혈관부종 집단(n = 138,851) 및 HAE 환자를 배제한 일반 집단(n = 79,971,098)은 ICD-9 및 처방 약물 코드의 조합을 이용하여 한정되었다. 동시 이환 질환에 대한 클레임이 확인되었고, 계산된 승산비 및 95% 신뢰도 간격(CI)을 가지는 집단에 걸쳐 비교되었

다.

[0236]

하기 표 8에 기재된 바대로, HAE 집단에서, 혈관부종 대조군보다 SLE는 2.3배(OR 2.30, 95% CI: 1.47-3.59) 더 자주 관찰되었다. 혈관부종 대조군보다 신경병증성 통증은 1.45배(OR 1.45, 95% CI: 1.01-2.09) 및 전신 비만세포증은 4.79배(OR 4.79, 95% CI: 1.51-15.18) 더 자주 관찰되었다.

표 8

HAE와 다른 KSS 연관 질환 사이의 연관

연관된 질환	HAE 집단		혈관부종 대조군		승산비 (95% CI)
	N=1063	%	N=138,851	%	
복부 대동맥류(AAA)	6	0.56	583	0.42	1.35(0.60, 3.02)
아나필락시스	86	8.09	15,293	11.01	0.72(0.57, 0.89)
심장 혈관마비 증후군	2	0.19	88	0.06	2.97(0.73, 12.09)
크론병	6	0.56	848	0.61	0.92(0.41, 2.07)
당뇨병성 황반부종	2	0.19	140	0.10	1.87(0.46, 7.55)
특발성 아나필락시스	59	5.55	8,442	6.08	0.91(0.70, 1.18)
신경병증성 통증	30	2.82	2,726	1.96	1.45(1.01, 2.09)
건선	14	1.32	2,182	1.57	0.84(0.49, 1.42)
건선성 관절염	4	0.38	382	0.28	1.37(0.51, 3.67)
망막병증	2	0.19	85	0.06	3.08(0.76, 12.52)
류마티스성 관절염	30	2.82	3,093	2.23	1.27(0.89, 1.84)
전신 홍반성 낭창	20	1.88	1,148	0.83	2.30(1.47, 3.59)
시스템 비만세포증	3	0.28	82	0.06	4.79(1.51, 15.18)
전신 혈관염	2	0.19	189	0.14	1.38(0.34, 5.58)
혈전성 내혈관 사고 및 (CVA)	2	0.19	375	0.27	0.70(0.17, 2.80)
케양성 대장염	9	0.85	902	0.65	1.31(0.68, 2.53)

[0237]

[0238]

요약하면, 대형 장기적 클레임 데이터베이스의 분석은 SLE, 신경병증성 통증 및 전신 비만세포증의 동시이환 질환이 혈관부종의 다른 유형보다 HAE 환자에서 더 높은 표시를 가진다는 것을 밝혀서, KKS의 활성이 이 질환의 표출에 기여할 수 있다는 것을 제안한다. 따라서, HAE를 가지거나 이의 위험이 있는 환자는 KKS 연관 질환, 예컨대 신경병증성 통증, 전신 홍반성 낭창 및 전신 비만세포증의 경향이 있을 수 있다. 따라서, pKa1 저해제, 예컨대 DX-2930에 의한 치료는 이러한 KKS 연관 질환의 전개에 대한 위험을 감소시킬 수 있다.

[0239]

실시예 6: 로드 기간 및 유지 기간을 포함하는 이중 맹검 연구

[0240]

무작위화, 이중 맹검, 위약 제어, 평행 암 연구를 수행하였다. 4주마다 적어도 1건의 발작을 가지는 HAE I형 또는 II 환자를 가지는 환자를 선택하였다. 기준 HAE 발작률을 평가하도록 런인(run-in) 기간을 이용하였다. 환자를 피하 주사로 투여된 3개의 상이한 치료 암(300mg DX-2930, 150mg DX-2930 또는 위약)으로 1:1:1 무작위화로 처리하였다. 연구를 로드 기간 및 유지 기간에 의해 설계하였다(도 14). 대상체를 로딩 기간 동안 0일, 7일 및 14일에 치료하고, 유지 기간 동안 2주마다(28일, 42일, 56일, 70일 및 84일) 투약하였다.

[0241]

다른 실시형태

[0242]

본 명세서에 개시된 모든 특징은 임의의 조합으로 조합될 수 있다. 본 명세서에 개시된 각각의 특징은 대안적인 특징에 의해 대체되어 동일한, 동등한 또는 유사한 목적을 제공할 수 있다. 따라서, 달리 명확히 기재되지 않은 한, 개시된 각각의 특징은 오직 동등한 또는 유사한 특징의 총체적 시리즈의 예이다.

[0243]

상기 설명으로부터, 당해 분야의 당업자는 본 발명의 필수적인 특징을 쉽게 확신할 수 있고, 이의 정신 및 범위를 벗어남이 없이, 본 발명의 다양한 변화 및 변형을 다양한 용법 및 조건에 적용하도록 이것을 만들 수 있다.

따라서, 다른 실시형태가 또한 청구범위 내에 있다.

[0244]

균등물

[0245]

몇몇의 본 발명 실시형태가 본 명세서에서 기재되고 예시되어 있지만, 당해 분야의 당업자는 기능을 수행하고/하거나, 본 명세서에 기재된 이점 중 하나 이상 및/또는 결과를 얻기 위해 다양한 다른 수단 및/또는 구조를 용이하게 고안할 것이고, 이러한 변경 및/또는 변형의 각각은 본 명세서에 기재된 본 발명 실시형태의 범위 내에 있는 것으로 간주된다. 더 일반적으로, 당해 분야의 당업자는, 본 명세서에 기재된 모든 매개변수, 치수, 재료 및 구성이 예시적인 것으로 의도되고, 실제 매개변수, 치수, 재료 및/또는 구성이 본 발명 교시내용이 사용되는 특정한 출원 또는 출원들에 의존할 것이라는 것을 용이하게 이해할 것이다. 당해 분야의 당업자는, 단지 일상적 실험을 이용하여, 본 명세서에 기재된 특정한 본 발명 실시형태에 대한 많은 균등물을 인식하거나, 확신할 수 있을 것이다. 따라서, 상기 실시형태가 오직 예로서 제시되고, 첨부된 청구범위 및 이의 균등물의 범위 내에, 본 발명 실시형태가 구체적으로 기재되고 청구된 것과 달리 실행될 수 있는 것으로 이해되어야 한다. 본 개시내용의 본 발명 실시형태는 본 명세서에 기재된 각각의 개별적인 특징, 시스템, 물품, 재료, 키트 및/또는 방법에 관한 것이다. 또한, 2개 이상의 이러한 특징, 시스템, 물품, 재료, 키트 및/또는 방법의 임의의 조합은, 이러한 특징, 시스템, 물품, 재료, 키트 및/또는 방법이 서로 불일치하지 않는 경우, 본 개시내용의 본 발명 범위 내에 포함된다.

[0246]

모든 정의는, 본 명세서에서 정의되고 사용되는 바대로, 사전적 정의에 비해 지배적인 것으로 이해되어야 하고, 문헌 내의 정의는 참조문헌 및/또는 정의된 용어의 일반 의미로 포함된다.

[0247]

본 명세서 및 청구범위에서 단수 표현은, 명확히 반대로 표시되지 않는 한, "적어도 하나"를 의미하는 것으로 이해되어야 한다.

[0248]

구절 "및/또는"은, 본 명세서 및 청구범위에서 본 명세서에서 사용되는 바대로, 이렇게 결합된 구성요소의 "어느 하나 또는 둘 다"를 의미하는 것으로 이해되어야 하고, 즉 구성요소는 몇몇 경우에 공동으로 존재하고 다른 경우에 분리적으로 존재한다. "및/또는"과 함께 기재된 다수의 구성요소는 동일한 방식으로, 즉 이렇게 결합된 구성요소의 "하나 이상"으로 해석되어야 한다. 다른 구성요소는, 구체적으로 확인된 이 구성요소와 관련되든 또는 관련되지 않든, "및/또는" 절에 의해 구체적으로 확인된 구성요소 이외에 임의로 존재할 수 있다. 따라서, 비제한적인 예로서, "A 및/또는 B"의 언급은, "포함하는"과 같은 개방 말단 언어와 함께 사용될 때, 일 실시형태에서, A 단독(B 이외의 구성요소를 임의로 포함); 또 다른 실시형태에서, B 단독(A 이외의 구성요소를 임의로 포함); 훨씬 또 다른 실시형태에서, A 및 B 둘 다(다른 구성요소를 임의로 포함); 등을 의미할 수 있다.

[0249]

본 명세서 및 청구범위에서 본 명세서에서 사용되는 바대로, "또는"은 상기 정의된 바대로 "및/또는"과 동일한 의미를 가지는 것으로 이해되어야 한다. 예를 들어, 목록에서 항목을 분리할 때, "또는" 또는 "및/또는"은 포괄적인, 즉 구성요소의 번호 또는 목록, 및 임의로, 추가적인 목록에 없는 항목 중 적어도 하나의 포함, 및 이들 중 하나 초과 포함인 것으로 해석되어야 한다. "중 오직 하나" 또는 "중 정확히 하나", 또는, 청구범위에서 사용될 때, "이루어지는"과 같은, 명확히 반대로 표시된 용어만이 구성요소의 번호 또는 목록 중 정확히 하나의 구성요소의 포함을 의미할 것이다. 일반적으로, 용어 "또는"은, 본 명세서에서 사용되는 바대로, "어느 하나", "중 하나", "중 오직 하나", 또는 "중 정확히 하나"와 같은 배타성의 용어가 선행할 때, 배타적인 대안(즉 "하나 또는 다른 하나 및 둘 다")을 표시하는 것으로 오직 해석되어야 한다. "필수적으로 이루어진"은, 청구범위에서 사용될 때, 특허법의 범위에서 사용되는 이의 통상적인 의미를 가져야 한다.

[0250]

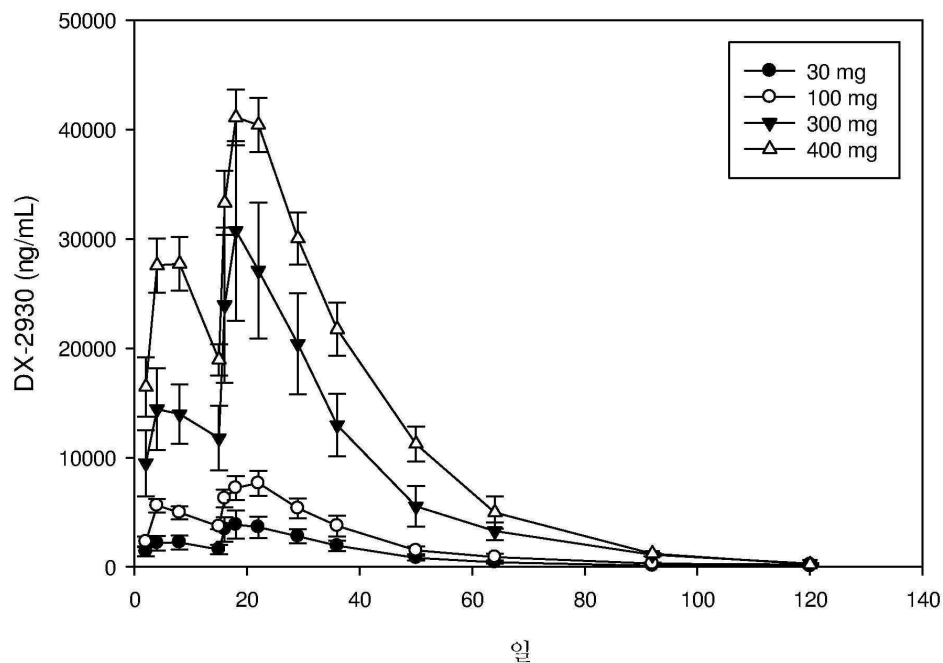
명세서 및 청구범위에서 본 명세서에서 사용되는 바대로, 구절 "적어도 하나"은, 하나 이상의 구성요소의 목록을 참조하여, 구성요소의 목록에서 구성요소 중 임의의 하나 이상으로부터 선택된 적어도 하나의 구성요소를 의미하는 것으로 이해되어야 하지만, 구성요소의 목록 내에 구체적으로 수재된 각각의 및 모든 구성요소 중 적어도 하나를 반드시 포함하지 않고 구성요소의 목록에서 구성요소의 임의의 조합을 배제하지 않는다. 이 정의는 또한, 구체적으로 확인된 이 구성요소와 관련되든 또는 관련되지 않든, 구절 "적어도 하나"가 언급하는 구성요소의 목록 내에 구체적으로 확인된 구성요소 이외에 구성요소가 임의로 존재할 수 있도록 허용한다. 따라서, 비제한적인 예로서, "A 및 B 중 적어도 하나"(또는, 동등하게, "A 또는 B 중 적어도 하나", 또는, 동등하게, "A 및/또는 B 중 적어도 하나")는, 일 실시형태에서, B가 존재하지 않으면서 하나 초과 A를 임의로 포함(및 B 이외의 구성요소를 임의로 포함)하는 적어도 하나; 또 다른 실시형태에서, A가 존재하지 않으면서 하나 초과 B를 임의로 포함(및 A 이외의 구성요소를 임의로 포함)하는 적어도 하나; 훨씬 또 다른 실시형태에서, 하나 초과 A, 및 적어도 하나를 임의로 포함하고, 하나 초과 B를 임의로 포함(및 구성요소를 임의로 포함)하는 적어도 하나; 등을 의미할 수 있다.

[0251] 명확히 반대로 표시되지 않는 한, 하나 초과와 단계 또는 조항을 포함하는 본 명세서에서 청구된 임의의 방법에서, 방법의 단계 또는 조항의 순서가 방법의 단계 또는 조항이 기재된 순서로 반드시 제한되지는 않는 것으로 또한 이해되어야 한다.

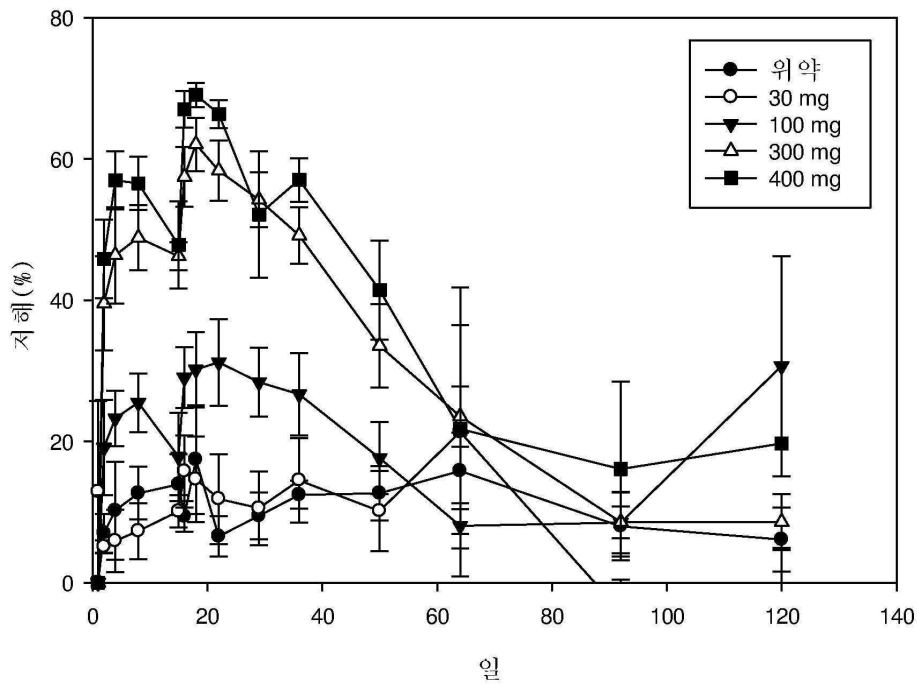
[0252] 청구범위 및 상기 명세서에서, "포함하는", "포함", "보유하는", "가지는", "함유하는", "수반하는", "갖는", "이루어진" 등과 같은 모든 전환 구절은 개방 말단인 것으로, 즉 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는 것을 의미하는 것으로 이해되어야 한다. "이루어진" 및 "필수적으로 이루어진"의 전환 구절만이, 특히 심사 절차의 미국 특허청 매뉴얼, 섹션 2111.03에 기재된 바대로, 각각 폐쇄 또는 반폐쇄 전환 구절이어야 한다.

도면

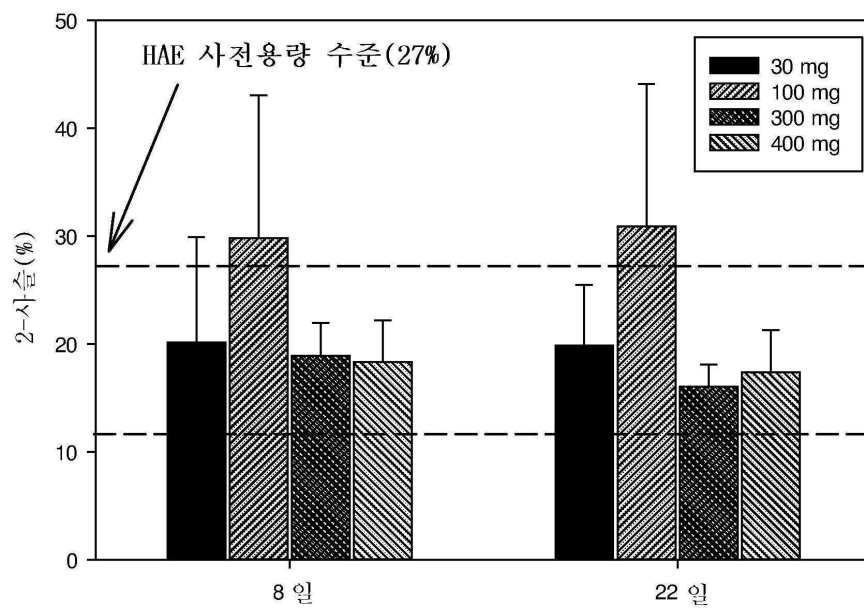
도면1



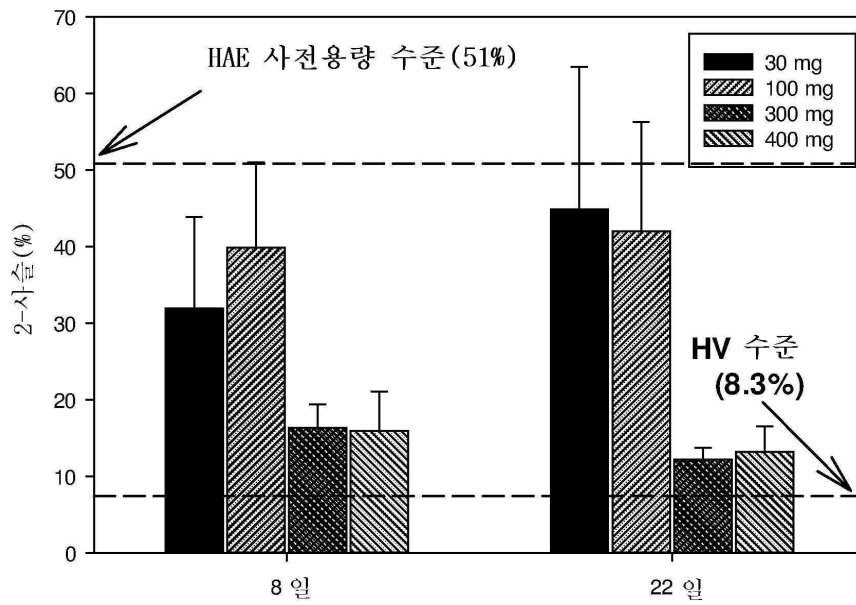
도면2



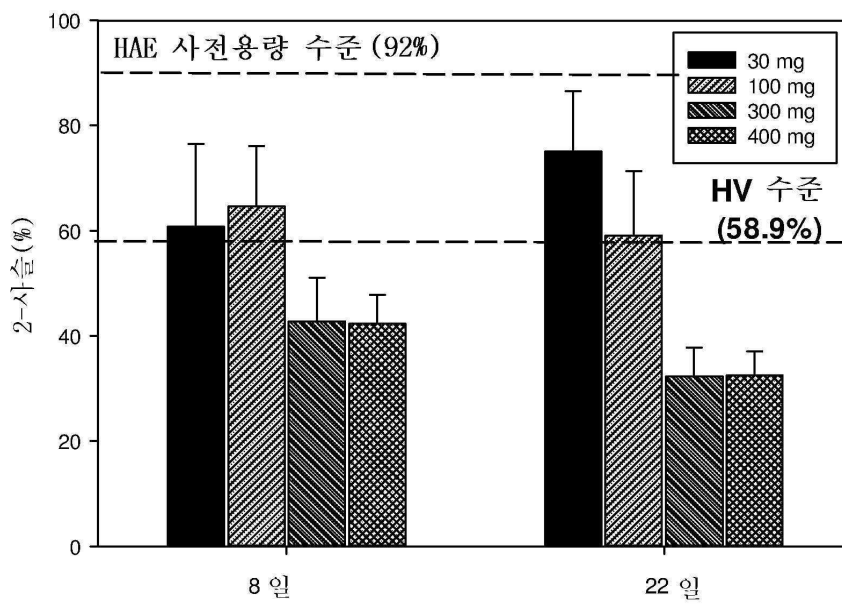
도면3



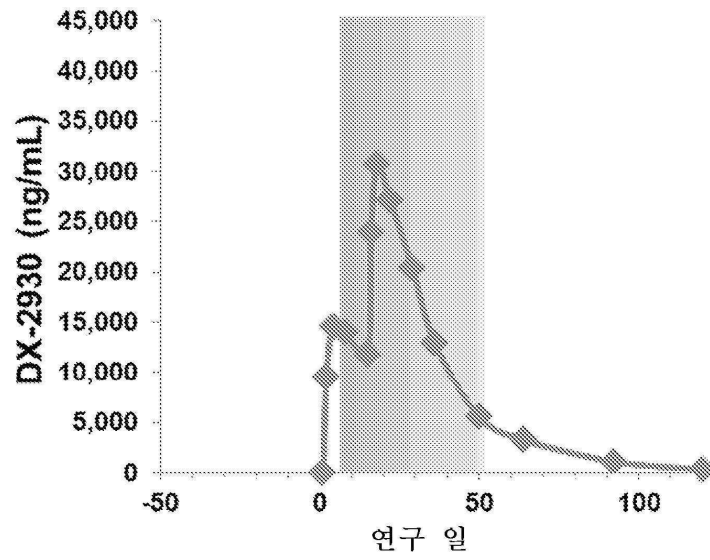
도면4



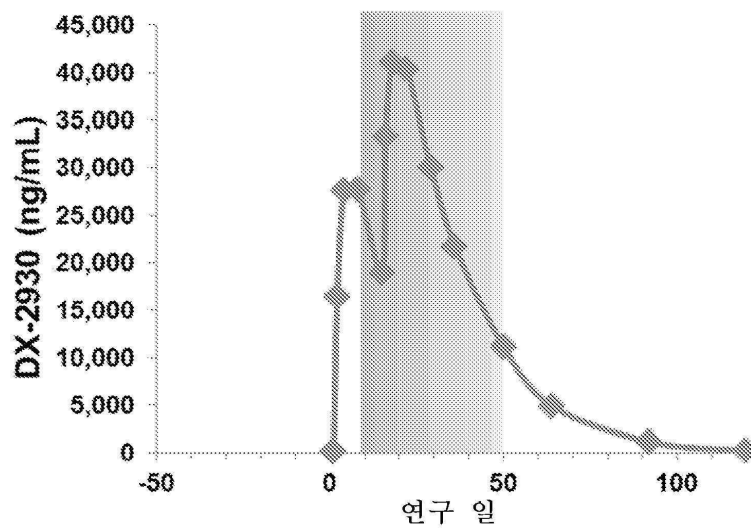
도면5



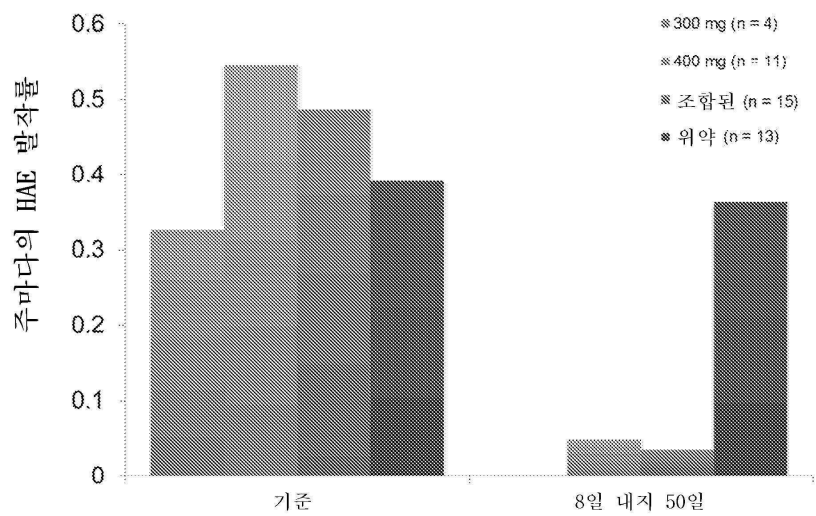
도면6a



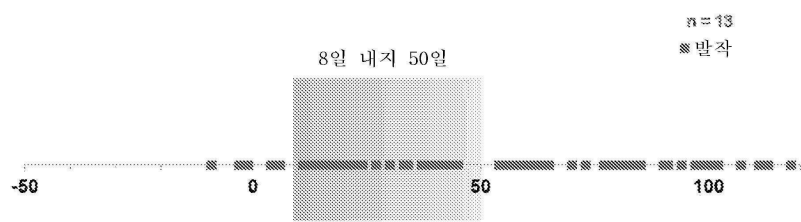
도면6b



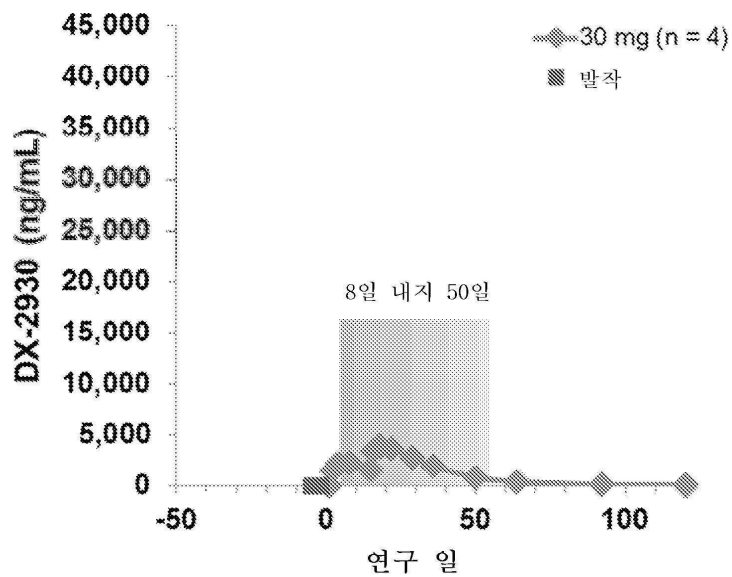
도면7



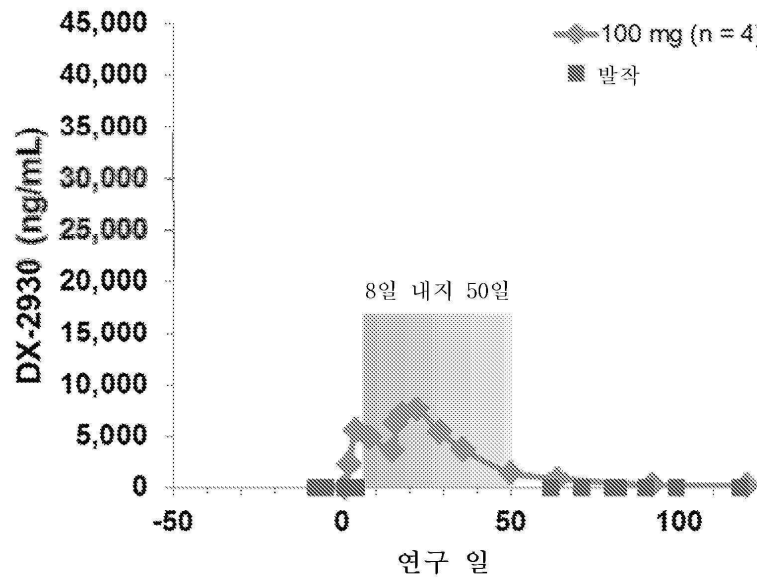
도면8



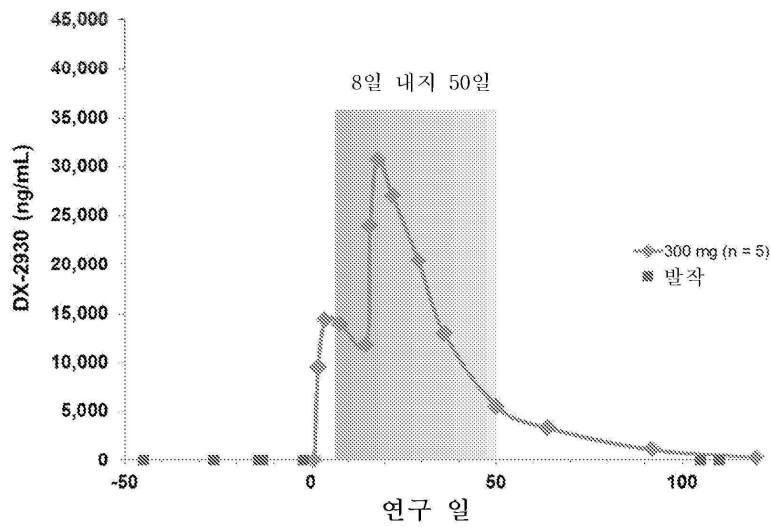
도면9



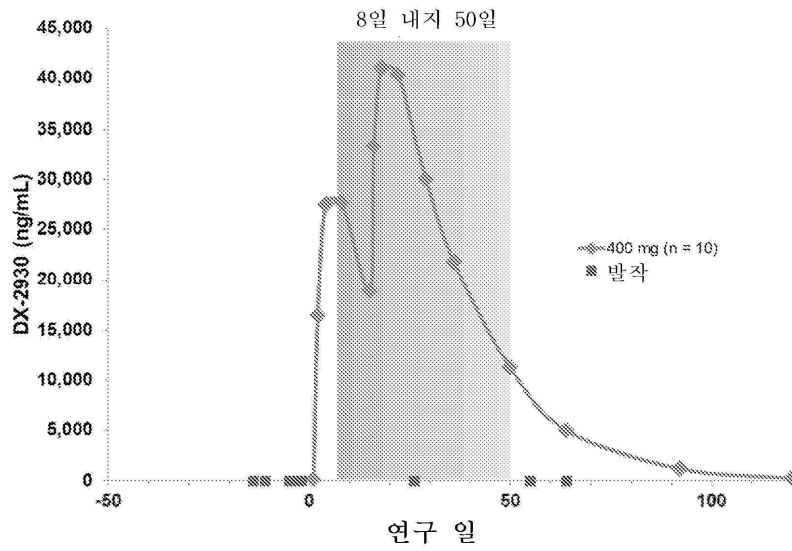
도면10



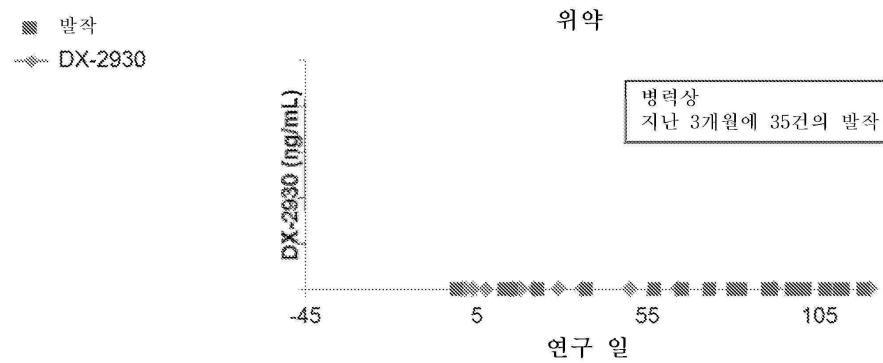
도면11



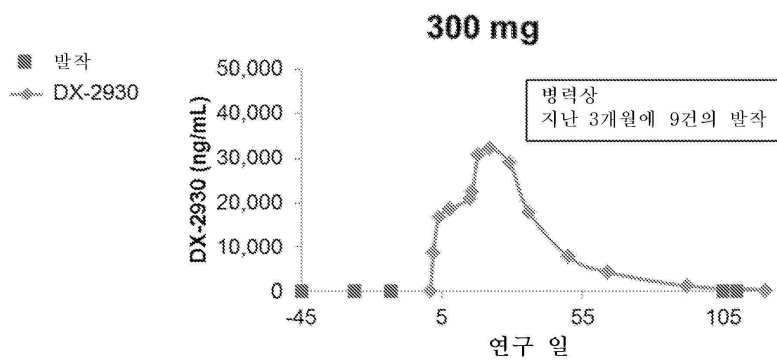
도면12



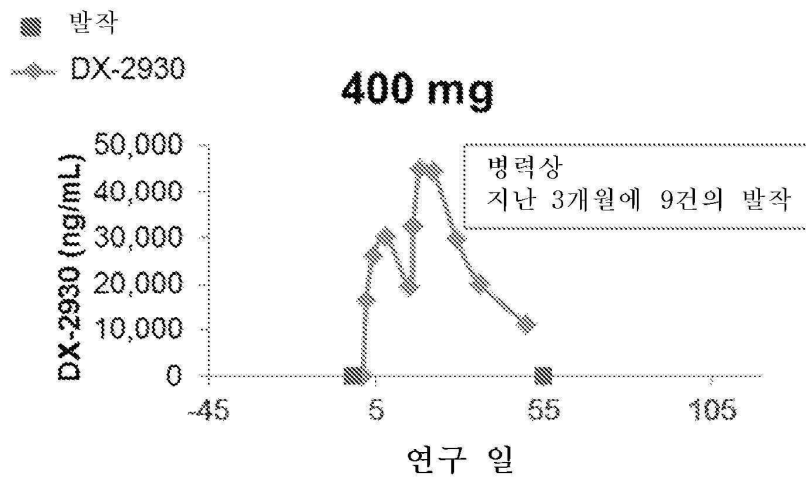
도면13a



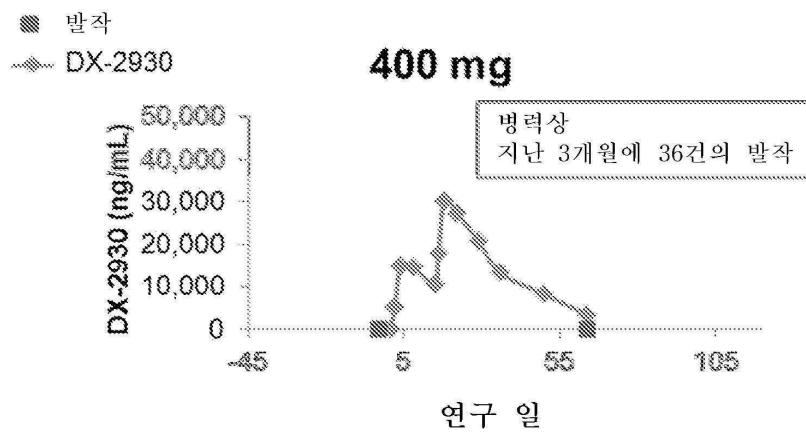
도면13b



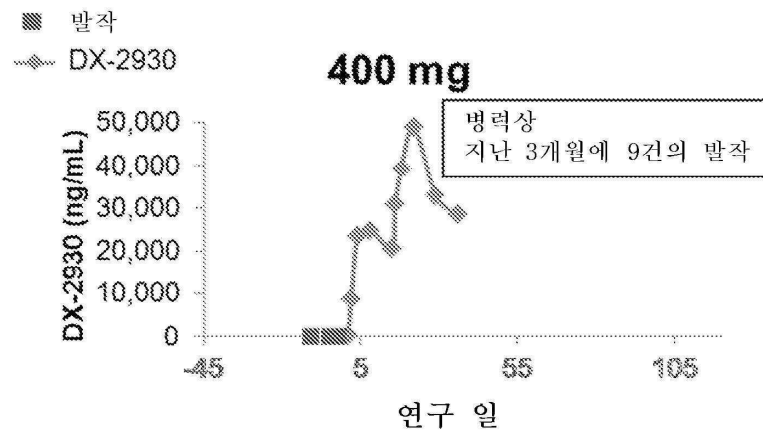
도면13c



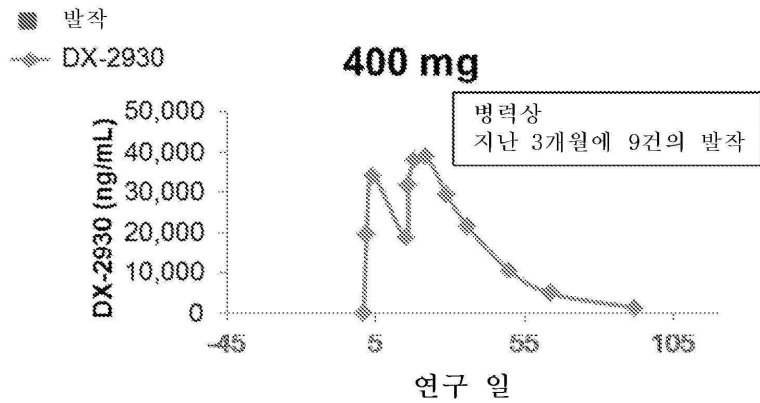
도면13d



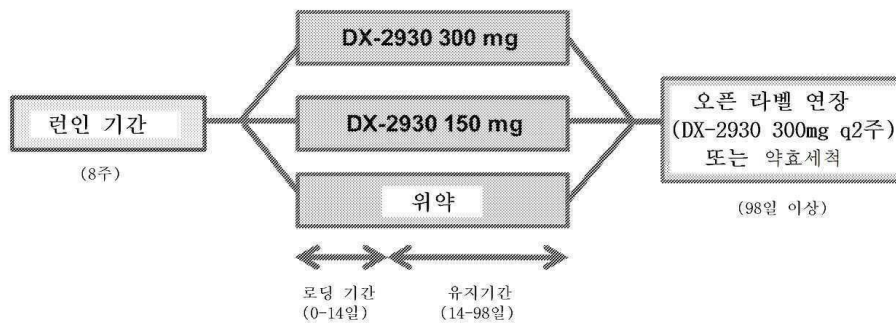
도면13e



도면13f



도면14



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> DYAX CORP.

<120> PLASMA KALLIKREIN INHIBITORS AND USES THEREOF FOR PREVENTING
HEREDITARY ANGIOEDEMA ATTACK

<130> WO2016/160926

<140> PCT/US2016/024921

<141> 2016-03-30

<150> US 62/214,293

<151> 2015-09-04

<150> US 62/140,277

<151> 2015-03-30

<150> US 62/140,289

<151> 2015-03-30

<160> 10

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 469

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 1

Met Gly Trp Ser Cys Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly Ala

1 5 10 15

His Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro

20 25 30

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser

35 40 45

His Tyr Ile Met Met Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu

50 55 60

Trp Val Ser Gly Ile Tyr Ser Ser Gly Gly Ile Thr Val Tyr Ala Asp

65 70 75 80

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr

85 90 95

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr

100 105 110

Tyr Cys Ala Tyr Arg Arg Ile Gly Val Pro Arg Arg Asp Glu Phe Asp

115 120 125

Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys

130 135 140

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly

145 150 155 160

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro

165 170 175

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr

180 185 190

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val

195	200	205	
Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn			
210	215	220	
Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro			
225	230	235	240
Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu			
245	250	255	
Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp			
260	265	270	
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp			
275	280	285	
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly			
290	295	300	
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn			
305	310	315	320
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp			
325	330	335	
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro			
340	345	350	
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu			
355	360	365	
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn			
370	375	380	
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile			
385	390	395	400
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr			
405	410	415	
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys			
420	425	430	
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys			
435	440	445	

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

450 455 460

Ser Leu Ser Pro Gly

465

<210> 2

<211> 231

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 2

Met Gly Trp Ser Cys Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly Ala

1 5 10 15

His Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser

20 25 30

Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser

35 40 45

Ser Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

50 55 60

Leu Ile Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe

65 70 75 80

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu

85 90 95

Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Thr Tyr

100 105 110

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala

115 120 125

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser

130 135 140

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu

145 150 155 160

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser

165 170 175
Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
180 185 190
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
195 200 205
Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
210 215 220
Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 3

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 3

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Tyr
20 25 30
Ile Met Met Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Tyr Ser Ser Gly Gly Ile Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Tyr Arg Arg Ile Gly Val Pro Arg Arg Asp Glu Phe Asp Ile Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 4

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 4

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Thr Tyr Trp Thr

85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 5

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 5

His Tyr Ile Met Met

1 5

<210> 6

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 6

Gly Ile Tyr Ser Ser Gly Gly Ile Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 7

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 7

Arg Arg Ile Gly Val Pro Arg Arg Asp Glu Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 8

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 9

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 9

Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser

1 5

<210> 10

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 10

Gln Gln Tyr Asn Thr Tyr Trp Thr

1

5