

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

(21)(22) Заявка: 2017126088, 06.02.2012

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
07.02.2011 US 61/440,371;
14.03.2011 US 61/452,630;
17.05.2011 US 61/487,263(62) Номер и дата подачи первоначальной заявки,
из которой данная заявка выделена:
2013139066 22.08.2013(43) Дата публикации заявки: 31.01.2019 Бюл. №
04Адрес для переписки:
191036, Санкт-Петербург, а/я 24,
"НЕВИНПАТ"(71) Заявитель(и):
СЕРЕНИ ТЕРАПЕУТИКС ХОЛДИНГ
С.А. (FR)(72) Автор(ы):
ДАССО Жан-Луи (FR),
ОНИСЬЮ Даниела Кармен (FR),
АКЕРМАНН Роуз (US)

(54) Липопротеиновые комплексы и их получение и применения

(57) Формула изобретения

1. Совокупность липопротеиновых комплексов, каждый из которых включает липидную фракцию и аполипопротеиновую фракцию, состоящую по существу из аполипопротеина A-I ("АроА-І"), где липопротеиновые комплексы по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95% являются гомогенными, что отражает единственный пик при гельпроникающей хроматографии.

2. Совокупность по п. 1, дополнительно отличающаяся одной, двумя, тремя или четырьмя из следующих характеристик:

(а) по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 99% липопротеиновых комплексов находятся в форме частиц, имеющих размер от 4 нм до 15 нм, от 6 нм до 15 нм, от 4 нм до 12 нм, от 6 нм до 12 нм или от 8 нм до 12 нм, как измерено гельпроникающей хроматографией ("ГПХ") или динамическим светорассеянием ("ДСР");

(б) по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% масс./масс. АроА-І в указанной совокупности находится в зрелой форме;

(с) не более чем 25%, не более 20%, не более 15%, не более 10% или не более 5% масс./масс. АроА-І в указанной совокупности находится в незрелой форме; и

(д) не более 25%, не более 20%, не более 15%, не более 10% или не более 5% масс./масс. АроА-І в совокупности находится в укороченной форме.

3. Совокупность по п. 1 или 2, дополнительно отличающаяся одной, двумя, тремя,

A 2017126088 A

RU 2017126088 A

четырьмя или пятью из следующих характеристик:

(а) не более 25%, не более 20%, не более 15%, не более 10%, не более 5%, не более 3%, не более 2% или не более 1% каждого из метионина 112 и метионина 148 в АроA-I в указанной совокупности окислено;

(б) не более 15%, не более 10%, не более 5%, не более 4%, не более 3%, не более 2% или не более 1% аминокислот АроA-I в указанной совокупности деамидировано;

(с) совокупность содержит не более 1 EU (эндотоксиновой единицы), не более 0,5 EU, не более 0,3 EU или не более 0,1 EU эндотоксина на миллиграмм АроA-I;

(д) совокупность содержит не более 100 пикограммов, не более 50 пикограммов, не более 25 пикограммов, не более 10 пикограммов или не более 5 пикограммов ДНК клетки-хозяина на миллиграмм АроA-I; и

(е) совокупность содержит не более 500 нанограммов, не более 200 нанограммов, не более 100 нанограммов, не более 50 нанограммов или не более 20 нанограммов белка клетки-хозяина на миллиграмм АроA-I.

4. Совокупность по любому из пп. 1-3, в которой не более 15%, или не более 10%, не более 5% или не более 2% масс./масс. липида в липидной фракции в указанной комплексах составляет холестерин.

5. Совокупность по любому из пп. 1-4, где АроA-I представляет собой белок АроA-I человека.

6. Совокупность по любому из пп. 1-5, где АроA-I представляет собой рекомбинантный АроA-I.

7. Совокупность по любому из пп. 1-6, где указанная липидная фракция состоит по существу из 95-99% масс./масс. нейтрального фосфолипида и 1-5% масс./масс. отрицательно заряженного фосфолипида.

8. Совокупность по п. 7, где указанная липидная фракция состоит по существу из 96-98% масс./масс. нейтрального фосфолипида и 2-4% масс./масс. отрицательно заряженного фосфолипида.

9. Совокупность по любому из пп. 1-8, где указанная липидная фракция состоит по существу из 97% масс./масс. нейтрального фосфолипида и 3% масс./масс. отрицательно заряженного фосфолипида.

10. Совокупность по п. 9, где нейтральный липид представляет собой природный сфингомиелин или синтетический сфингомиелин, возможно где липид имеет пероксидное число менее 5 мэкв О/кг, менее 4 мэкв О/кг, менее 3 мэкв О/кг или менее 2 мэкв О/кг.

11. Совокупность по п. 10, в которой сфингомиелин представляет собой сфингомиелин куриного яйца.

12. Совокупность по любому из пп. 9-11, в которой отрицательно заряженный фосфолипид включает фосфатидилглицерин.

13. Совокупность по п. 12, в которой отрицательно заряженный фосфолипид включает соль 1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3-[фосфо-рац-(1-глицерин)] (DPPG) или состоит из нее.

14. Совокупность по любому из пп. 1-13, имеющая отношение фракции аполипопротеина к фракции фосфолипида в диапазоне от 1:2 до примерно 1:3 по массе.

15. Композиция, содержащая две, три или четыре совокупности по любому из пп. 1-14.

16. Композиция по п. 15, содержащая не более 15%, не более 12%, не более 10%, не более 9%, не более 8%, не более 7%, не более 6%, не более 5%, не более 4%, не более 3%, не более 2%, не более 1% липопротеина в композиции в не связанной в комплекс форме.

17. Композиция по п. 15 или 16, содержащая не более 15%, не более 12%, не более 10%, не более 9%, не более 8%, не более 7%, не более 6%, не более 5%, не более 4%, не

более 3%, не более 2%, не более 1% липида в композиции в не связанный в комплекс форме.

18. Композиция по любому из пп. 15-17, содержащая первую совокупность, включающую липопротеиновые комплексы, имеющие 2 молекулы АроA-І или эквивалента АроA-І на липопротеиновый комплекс.

19. Композиция по п. 18, содержащая вторую совокупность, включающую липопротеиновые комплексы, имеющие 3 или 4 молекулы АроA-І или эквивалента АроA-І на липопротеиновый комплекс, и возможно третью совокупность, включающую липопротеиновые комплексы, имеющие 4 или 3 молекулы АроA-І или эквивалента АроA-І на липопротеиновый комплекс, соответственно.

20. Композиция по любому из пп. 15-19, дополнительно содержащая один или более чем один фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель и/или эксципиент.

21. Фармацевтическая композиция, содержащая совокупность липопротеиновых комплексов по любому из пп. 1-14 или по существу состоящая из нее, и один или более чем один фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель и/или эксципиент.

22. Стандартная лекарственная форма, содержащая терапевтически эффективное количество фармацевтической композиции по п. 21.

23. Клетка-хозяин млекопитающего, сконструированная генно-инженерным путем для экспрессии белка АроA-І, где указанный белок АроA-І включает аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере 95% идентичностью положениям 25-267 SEQ ID NO: 1.

24. Культура клеток млекопитающего, включающая множество клеток-хозяев млекопитающего по п. 23.

25. Способ получения зрелого, биологически активного белка АроA-І, включающий культивирование клетки-хозяина млекопитающего по п. 23 в условиях, при которых экспрессируется и секретируется белок АроA-І.

26. Способ получения липопротеиновых комплексов, включающий:

(а) охлаждение исходной суспензии, содержащей липидный компонент и белковый компонент, от температуры, находящейся в первом температурном диапазоне, до температуры, находящейся во втором температурном диапазоне,

где указанный липидный компонент состоит по существу из частиц липидов, а указанный белковый компонент состоит по существу из липидсвязывающих пептидов и/или липидсвязывающих белков;

(б) нагревание охлажденной суспензии со стадии (а) от температуры, находящейся во втором температурном диапазоне, до температуры, находящейся в первом температурном диапазоне;

(с) охлаждение указанной нагретой суспензии со стадии (б) от температуры, находящейся в первом температурном диапазоне, до температуры, находящейся во втором температурном диапазоне;

(д) повторение стадий (б) и (с) по меньшей мере один раз, с получением в результате липопротеиновых комплексов.

27. Способ изготовления фармацевтической композиции, включающий:

(а) получение липопротеиновых комплексов согласно способу по п. 26; и

(б) объединение указанных липопротеиновых комплексов с одним или более чем одним фармацевтически приемлемым эксципиентом.

28. Способ лечения дислипидемического расстройства, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества:

(а) совокупности липопротеиновых комплексов по любому из пп. 1-14;

(б) композиции по любому из пп. 15-20;

(с) фармацевтической композиции по п. 21;

A
2017126088
RU

R U
2 0 1 7 1 2 6 0 8 8
A

- (d) терапевтически эффективного количества липопротeinовых комплексов, полученных способом по п. 26;
- (e) стандартной лекарственной формы по п. 22;
- (f) липопротeinового комплекса, однократное введение которого здоровому волонтеру в количестве вплоть до 45 мг/кг не приводит к повышению уровня ферментов печени;
- (g) липопротeinового комплекса, двух-, трех-, четырех-, пяти- или шестикратное введение которого субъекту-человеку не приводит к повышению уровня ферментов печени;
- (h) липопротeinового комплекса, однократного введение которого субъекту-человеку в дозе, составляющей от 1 мг/кг до 20 мг/кг, не приводит к повышению уровня ферментов печени;
- (i) липопротeinового комплекса, двух-, трех-, четырех-, пяти- или шестикратное введение которого субъекту-человеку в дозе, составляющей от 1 мг/кг до 20 мг/кг при каждом введении, не приводит к повышению уровня ферментов печени;
- (j) липопротeinового комплекса, однократное введение которого здоровому волонтеру в количестве вплоть до 20 мг/кг не приводит к более чем двукратному повышению уровня триглицеридов;
- (k) липопротeinового комплекса, двух-, трех-, четырех-, пяти- или шестикратное введение которого субъекту-человеку не приводит к более чем двукратному повышению уровня триглицеридов;
- (l) липопротeinового комплекса, однократное введение которого субъекту-человеку в дозе, составляющей от 1 мг/кг до 20 мг/кг, не приводит к более чем двукратному повышению уровня триглицеридов; или
- (m) липопротeinового комплекса, двух-, трех-, четырех-, пяти- или шестикратное введение которого субъекту-человеку в дозе, составляющей от 1 мг/кг до 20 мг/кг при каждом введении, не приводит к более чем двукратному повышению уровня триглицеридов.

29. Способ лечения дислипидемического расстройства, включающий:

(а) введение субъекту начальной дозы, составляющей от 1 мг/кг до 12 мг/кг;

(1) совокупности липопротeinовых комплексов по любому из пп. 1-14;

(2) композиции по любому из пп. 15-20;

(3) фармацевтической композиции по п. 21;

(4) терапевтически эффективного количества липопротeinовых комплексов, полученных способом по п. 26;

(5) стандартной лекарственной формы по п. 22;

(6) липопротeinового комплекса, однократное введение которого здоровому волонтеру в количестве вплоть до 45 мг/кг не приводит к повышению уровня ферментов печени;

(7) липопротeinового комплекса, двух-, трех-, четырех-, пяти- или шестикратное введение которого субъекту-человеку не приводит к повышению уровня ферментов печени;

(8) липопротeinового комплекса, однократного введение которого субъекту-человеку в дозе, составляющей от 1 мг/кг до 20 мг/кг, не приводит к повышению уровня ферментов печени;

(9) липопротeinового комплекса, двух-, трех-, четырех-, пяти- или шестикратное введение которого субъекту-человеку в дозе, составляющей от 1 мг/кг до 20 мг/кг при каждом введении, не приводит к повышению уровня ферментов печени;

(10) липопротeinового комплекса, однократное введение которого здоровому волонтеру в количестве вплоть до 20 мг/кг не приводит к более чем двукратному

повышению уровня триглицеридов;

(11) липопротeinового комплекса, двух-, трех-, четырех-, пяти- или шестикратное введение которого субъекту-человеку не приводит к более чем двукратному повышению уровня триглицеридов;

(12) липопротeinового комплекса, однократное введение которого субъекту-человеку в дозе, составляющей от 1 мг/кг до 20 мг/кг, не приводит к более чем двукратному повышению уровня триглицеридов; или

(13) липопротeinового комплекса, двух-, трех-, четырех-, пяти- или шестикратное введение которого субъекту-человеку в дозе, составляющей от 1 мг/кг до 20 мг/кг при каждом введении, не приводит к более чем двукратному повышению уровня триглицеридов;

(b) определение, повышен ли у субъекта уровень триглицеридов, холестерина-ЛПОНП и/или триглицерида-ЛПОНП более чем в два раза через 4, 8, 12, 24, 48, 72, 168, 336 или 504 часа после введения; и

(c) если у субъекта уровень триглицеридов, холестерина-ЛПОНП и/или триглицерида-ЛПОНП повышен более чем в два раза по сравнению с уровнями до дозирования, введение повторяют, но в более низкой дозе, а если у субъекта уровень триглицеридов, холестерина-ЛПОНП и/или триглицерида-ЛПОНП не повышен более чем в два раза по сравнению с уровнями до дозирования, введение повторяют в эквивалентной или более высокой дозе.