



등록특허 10-2766038



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년02월12일
(11) 등록번호 10-2766038
(24) 등록일자 2025년02월06일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 35/16 (2015.01) *A61K 38/17* (2006.01)
A61K 47/24 (2017.01) *A61K 47/28* (2017.01)
A61P 3/06 (2006.01) *A61P 9/10* (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 35/16 (2013.01)
A61K 38/1709 (2020.05)
- (21) 출원번호 10-2020-7009276(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2012년11월02일
심사청구일자 2020년04월29일
- (85) 번역문제출일자 2020년03월31일
- (65) 공개번호 10-2020-0037879
- (43) 공개일자 2020년04월09일
- (62) 원출원 특허 10-2019-7019295
원출원일자(국제) 2012년11월02일
심사청구일자 2019년08월01일
- (86) 국제출원번호 PCT/AU2012/001345
- (87) 국제공개번호 WO 2013/090978
국제공개일자 2013년06월27일

(30) 우선권주장
2011905368 2011년12월21일 오스트레일리아(AU)

(56) 선행기술조사문헌

WO2003096983 A2*
WO2005041866 A2*
WO2004010939 A2
WO2007023476 A2

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

전체 청구항 수 : 총 4 항

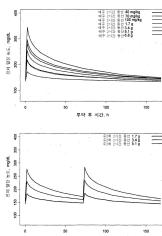
심사관 : 윤미란

(54) 발명의 명칭 아포지질단백질 제형을 위한 용량 용법

(57) 요 약

본 발명은, 이에 제한되는 것은 아니지만, 심혈관 질환, 급성 관상동맥 증후군, 죽상동맥경화증, 불안정 협심증 및 심근경색을 포함하는 질환 또는 상태의 예방적 및/또는 치료학적 치료에서 효능이 있는 고정 용량으로 제공되는 아포지질단백질 제형에 관한 것이다. 보다 특히, 상기 고정 용량 아포지질단백질 제형은 체중 조절된 용량에 비하여 환자간 변동성이 상대적으로 감소되어 나타난다. 통상적으로, 상기 아포지질단백질 제형은 ApoAI, 하나 이상의 지질, 예를 들면, 포스파티딜콜린, 스팽고미엘린 및/또는 포스파티딜글리세롤 및 임의로, 계면활성제, 예를 들면, 콜레이트를 간 독성을 유도하지 않는 수준으로 포함하는 재구성된 고밀도 지질단백질 제형이다.

대 표 도



(52) CPC특허분류

A61K 47/24 (2013.01)

A61K 47/28 (2013.01)

A61P 3/06 (2018.01)

A61P 9/10 (2018.01)

명세서

청구범위

청구항 1

Apo-AI, 지질 및 계면활성제를 포함하고, 사람에서 심혈관 질환, 고콜레스테롤혈증 또는 저콜레스테롤혈증, 급성 관상동맥 증후군(ACS), 죽상동맥경화증, 불안정 협심증, 및 심근경색의 그룹으로부터 선택되는 질환, 장애 또는 상태를 예방적으로 또는 치료학적으로 치료하는데 사용하기 위한 고정 용량 (fixed dosage) 재구성된 고밀도 지질단백질(rHDL) 제형으로서,

상기 rHDL 제형은 60 내지 120kg의 체중 범위인 사람에게 투여시 치료학적으로 유효하고, 상기 고정 용량은 5 내지 7g의 범위로부터 선택된 양의 Apo-AI를 포함하고, 상기 Apo-AI가 혈장으로부터 정제되고, 상기 지질이 포스파티딜콜린이고, 상기 계면활성제가 나트륨 콜레이트이고, 상기 아포지질단백질과 상기 지질 사이의 비가 1:40 내지 1:75(mol:mol)이고, 상기 나트륨 콜레이트가 0.5 내지 0.9g/L의 농도로 존재하는, 고정 용량 rHDL 제형.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 고정 용량이 5.1g, 6g 또는 6.8g으로부터 선택된 양의 Apo-AI를 포함하는, 고정 용량 rHDL 제형.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 고정 용량 rHDL 제형이 정맥내 주입 (infusion) 또는 주사 (injection)로 투여되는, 고정 용량 rHDL 제형.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 고정 용량 rHDL 제형이 매주 투여되는, 고정 용량 rHDL 제형.

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은, 아포지질단백질 제형의 고정 투약(fixed dosing)에 관한 것이다. 보다 특히, 본 발명은, 아포지질단백질 제형의 고정 용량(fixed dosages), 즉, 환자의 체중에 무관한 양으로의 전달에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 고밀도 지질단백질(HDL)은 고밀도(>1.063g/mL) 및 작은 크기[스토크(Stoke) 직경 = 5 내지 17nm]를 특징으로 하는, 지질 및 단백질을 함유하는 불균질 지질단백질의 한 부류이다. 다양한 HDL 하위 부류는 지질, 아포지질단백질, 효소 및 지질 전달 단백질(lipid transfer protein)의 정량적 및 정성적 함량이 다양하여, 형상, 밀도, 크기, 전하 및 항원성에 차이가 생긴다. 아포지질단백질 A-I(Apo-AI)가 주요 HDL 단백질이지만, Apo-AII 및 Apo-V와 같은 기타 아포지질단백질이 존재할 수 있다.

[0003] 역학적 및 임상적 연구로 고밀도 지질단백질 콜레스테롤(HDL-C)의 수준과 심혈관 질환의 위험성 사이에 반비례 관계가 성립되었다[참조: Assmann et al, 2004, Circulation 109 III-8]. 보다 특히, 재구성된 HDL(rHDL) 제형의 형태와 같은 아포지질단백질 제형의 임상적 투여는 최근의 급성 관상동맥 증후군(ACS)으로 고통 받는 고콜레스테롤혈증 환자에 유리한 효과를 제공하는 것으로 나타났다.

[0004] 아포지질단백질 제형, 예를 들면, rHDL 제형의 용량은 통상적으로 제형이 투여되는 환자 또는 개체의 체중에 따라 계산한다. 용량에 대한 이러한 접근법은 개체의 체중과 아포지질단백질 제형을 분배하고 제거하는 개체의 능력 사이에 직접적인 상관 관계가 존재한다는 가정을 기초로 한다. 따라서, 체중을 기준으로 한 아포지질단백질 제형의 투약은, 각 환자가, 동일하거나 상이한 체중을 갖는 환자들 사이에 아주 적은 변화로 아포지질단백질에 대한 동일한 노출을 수용하는 결과를 야기할 것이 예상된다.

발명의 내용

요지

[0006] 본 발명자들은 놀랍게도, 아포지질단백질 제형, 예를 들면, 재구성된 HDL(rHDL) 제형의 통상의 용량이, 특히 환자의 체중에 따라 조절하거나 계산되는 경우, 상기 제형으로 투여되는 아포지질단백질(예: apoA-I)에 대한 노출의 면에서 환자들 사이에 상당한 변동성(variability)을 나타낸다는 것을 밝혀내었다. 보다 특히, 환자의 체중을 기준으로 하여 환자에게 투약시 아포지질단백질에 대한 노출의 환자간 변동성을 고정 투약 접근법으로 관찰한 것보다 크다는 것이 본 발명자들에 의하여 밝혀졌다.

[0007] 본 발명의 목적은, 선행 기술의 아포지질단백질 제형의 결함들 중의 하나 이상을 완화시키거나 방지하는 용량으로 아포지질단백질 제형을 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명의 바람직한 목적은, 이것으로 제한되지는 않지만, 심혈관 질환을 포함하는 질환 또는 상태의 예방적 및 /또는 치료학적 치료에 효능이 있는 용량으로 아포지질단백질 제형을 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 또 다른 바람직한 목적은, 아포지질단백질 제형의 아포지질단백질 성분에 대한 환자 노출에 의하여 측정된 환자간 변동성이 상대적으로 감소된 것으로 나타나는 용량으로 아포지질단백질 제형을 제공하는 것이다.

[0010] 제1 측면에서, 본 발명은, 사람에게 고정 용량 아포지질단백질 제형(fixed dose apolipoprotein formulation)

을 투여하여, 사람에서 질환, 장애 또는 상태를 치료하는 단계를 포함하는, 사람에서 질환, 장애 또는 상태를 예방적으로 또는 치료학적으로 치료하는 방법을 제공한다.

- [0011] 제2 측면에서, 본 발명은, 사람에서 질환, 장애 또는 상태를 예방적으로 또는 치료학적으로 치료하는데 사용하기 위한 고정 용량 아포지질단백질 제형을 제공한다.
- [0012] 제3 측면에서, 본 발명은, 아포지질단백질 또는 이의 단편을 치료학적으로 유효한 고정 용량으로 포함하는 고정 용량 아포지질단백질 제형을 제공한다.
- [0013] 적합하게는, 고정 용량 아포지질단백질 제형은 임의의 체중, 또는 일정 체중 범위 내의 임의의 체중을 갖는 사람에게 투여시 치료학적으로 유효하다.
- [0014] 적합하게는, 고정 용량 아포지질단백질 제형은, 체중 조절된 용량 용법(weight-adjusted dosage regime)으로 관찰되거나 체중 조절된 용량 용법과 연관되는 것과 비교하여, 제형의 아포지질단백질의 노출의 환자간 변동성이 상대적으로 감소되어 나타낸다.
- [0015] 제4 측면에서, 본 발명은, 치료학적으로 유효한 고정 용량으로 아포지질단백질 제형을 제조하는 단계를 포함하는, 아포지질단백질 또는 이의 단편을 포함하는 고정 용량 아포지질단백질 제형의 제조 방법을 제공한다.
- [0016] 적합하게는, 상기 방법은 임의의 체중 또는 일정 체중 범위 내의 임의의 체중을 갖는 사람에게 투여시 치료학적으로 유효한 아포지질단백질 제형의 고정 용량을 결정하는 단계를 포함한다. 바람직하게는, 고정 용량은 아포지질단백질 제형이, 동일한 체중 범위에 걸쳐 환자에게 투여된 체중 조절된 용량으로 관찰되거나 이와 연관되는 것과 비교하여, 아포지질단백질 제형의 아포지질단백질 성분에 대한 환자 체중 범위에 걸친 노출의 환자간 변동성이 상대적으로 감소되어 나타나는 용량으로서 결정한다.
- [0017] 제5 측면에서, 본 발명은, 사람에서 질환, 장애 또는 상태를 예방적으로 또는 치료학적으로 치료하기 위한 제4 측면의 방법에 따라 제조된 아포지질단백질 제형을 제공한다.
- [0018] 제6 측면에서, 본 발명은, 제2 또는 제3 측면에 따르거나, 제4 측면의 방법에 따라 제조된 고정 용량 아포지질단백질 제형의 하나 이상의 단위 용량; 및 하나 이상의 기타 키트 부품을 포함하는, 고정 용량 아포지질단백질 키트를 제공한다.
- [0019] 바람직하게는, 상기 질환, 장애 또는 상태는 급성 관상동맥 증후군(ACS), 즉상동맥경화증, 불안정 협심증 및 심근경색을 포함하는, 심혈관 질환, 고콜레스테롤혈증 또는 저콜레스테롤혈증을 포함한다.
- [0020] 바람직한 형태에서, 상기 아포지질단백질은 Apo-AI 또는 이의 단편이다.
- [0021] 적합하게는, 아포지질단백질 제형은 아포지질단백질, 지질 및 임의로 세제를 포함하는 재구성된 고밀도 지질단백질(rHDL) 제형이다.
- [0022] 당해 명세서 전체에 걸쳐, 문맥상 달리 요구되지 않는 한, 용어 "포함하다(comprise)", "포함하다(comprises)" 및 "포함하는(comprising)"은 기술된 정수 또는 정수 그룹을 포함하지만, 다른 정수 또는 정수 그룹을 배제시키지 않는 것으로 이해한다.

도면의 간단한 설명

- [0023] 이하에 상세히 기재된 본 발명의 비제한적인 양태를 이해하는데 도움이 되는 하기 도면을 참조한다:
- 도 1은 4주의 용량 투여 동안 투약 용법(dosing regimen)(단지 2시간의 주입 기간)에 의한 모의된 ApoA-I 혈장 농도 중앙값 대 시간 프로파일을 나타낸다.
- 도 2는 4주의 용량 투여 동안 투약 용법(단지 2시간의 주입 기간)에 의한 전체 ApoA-I 혈장 농도 대 시간 프로파일의 예상 분포를 나타낸다. 선은 프로파일 중앙값을 나타내고, 음영 영역은 95% 예측 구간(PI)을 나타낸다.
- 도 3은 2시간에 걸쳐 주입된 매주 용법(weekly regimen)의 최종 용량에 대한 외인성 ApoA-I AUC₀₋₇₂의 분포를 나타낸다. 백색 선은 반응 중앙값을 나타내고, 암청색 음영 영역은 사분위간 범위를 나타내고, 담청색 음영 영역은 100회 시뮬레이션에 대한 95% PI를 나타낸다. 외부 적색 수평 실선은 우측 패널에서의 동등한 고정 용량(3.6g)에 대한 노출 밴드(exposure bands)에 비하여 좌측 패널에서의 40mg/kg 용량에 대한 노출 밴드의 보다 넓은 폭을 나타낸다. 내부 적색 실선은 이들 용량에 대한 노출 중앙값을 연결한다. 회색 과선은 좌측 패널에서의 70mg/kg 용량과 우측 패널에서의 동등한 고정 용량(6.3g)에 대한 비교 노출을 나타낸다.

도 4는 2시간에 걸쳐 주입된 매주 용법의 최종 용량에 대한 외인성 ApoA-I AUC₀₋₁₆₈의 분포를 나타낸다. 백색 선은 반응 중앙값을 나타내고, 암청색 음영 영역은 사분위간 범위를 나타내고, 담청색 음영 영역은 100회 시뮬레이션에 대한 95% PI를 나타낸다. 외부 적색 수평 실선은 우측 패널에서의 동등한 고정량(3.6g)에 대한 노출 밴드에 비하여 좌측 패널에서의 40mg/kg 용량에 대한 노출 밴드의 보다 넓은 폭을 나타낸다. 내부 적색 실선은 이를 용량에 대한 노출 중앙값을 연결한다. 회색 파선은 좌측 패널에서의 70mg/kg 용량과 우측 패널에서의 동등한 고정 용량(6.3g)에 대한 비교 노출을 나타낸다.

도 5는 2시간에 걸쳐 주입된 매주 용법의 최종 용량에 대한 외인성 ApoA-I C_{max}의 분포를 나타낸다. 백색 선은 반응 중앙값을 나타내고, 암청색 음영 영역은 사분위간 범위를 나타내고, 담청색 음영 영역은 100회 시뮬레이션에 대한 95% PI를 나타낸다. 외부 적색 수평 실선은 우측 패널에서의 동등한 고정 용량(3.6g)에 대한 노출 밴드에 비하여 좌측 패널에서의 40mg/kg 용량에 대한 노출 밴드의 보다 넓은 폭을 나타낸다. 내부 적색 실선은 이를 용량에 대한 노출 중앙값을 연결한다. 회색 파선은 좌측 패널에서의 70mg/kg 용량과 우측 패널에서의 동등한 고정 용량(6.3g)에 대한 비교 노출을 나타낸다.

도 6은 고정 투약(fixed dosing)과 체중 투약(body weight dosing) 사이에서 (2시간에 걸쳐 주입된 매주 용법의 최종 용량에 대한) 외인성 ApoA-I AUC₀₋₇₂간의 관계를 나타낸다. 백색 선은 반응 중앙값을 나타내고, 암청색 음영 영역은 사분위간 범위를 나타내고, 담청색 음영 영역은 100회 시뮬레이션에 대한 95% PI를 나타낸다.

도 7은 (2시간에 걸쳐 주입된 매주 용법의 최종 용량에 대한) 외인성 ApoA-I AUC₀₋₁₆₈과 체중 사이의 관계를 나타낸다. 백색 선은 반응 중앙값을 나타내고, 암청색 음영 영역은 사분위간 범위를 나타내고, 담청색 음영 영역은 100회 시뮬레이션에 대한 95% PI를 나타낸다.

도 8은 (2시간에 걸쳐 주입된 매주 용법의 최종 용량에 대한) 외인성 ApoA-I C_{max}와 체중 사이의 관계를 나타낸다. 백색 선은 반응 중앙값을 나타내고, 암청색 음영 영역은 사분위간 범위를 나타내고, 담청색 음영 영역은 100회 시뮬레이션에 대한 95% PI를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0024]

상세한 설명

[0025]

본 발명은 적어도 부분적으로, 환자 체중과 관계없는 아포지질단백질 제형(예: rHDL)에 대한 고정 용량 용법이, 체중 조절된 투약에 의한 것보다 환자의 체중 범위에 걸쳐 apoA-I 노출에 덜 영향을 미친다는 예상 외의 발견으로부터 시작하였다. 따라서, 특히 사람 환자 체중 범위의 극단에서, 체중 조절된 용법과 비교하여, 고정 용량 용법과 관련된 apo-AI에 대한 노출의 환자간 변동성이 더 적다.

[0026]

하나의 바람직한 측면에서, 본 발명은, 임의의 체중 또는 일정 체중 범위 내의 임의의 체중을 갖는 사람에게 투여시 치료학적으로 유효한 용량으로 고정 용량 아포지질단백질 제형을 제공한다.

[0027]

또다른 바람직한 측면에서, 본 발명은, 임의의 체중 또는 일정 체중 범위 내의 임의의 체중을 갖는 사람에게 투여시 치료학적으로 유효한 용량으로 아포지질단백질 제형을 제조하는 단계를 포함하는, 고정 용량 아포지질단백질 제형의 제조 방법을 제공한다.

[0028]

본 발명이 아포지질단백질 제형에 의한 요법에 반응하는 하나 이상의 질환, 장애 또는 상태를 치료하는데 있어서 치료학적 효능을 갖는 아포지질단백질 제형에 관한 것이라는 것이 인정된다.

[0029]

바람직하게는, 아포지질단백질은 Apo-AI 또는 이의 단편이다. 본 발명의 아포지질단백질 제형은 지질의 존재하에(예: rHDL) 또는 부재하에(예: 탈지 아포지질단백질) 제형화시킬 수 있다.

[0030]

특정 양태에서, 아포지질단백질 제형은 rHDL 제형이다. 본원에서 사용된 "재구성된 HDL(rHDL)" 제형은 혈장에 통상적으로 존재하는 고밀도 지질단백질(HDL)과 기능적으로 비슷하거나 유사하거나 이에 상응하거나 이를 모방하는 어떠한 인공적으로 제조된 아포지질단백질 제형 또는 조성물이라도 될 수 있다. 본원에서 사용된 rHDL 제형은 리포좀 제제가 아니다. rHDL 제형은 이의 범위 내에 "HDL 미메틱" 및 "합성 HDL 입자"를 포함한다. 적합하게는, rHDL 제형은 아포지질단백질, 지질 및 임의로 세제를 포함한다.

[0031]

아포지질단백질 제형, 예를 들면, 이에 제한되는 것은 아니지만, rHDL 제형은 콜레스테롤을 추가로 포함할 수 있다. 아포지질단백질 제형은 일부 경우 미국 특허 제5,652,339호에 기재된 바와 같이, 제형을 제조시 지질 성

분(예: 포스파티딜콜린)을 용해시키는데 사용되는데, 유기 용매를 사용하여 제조할 수 있다. 그러나, 아포지질단백질 제형은 유기 용매의 부재하에 제조하는 것이 바람직하다.

[0032] 아포지질단백질은 천연 발생 HDL 또는 재구성된 고밀도 지질단백질(rHDL)의 기능적, 생물학적 활성 성분인 어떠한 아포지질단백질이라도 될 수 있다. 통상적으로, 아포지질단백질은 혈장 유도된 또는 재조합 아포지질단백질, 예를 들면, Apo-AI, Apo-AII 또는 Apo-AV, pro-apo-AI 또는, 예를 들면, Apo-AI 밀라노(Milano)와 같은 변형태이다. 바람직하게는, 아포지질단백질은 Apo-AI이다. 또한, 아포지질단백질의 생물학적 활성 단편이 고려된다. 단편은 천연 발생되거나, 화학적 합성되거나, 또는 재조합될 수 있다. 단지 예로서, Apo-AI의 생물학적 활성 단편은 rHDL 제제로 제형화시 Apo-AI의 레시틴-콜레스테롤 아실트랜스퍼라제(LCAT) 자극 활성을 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95 내지 100%, 또는 심지어 100% 초과로 갖는다.

[0033] 적합하게는, 아포지질단백질의 농도는 약 5 내지 100g/L, 바람직하게는 10 내지 50g/L 또는 보다 바람직하게는 25 내지 45g/L이다. 이는 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 및 100g/L를 포함하고, 이들 양 사이의 어떠한 범위라도 포함한다. 기타 양태에서, 아포지질단백질의 농도는 약 5 내지 20g/L, 예를 들면, 약 8 내지 12g/L이다.

[0034] 지질은 천연 발생 HDL 또는 재구성된 고밀도 지질단백질(rHDL)의 성분인 어떠한 지질이라도 될 수 있다. 이러한 지질은 인지질, 콜레스테롤, 콜레스테롤-에스테르, 지방산 및/또는 트리글리세라이드를 포함한다. 바람직하게는, 지질은 인지질이다. 인지질의 비제한적인 예는 포스파티딜콜린(PC)(레시틴), 포스파티드산, 포스파티딜에탄올아민(PE)(세팔린), 포스파티딜글리세롤(PG), 포스파티딜세린(PS), 포스파티딜이노시톨(PI) 및 스핑고미엘린(SM), 스핑고신-1 포스페이트 또는 이의 천연 또는 합성 유도체를 포함한다. 천연 유도체는 egg PC, egg PG, 대두 PC, 수소화 대두 PC, 대두 PG, 뇌 PS, 스핑고지질, 뇌 SM, 갈락토세레브로사이드, 강글리오사이드, 세레브로사이드, 세팔린, 카디오리핀 및 디세틸포스페이트를 포함한다. 합성 유도체는 디팔미토일포스파티딜콜린(DPPC), 디데카노일포스파티딜콜린(DDPC), 디에루코일포스파티딜콜린(DEPC), 디미리스토일포스파티딜콜린(DMPC), 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC), 디라우릴포스파티딜콜린(DLPC), 팔미토일올레오일포스파티딜콜린(POPC), 팔미토일미리스토일포스파티딜콜린(PMPC), 팔미토일스테아로일포스파티딜콜린(PSPC), 디올레오일포스파티딜콜린(DOPC), 디올레오일포스파티딜에탄올아민(DOPE), 디라우로일포스파티딜글리세롤(DLPG), 디스테아로일포스파티딜글리세롤(DSPG), 디미리스토일포스파티딜글리세롤(DMPG), 디팔미토일포스파티딜글리세롤(DPPG), 디스테아로일포스파티딜글리세롤(DSPG), 디올레오일포스파티딜글리세롤(DOPG), 팔미토일올레오일포스파티딜글리세롤(POPG), 디미리스토일포스파티드산(DMPA), 디팔미토일포스파티드산(DPPA), 디스테아로일포스파티드산(DSPA), 디미리스토일포스파티딜에탄올아민(DMPE), 디팔미토일포스파티딜에탄올아민(DPPE), 디미리스토일포스파티딜세린(DMPS), 디팔미토일포스파티딜세린(DPPS), 디스테아로일포스파티딜에탄올아민(DSPE), 디올레오일포스파티딜에탄올아민(DOPE), 디올레오일포스파티딜세린(DOPS), 디팔미토일스핑고미엘린(DPSM) 및 디스테아로일스핑고미엘린(DSSM)을 포함한다. 인지질은 또한 위의 인지질들 중의 어느 하나의 유도체 또는 유사체일 수도 있다.

[0035] 기타 특정 양태에서, 지질은 음으로 하전된 인지질, 예를 들면, 포스파티딜글리세롤(예: 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-[포스포-rac-(1-글리세롤)])과 조합한 스핑고미엘린이거나, 이를 포함한다. 스핑고미엘린과 포스파티딜글리세롤(특히 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-[포스포-rac-(1-글리세롤)])의 조합물은 구체적으로 지질로서의 용도가 예상된다. 이러한 양태에서, 스핑고미엘린과 포스파티딜글리세롤은 어떠한 적합한 비로도, 예를 들면, 90:10 내지 99:1(w:w), 통상적으로 95:5 내지 98:2, 가장 통상적으로 97:3으로 존재할 수 있다.

[0036] 바람직하게는, 인지질은 포스파티딜콜린 단독 또는 하나 이상의 다른 인지질과 조합한 포스파티딜콜린이거나 이를 포함할 수 있다. 또 다른 인지질의 예는 스핑고미엘린이다. 일부 양태에서, 아포지질단백질 제형은 세제를 포함할 수 있다.

[0037] 통상적으로, 배타적이지는 않지만, 지질은 10 내지 100g/L 또는 바람직하게는 30 내지 60g/L의 농도로 존재할 수 있다.

[0038] 세제는 아포지질단백질(예: rHDL) 제형에 사용하기에 적합한, 담즙산과 이의 염을 포함한, 어떠한 이온성(예: 양이온성, 음이온성, 쯔비터이온성) 세제 또는 비이온성 세제라도 될 수 있다. 이온성 세제는 담즙산 및 이의 염, 폴리소르베이트(예: PS80), CHAPS, CHAPSO, 세틸 트리메틸-암모늄 브로마이드, 라우로일사르코신, 3급-옥틸페닐 프로판설폰산 및 4'-아미노-7-벤즈아미도-타우로콜산을 포함할 수 있다.

[0039] 담즙산은 통상적으로 콜산, 데옥시콜산, 케노데옥시콜산 또는 우르소데옥시콜산을 포함하는, 탄소수 24의 디하이드록실화 또는 트리하이드록실화 스테로이드이다. 바람직하게는, 세제는 담즙 염, 예를 들면, 콜레이트, 데

옥시콜레이트, 케노데옥시콜레이트 또는 우르소데옥시콜레이트 염이다. 특히 바람직한 세제는 나트륨 콜레이트이다.

[0040] 위에서 기재한 바와 같이, 고정 용량 아포지질단백질 제형은 임의의 체중 또는 일정 체중 범위 내의 임의의 체중을 갖는 사람 환자에게 투여시 치료학적으로 유효한 용량으로 존재한다. 따라서, 아포지질단백질 제형 용량은 통상적으로 "체중 조절된 투약"에서 나타나는 것과 같이, 사람의 특정 체중에 따라 계산하거나 결정하거나 선택하지 않는다.

[0041] 그보다는, 고정 용량 아포지질단백질 제형은, 임의의 체중 또는 일정 체중 범위의 임의의 체중을 갖는 사람 환자에게 투여시, 아포지질단백질 제형의 아포지질단백질 성분에 대한 노출 면에서 환자간 변동성이 상대적으로 감소되어 나타나는 용량으로서 결정된다. 상대적으로 감소된 환자간 변동성을 환자 집단의 체중 조절된 투약으로 관찰되거나 이와 연관된 것과 비교한다.

[0042] 노출의 변동성은 고정 용량 아포지질단백질 제형의 투여 이후 아포지질단백질에 대한 환자의 노출의 변화 면에서 나타내거나 측정될 수 있다. 바람직하게는, 변동성은 고정 용량 아포지질단백질 제형을 일정 체중 범위에 걸쳐 사람 환자에게 투여시 발생하는 변동성을, 고정 용량 환자와 동일한 체중 범위에 걸쳐 사람 환자에게 투여한 체중 조절된 용량에 대하여 발생되는 변동성과 비교한 것이다. 일부 양태에서, 아포지질단백질에 대한 노출은 평균 노출(예: 평균 노출 또는 중앙값 노출), 총 노출(예: 노출 시간에 걸쳐 적분된 양) 또는 최대 노출 수준(예: C_{max})으로서 측정할 수 있다. 일반적으로, 체중 또는 체중 범위는 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 또는 200kg, 또는 이들 값 사이의 임의의 범위이다. 바람직하게는, 체중 또는 체중 범위는 20 내지 200kg, 20 내지 60kg, 40 내지 160kg, 50 내지 80kg, 60 내지 140kg, 70 내지 80kg, 80 내지 120kg, 100 내지 180kg 또는 120 내지 200kg이다.

[0043] 적합하게는, 변동성은 체중 조절된 투약으로 발생하는 변동성의 100% 미만, 바람직하게는 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 94%, 93%, 92%, 91%, 또는 90%, 85% 또는 80% 미만이다. 변동성은, 이에 제한되는 것은 아니지만, 변동 계수(예: %CV)로서, 표준 편차, 표준 오차 등을 포함하는, 당해 기술분야에 공지된 어떠한 통계 표현에 의해서라도 표현되고 계산될 수 있다.

[0044] 현저히 상이한 체중을 갖는 환자들에게 고정 용량 아포지질단백질 제형을 투여함에도 불구하고, 아포지질단백질에 대한 환자의 노출은 놀랍게도 일정하다. 따라서, 고정 용량 아포지질단백질 제형의 치료학적 효능은 체중 조절된 용량과 비교하여 실질적으로 손상되거나 감소되지 않는다고 제안된다.

[0045] 단지 예로서, 본 발명자들은 60 내지 120kg의 체중 범위의 환자들에게 고정 용량 아포지질단백질 제형을 투여시 아포지질단백질에 대한 총 노출에 차이가 없음을 나타내었다. 추가로, 아포지질단백질에 대한 C_{max} 는 60 내지 120kg 체중 범위에 걸쳐 평균 16%로 감소되었다.

[0046] 비교시, 동일한 아포지질단백질 제형을 사용한 체중 조절된 투약 용법에 대하여, 체중이 60kg에서 120kg로 두 배가 되면 아포지질단백질의 용량이 두 배로 되고 ApoA-I 노출이 증가될 필요가 있다.

[0047] 고정 용량 아포지질단백질 제형은 매일, 주2회, 매주, 격주 또는 매달을 포함하는 어떠한 적합한 빈도수의 다중 용량으로도 투여할 수 있다. 고정 용량 아포지질단백질 제형은 당해 기술분야에 공지된 어떠한 투여 경로로도, 예를 들면, 정맥내 투여(예: 60, 90, 120 또는 180분과 같은 기간에 걸친 연속 주입에 의하여 또는 볼루스로서), 근육내, 복막내, 관상동맥으로 직접 투여를 포함한 동맥내, 뇌척수내, 피하, 관절내, 활액막내, 외피내, 경구, 국소 또는 흡입 경로에 의하여 투여할 수 있다. 통상적으로, 고정 용량 아포지질단백질 제형은 비경구, 예를 들면, 정맥내 주입 또는 주사로 투여된다.

[0048] 바람직한 고정 용량은 아포지질단백질 0.1 내지 15g, 0.5 내지 12g, 1 내지 10g, 2 내지 9g, 3 내지 8g, 4 내지 7g 또는 5 내지 6g을 포함한다. 특히 바람직한 고정 용량은 아포지질단백질 1 내지 2g, 3 내지 4g, 5 내지 6g 또는 6 내지 7g을 포함한다. 특정 고정 용량의 비제한적인 예는 아포지질단백질 0.25g, 0.5g, 1g, 1.7g, 2g, 3.4g, 4g, 5.1g, 6g, 6.8g 및 8g을 포함한다.

[0049] 사용될 수 있는 고정 용량 투여 용법의 비제한적인 특정 예는 90분에 걸쳐 정맥내 주입으로 매주 0.25g, 0.5g, 1g, 1.7g, 2g, 3.4g, 4g, 5.1g, 6g, 6.8g 또는 8g의 아포지질단백질, 120분에 걸쳐 정맥내 주입으로 매주 0.25g, 0.5g, 1g, 1.7g, 2g, 3.4g, 4g, 5.1g, 6g, 6.8g 또는 8g의 아포지질단백질, 또는 90분 또는 120분에 걸쳐 정맥내 주입으로 주2회 0.25g, 0.5g, 1g, 1.7g, 2g, 3.4g, 4g, 5.1g, 6g, 6.8g 또는 8g의 아포지질단백질을 포함한다.

- [0050] 또 다른 측면에서, 본 발명은, 사람에게 본원에 기재된 아포지질단백질 제형을 투여하는 단계를 포함하는, 사람에서 질환, 장애 또는 상태를 예방적으로 또는 치료학적으로 치료하는 방법을 제공한다.
- [0051] 적합하게는, 고정 용량 아포지질단백질 제형의 예방적 또는 치료학적 투여에 반응하는 질환, 장애 또는 상태는, 이에 제한되는 것은 아니지만, 심혈관 질환(예: 급성 관상동맥 증후군(ACS), 죽상동맥경화증, 불안정 협심증 및 심근경색)과 같은 질환, 장애 또는 상태, 당뇨병, 뇌졸중, 신장 기능 손상 또는 ACS에 취약한 심근경색, 고콜레스테롤혈증(예: 상승된 혈청 콜레스테롤 또는 상승된 LDL 콜레스테롤) 및 감소된 수준의 고밀도 지질단백질(HDL)로부터 발생하는 저콜레스테롤혈증, 예를 들면, 탄지에르(Tangier) 질환의 증상과 같은 질환, 장애 또는 상태를 포함한다.
- [0052] 본 발명은, 또한 본원에 기재된 고정 용량 아포지질단백질 제형의 하나 이상의 단위 용량 및 하나 이상의 기타 키트 부품을 포함하는, 용량 고정 아포지질단백질 키트를 제공한다.
- [0053] 적합하게는, 키트는 위에서 기재된 바와 같이, 사람에서 질환, 장애 또는 상태를 예방적으로 또는 치료학적으로 치료하기 위한 것이다.
- [0054] 하나 이상의 기타 기트 부품의 비제한적인 예는 사용 설명서; 단위 용량 각각을 함유하는 바이알, 컨테이너 또는 기타 저장 용기; 전달 장치, 예를 들면, 니들, 카테터, 시린지, 튜빙 등; 및/또는 키트를 안전하고 편리하게 저장하고/하거나 수송하기에 적합한 패키징을 포함한다. 바람직하게는, 사용 설명서는 라벨 또는 패키지 삽입물이며, 상기 라벨 또는 패키지 삽입물은, 아포지질단백질 제형이 이를 필요로 하는 사람 피검체에게 고정 용량을 투여하여 심혈관 질환과 같은 질환 또는 상태를 치료하는데 사용될 수 있음을 표시한다.
- [0055] '패키지 삽입물'이란, 이러한 아포지질단백질 제형의 사용에 관한 지시사항, 용법, 용량, 투여, 금기 및/또는 주의에 대한 정보를 포함하는, 아포지질단백질 제형의 상업용 패키지에 포함된 설명서를 말한다.
- [0056] 본원의 목적을 위하여, '바이알'은 아포지질단백질 제형을 보유한 컨테이너를 언급한다. 바이알은 시린지에 의하여 천공 가능한 스톱퍼에 의하여 밀봉시킬 수 있다. 일반적으로, 바이알은 유리 물질로 형성된다. 따라서, 바이알은 바람직하게는 동결건조된 rHDL 제형을 포함하며, 이의 단백질 함량은 바이알당 0.25g, 0.5g, 1g, 2g, 2.5g, 3g, 3.5g, 4g, 4.5g, 5g, 5.5g, 6g, 6.5g, 7g, 8g 또는 10g이다. 보다 바람직하게는, 아포지질단백질 함량은 바이알당 0.5g, 1g, 2g, 4g, 6g, 8g 또는 10g 중 어느 하나이다.
- [0057] 바이알내 아포지질단백질 제형은 액상, 동결건조, 냉동 등을 포함하는 다양한 상태일 수 있다. 고정 용량 아포지질단백질 제형은 바람직하게는 액체로서 안정하다. 안정성은 당해 기술분야에 공지된 어떠한 수단에 의해서라도 측정할 수 있지만, 혼탁도가 바람직한 척도이다. 약 10, 15, 20 또는 30 NTU 미만의 혼탁도 수준이 일반적으로 안정한 고정 용량 아포지질단백질 제형으로 고려될 수 있다. 혼탁도 측정은 실온 또는 37°C와 같은 저장 온도에서 0시간, 2시간, 4시간, 6시간, 12시간, 18시간, 24시간, 36시간, 72시간, 7일 및 14일과 같은 기간에 걸쳐 고정 용량 아포지질단백질 제형을 항온처리하여 수행할 수 있다. 바람직하게는 고정 용량 아포지질단백질 제형은 실온에서 14일 동안 저장시 액체로서 안정한 것으로 여겨지고, 약 15 NTU 미만의 혼탁도를 나타낸다.
- [0058] 키트는 고정 용량 아포지질단백질 제형을 의료 종사자가 투여하거나 환자 또는 간병인이 자가 투여하는 것을 용이하게 할 수 있다.
- [0059] 위에서 기재한 바와 같이, 본원에 기재된 고정 용량 아포지질단백질 제형은 어떠한 아포지질단백질 제형이라도 될 수 있다. 바람직하게는, 아포지질단백질 제형은 아포지질단백질, 지질 및 임의로, 세제를 포함하는 rHDL 제형이다. 따라서, 고정 용량 아포지질단백질 또는 rHDL 제형은 통상적으로 "체중 조절된" 투약에 의하여 투여되는 어떠한 이러한 제형에라도 일반적으로 적용할 것이다. rHDL 제형의 비제한적 예는 WO 제2003/096983호; US 제20040266662호; WO 제2005/041866호; WO 제2006/100567호; WO 제06/20069240호; 및 WO 제2010/093918호, WO 제2012/000048호 및 WO 제2012/109162호에 기재된 것을 포함한다.
- [0060] 하나의 특정한 비제한적인 예는 스피고미엘린 및 하나 이상의 음으로 하전된 인지질, 예를 들면, 포스파티딜이노시톨 및 포스파티딜글리세롤을 포함하는, 하나 이상의 인지질 및 Apo-AI를 포함하는 rHDL 제형이다.
- [0061] 일부 양태에서, 세제는 고정 용량 rHDL 제형에 부재한다. 다른 양태에서, 세제는 고정 용량 rHDL 제형에 존재한다. 하나의 바람직한 양태에서, 고정 용량 rHDL 제형은 세제를 독성이 아닌 수준으로 포함하거나, 적어도 상대적으로 낮은 독성을 나타낸다. 이와 관련하여, 이러한 양태에 따르는 rHDL 제형에 대한 상세한 설명을 제공하는 WO 제2012/000048호를 참조한다.

- [0062] 본 발명을 유도하는 작업에서, 일부 rHDL 제형은 rHDL 제형을 사람에게 투여시 예를 들면, 비정상 또는 손상된 간 기능으로 입증되는, 간 독성을 나타내는 것으로 밝혀졌다. 비정상일 수 있거나 손상될 수 있는 간 기능(들)의 비제한적 예는 상승된 알라닌 아미노트랜스파라제(ALT) 활성, 상승된 아스파르테이트 아미노트랜스파라제(AST) 활성 및/또는 상승된 빌리루빈 수준을 포함한다. 간 독성을 유발하는 수준의 rHDL 제형의 예는 문헌 [참조: Tardif et al, 2007, JAMA-Exp. 297 E1]에 기재되어 있다. 바람직하게는 고정 용량 아포지질단백질 제형은 간 독성을 나타내지 않는다.
- [0063] 간 독성은 다양한 시험판내 및 생체내 모델에 의하여 평가할 수 있다. 시험판내 모델의 일례는 HEP-G2 세포를 사용한다. 이는 HEP-G2 세포를 로그 기로 성장시킴을 포함한다. 이어서, 세포를 배양 배지로부터 제거하고, 트립신화 및 배양 배지(90% DMEM, 10% 불활성화 FCS, 1% 비필수 아미노산, 1% Pen/Strep) 10mL에 재현탁 전에 PBS로 세척하였다. 세포 성장 및 생존력을 노이바우어(Neubauer) 혈구계 및 트라이판 블루 염색(trypan blue staining)을 사용하여 모니터링한다. 10×10^4 C/mL를 함유하는 분취액 100 μ L를 후속적으로 96 웰 F-하부 플레이트로 씨딩하고, 37°C, 5% CO₂, 95% H₂O에서 밤새 항온배양한다. 배양 배지를 가하여 시험 제품(예: rHDL 제형)을 함유하는 샘플(700 μ L)을 제조한다. 웰의 제1 열로부터 배지를 제거하고, 시험 제품 용액 200 μ L를 가한다. 일련의 1:2 연속 희석을 플레이트 위에서 완료한다. 이어서, 플레이트를 37°C, 5% CO₂, 95% H₂O에서 72시간 동안 항온배양한다. 그 후 세포 생존력을 측정한다. 이는 3× 뉴트럴 레드 솔루션(Neutral Red Solution; PBS 100mL 중의 뉴트럴 레드 70mg) 50 μ L를 각각의 웰에 가하여 수행할 수 있다. 플레이트를 37°C, 5% CO₂, 95% H₂O에서 2시간 동안 항온배양하고, 웰을 PBS 200 μ L로 1회 세척하였다. 그 후 에탄올 100 μ L를 각각의 플레이트에 가하고, 플레이트를 540nm에서 판독하기 전에 20분 동안 진탕시켰다.
- [0064] 생체내 간세포독성 모델의 예는 의식이 있는 래빗 모델이다. 모델은 구속 장치(래빗 홀더)에 넣은 래빗 및 래빗의 귀 정맥으로 삽입한 정맥내 카테터를 사용한다. 시험 제품을 40분 정맥내 주입으로서 제공한다. 혈액 샘플을 귀 동맥으로부터 채취하고, 혈청과 스트렙토카니제-혈장(5%) 바이알로 수집한다. 혈액 샘플을 혈청으로 가공하고, -20°C에서 저장하고, 혈장으로 가공하고, -80°C에서 저장한다. 이어서, 샘플은 시판중인 효소 광도계 시험 키트(Greiner Biochemica)를 사용하여 ALT 및 AST 활성의 수준에 관하여 검정할 수 있다. 한편 사람 ApoA-I 수준은 비탁 검정(nephelometric assay)을 사용하여 측정할 수 있다. 바람직하게는, 고정 용량 아포지질단백질 제형에 존재시 세제의 수준은 간 독성을 나타내는 수준의 약 5 내지 35%이다. 당해 범위는 예를 들면, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30% 및 35%를 포함한다. 보다 바람직하게는, 세제의 수준은 간 독성을 나타내는 수준의 약 5 내지 20%이다. 유리하게는, 상기 수준은 간 독성을 나타내는 수준의 5 내지 10%이다. 바람직하게는, 이러한 수준은 간 독성을 나타내는 세제의 최소 또는 역치 수준에 관하여 표현된다.
- [0065] 예로서, 간 독성을 유발하거나 이를 발생시키거나 적어도 이와 연관된 것으로 나타난 세제의 수준은 Apo-AI 0.3g/g 또는 rHDL 제형 6g/L(Apo-AI 20g/L)이다. 따라서, 이러한 세제 수준의 5 내지 10%는 Apo-AI 0.015 내지 0.03g/g 또는 rHDL 제형 0.5 내지 0.9g/L(Apo-AI 30g/L)이다.
- [0066] 세제의 "수준"은 세제의 절대량, 세제의 농도(예: rHDL 제형의 단위 용적당 질량) 및/또는 rHDL 제형의 성분의 또다른 양 또는 농도에 대한 세제의 양 또는 농도의 비일 수 있다. 단지 예로서, 세제의 수준은 rHDL 제형에 존재하는 아포지질단백질(예: Apo-AI)의 총 질량에 관하여 표현할 수 있다.
- [0067] rHDL 제형의 약 0.45g/L과 아포지질단백질의 30g/L 이상의 세제 농도가 안정성 및 비독성 둘 다에 관하여 최적이다. 안정성은 당해 기술분야에 공지된 어떠한 수단에 의해서라도 유리하게 측정될 수 있지만, rHDL 제형의 탁도가 바람직한 척도이다.
- [0068] 추가의 바람직한 양태에서, 고정 용량 rHDL 제형은 지질을 간 독성을 유발하지 않는 수준으로 포함한다. 적합하게는, 지질의 수준은 간 독성을 유발하거나 이와 연관되는 수준의 약 20 내지 70%이다. 특정 양태에서, 지질의 수준은 바람직하게는 간 독성을 유발하거나 이와 연관되는 수준의 약 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60% 또는 65%, 및 이들 양 사이의 임의의 범위이다. 바람직하게는, 이들 수준은 간 독성을 나타내는 지질의 최소 또는 역치 수준에 관하여 표현한다.
- [0069] 예로서, 본 발명을 유도하는 작업에서 간 독성을 유발하거나, 발생시키거나 최소한 이와 연관되는 것으로 나타난 지질의 수준은 84g/L이다. 따라서, 지질은 바람직하게는 약 30 내지 60g/L이다. 이는 30, 35, 40, 45, 50, 55 및 60g/L 및 이들 양 사이의 임의의 범위를 포함한다. 지질의 특히 유리한 농도는 약 30 내지 50g/L, 또는 특정 양태에서는 약 34 또는 47g/L이다.

- [0070] 지질의 "수준"은 지질의 절대량, 지질의 농도(예: rHDL 제형의 단위 용적당 질량) 및/또는 고정 용량 아포지질 단백질 제형의 성분의 또 다른 양 또는 농도에 대한 지질의 양 또는 농도의 비일 수 있다. 단지 예로서, 지질의 수준은 고정 용량 rHDL 제형에 존재하는 아포지질단백질(예: Apo-AI)의 몰 비에 관하여 표현할 수 있다.
- [0071] 하나의 바람직한 양태에서, 아포지질단백질:지질의 몰 비는 1:20 내지 1:100의 범위이다. 당해 범위는 1:30, 1:40, 1:50, 1:60, 1:70, 1:80 및 1:90과 같은 몰 비를 포함한다. 보다 바람직하게는, 아포지질단백질:지질의 몰 비는 1:40 내지 1:75의 범위이다. 아포지질단백질:지질의 특히 유리한 비는 약 1:40 또는 1:55이다.
- [0072] 기타 양태에서, 아포지질단백질:지질의 몰 비는 약 1:80 내지 약 1:120의 범위이다. 예를 들면, 상기 비는 1:100 내지 1:115, 또는 1:105 내지 1:110일 수 있다. 이러한 양태에서, 상기 몰 비는 예를 들면, 1:80 내지 1:90, 1:90 내지 1:100, 또는 1:100 내지 1:110일 수 있다.
- [0073] 적합하게는, 본원에 기재된 고정 용량 아포지질단백질 제형은 안정화제를 추가로 포함한다. 특히, 안정화제는 동결건조 동안 rHDL 제형의 안정성을 유지시킨다. 적합하게는 안정화제는 당 또는 당 알콜과 같은 탄수화물이다. 적합한 당 또는 당 알콜의 예는 프럭토스, 트레할로스, 만니톨 및 소르비톨이다. 바람직하게는, 안정화제는 이당류, 예를 들면, 수크로스이다. 수크로스의 바람직한 농도는 고정 용량 아포지질단백질 제형의 약 10 내지 85g/L이다(약 1.0 내지 8.5% w/v에 상응함). 바람직하게는, 수크로스의 농도는 약 46 내지 48g/L(약 4.6 내지 4.8% w/v에 상응함) 또는 약 75g/L(약 7.5% w/v에 상응함)이며, 이는 CSL111과 같은 rHDL 제형과 비교하여 상대적으로 감소된 것이다. 이러한 상대적으로 감소된 수크로스가 본 발명의 rHDL 제형의 보다 신속한 주입 속도를 감안한 것일 수 있음을 시사한다. 기타 안정화제는 아미노산(예: 글리신, 프롤린), 산화방지제, 유화제, 계면활성제, 퀼레이트화제, 젤라틴, 합성 오일, 폴리올, 알기네이트 또는 임의의 약제학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제이거나 이를 포함할 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다. 이에 관하여, 예를 들면, 문헌[참조: "Pharmaceutical Formulation Development of Peptides and Proteins", Frokjaer et al., Taylor & Francis (2000), "Handbook of Pharmaceutical Excipients", 3rd edition, Kibbe et al., Pharmaceutical Press (2000)] 및 국제 공개공보 WO 제2009/025754호를 참조한다.
- [0074] 세제의 감소 또는 제거는 예를 들면, 여과, 소수성 흡착 또는 소수성 상호 작용 크로마토그래피, 투석, 이온-교환 흡착 및 이온-교환 크로마토그래피를 포함하는 당해 기술분야에 공지된 어떠한 수단에 의해서도 수행할 수 있다.
- [0075] 일부 양태에서, 비극성 폴리스티렌 수지는 세제 수준을 감소시키는데 적합할 수 있다. 이러한 수지는 바람직하게는 가교결합 공중합체(예: 가교결합 스티렌 및 디비닐벤젠 공중합체)의 형태로 존재한다. 비제한적 예는 앰버라이트(Amberlite) XAD-2 및 바이오 비즈(Bio Beads) SM을 포함한다.
- [0076] 여과는 당해 기술분야에서 익히 이해되어 있는 바와 같은, 젤 여과, 젤 투과, 정용여과(diafiltration) 및 한외 여과를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 젤 투과의 비제한적 예는 다공성, 가교결합 텍스트린, 예를 들면, 세파덱스(Sephadex) 수지를 이용할 수 있다.
- [0077] 대규모 제조에 특히 적합한 특히 바람직한 양태에서, 세제 수준은 정용여과에 의하여 감소된다.
- [0078] 본 발명의 바람직한 양태를 완전히 이해하고 실행에 옮길 수 있도록, 다음 비제한적 실시예를 참조한다.
- [0079] 실시예
- [0080] 서론
- [0081] 재구성된 고밀도 지질단백질(HDL)은 HDL의 주요 단백질 성분인, 정제된 사람 아포지질단백질 A-I(ApoA-I)로 이루어진다. 저 혈장 HDL은 선진국에서의 주요 사망 원인 중의 하나인, 관상동맥 질환 증가 위험과 연관된다. 결과적으로, HDL은 죽상동맥경화증의 예방용일 수 있다고 상정되어 왔다. HDL이 이의 죽상동맥경화증 예방 효과를 발휘하도록 하는 메카니즘은 복잡하고 불완전하게 이해되어 있지만, 말초 세포(동맥 세포 포함)로부터 간까지의 콜레스테롤의 유출에 연루되는 다양한 단계에서 작용하는 것으로 여겨진다.
- [0082] 상기 실시예에 기재된 rHDL 제형은 외인성 HDL을 모방하는 신규한 치료제이다. 개념의 증거는 183명의 환자의 단기간 CSL111 주입의 2a 기 연구인, ERASE 실험에서, 재구성된 HDL, CSL111의 이전 제형에 대하여 나타내었다. 그러나, CSL111의 개발은 간세포독성으로 인하여 중단되었다(상기 Tardiff et al., 2010, 보다 상세하게는 WO 제2012/000048호에 기재됨).
- [0083] 상기 실시예에 기재된 rHDL 제형은 HDL의 주요 단백질 성분인, 정제된 사람 아포지질단백질 A-1(ApoA-I)로 이루

어진다(위에서 기재된 바와 같고, 또한 WO 제2012/000048호에 보다 상세히 기재된 바와 같음).

[0084] 주요 목적은, 모델 기반의 접근법 및 몬테 칼로(Monte Carlo) 시뮬레이션을 사용한 rHDL 제형에 대한 적합한 투약 계획(체중 조절된 투약 또는 고정 투약)을 위한 정당성을 제공하는 것이었다.

[0085] 방법

[0086] 일반적 접근

[0087] 몬테 칼로 시뮬레이션은 이러한 분석에서 개발된 ApoA-I에 대한 중간 집단 PK 모델을 사용하여 수행하였다. 시뮬레이션은 ApoA-I 배치에 영향을 미치는 것으로 측정된 중요한 공변량을 포함하는 약동학(PK) 모델의 모든 성분을 사용하였다. 추정된 집단 평균(통상적인 값) 및 피검체간 변동성 값을 사용하여 중간 PK 파라미터에 대한 분포를 정의하였고, 시뮬레이션은 이러한 분포로부터의 무작위 샘플링을 사용하였다. 이러한 샘플링 공정에 의하여 기재된 무작위도는 모델 파라미터의 피검체간 변동성을 반영하였다.

[0088] 무작위하게 발생된 PK 파라미터를 사용하여 시뮬레이션에서 각각의 실제 환자에 대한 ApoA-I의 혈장 농도를 모의하였다. PK 모델로부터의 잔여 오차의 추정치를 사용하여 측정 오차를 농도 예상치로 도입하였다. 농도 예상치(이제 피검체간 변동성과 측정 오차를 둘 다 도입시킴)를 사용하여 선택된 ApoA-I 노출 메트릭스를 각각의 실제 환자에 대하여 계산하였다.

[0089] 결과를 그래프 및 표 형태로 요약한다.

[0090] 시뮬레이션 설명서

[0091] ApoA-I 노출을 다음 투약 용법 각각에 대하여 개별적으로 모의하였다:

[0092] • 90분 및 120분에 걸쳐 정맥내 주입(IVI)으로 매주 40, 70 및 100mg/kg

[0093] • 90분에 걸쳐 IVI로 매주 1.7, 3.4 및 5.1g 및 120분에 걸쳐 IVI로 매주 1.7, 3.4, 5.1 및 6.8g

[0094] • 90분 및 120분에 걸쳐 IVI로 주2회 1.7, 3.4 및 5.1g

[0095] 투약은 4주 기간 동안 지속되는 것으로 가정하였다. 주2회 용법에 대하여, 제2의 매주 용량은 제1 용량 투여 개시 후 72시간에 투여하였다.

[0096] 체중, 크레아틴 청소율(CLCR) 및 성별은 ApoA-I에 대한 피검체간 변동성의 중요한 근원으로서 확인되었으므로, 이를 환자 공변량의 임상적으로 관련된 범위를 시뮬레이션에 포함시켰다:

[0097] • 체중: ApoA-I에 대하여 60, 80, 100 및 120kg

[0098] • CLCR: 50, 80 및 140mL/min

[0099] • 연령: 20, 60 및 80세

[0100] • 동등한 비율의 남성과 여성

[0101] 각각의 시뮬레이션 설정은 각각의 관련 환자 공변량 및 투약 용법 병용을 포함하였다. 그러므로, ApoA-I 시뮬레이션 설정에서 456명의 실제 피검체(즉, 체중 값 × 3개의 CLCR 값 × 두 성별 × 19개의 투약 용법)가 존재하였다. 100개의 시뮬레이션을 수행하였다.

[0102] 혈장 농도 측정을 매주 용법에 대한 제1 투약의 개시로부터 0, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 48, 72, 96, 120 및 168시간에, 그리고 주2회 용법에 대하여 제1 투약의 개시로부터 0, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 18, 24, 36, 48, 72, 73, 73.5, 74, 75, 76, 78, 80, 90, 96, 108, 120, 144 및 168시간에 발생하도록 배정하였다. 투약 제1주 및 제4주 동안 샘플링을 수행하였다.

[0103] 목적하는 종점은 전체 혈장 농도 대 시간 프로파일 및 외인성 최대 혈장 농도(C_{max}), 각각의 투약 용법 이후 0에서 72시간까지의 곡선하의 면적(AUC_{0-72}) 및 0에서 168시간까지의 곡선하의 면적(AUC_{0-168})이었다. C_{max} 및 AUC_{0-72} 는 최초 및 최종 용량에 대하여 계산하는 한편, AUC_{0-168} 은 투여 제1주 및 최종 주에 대하여 계산하였다. 노출 측정에 대한 외인성 혈장 농도는 각 시점에서 모의된 총 혈장 농도로부터 모의된 베이스라인 혈장 농도를 빼서

계산하였다.

[0104] 결과

[0105] 투약 용법에 의한 계획된 *ApoA-I* 노출

[0106] *ApoA-I* 혈장 농도 대 시간 프로파일의 예상 중간값(도 1) 및 분포(도 2)를 투약 용법(나타낸 2시간 주입 기간)에 의하여 나타낸다. 90kg의 체중 중간값이 제공된 경우, 40mg/kg 용량에 대한 노출 중간값은 3.6g 용량을 반영하고, 3.4g 고정 용량과 유사하다(도 1 참조). 유사하게, 70mg/kg 용량에 대한 노출 중간값은 6.3g을 반영하고, 6.8g 고정 용량과 대략 유사하다.

[0107] 표 1은 투약 용법에 의한 용량 투여 제4주 동안의 *ApoA-I* 계획된 노출을 요약한다. 40mg/kg 및 3.4g 투약 용법 및 70mg/kg 및 6.8g 투약 용법에 대한 유사한 평균 노출에도 불구하고, 주입 기간에 상관 없이, 고정 투여 매주 용법과 비교하여 체중 조절된 투약 용법과 관련된 변동성이 대략 8 내지 10% 더 컸다(노출 메트릭스에서 %CV로 계산됨). 도 3 내지 5는 매주 2시간에 걸쳐 주입된 동등한 고정 용량(각각 3.6g 및 6.3g)에 비해 40mg/kg 및 70mg/kg 체중 조절된 투약 용법에 대한 노출 밴드가 약간 더 넓음을 나타낸다.

[0108] 투약 용법에 의한 *ApoA-I* 노출에 대한 체중의 효과

[0109] 고정 투약 용법에 대하여, 체중은 전체 노출(AUC)에 영향을 미치지 않은 반면, 체중이 60kg에서 120kg으로 두배가 되면 C_{max} 는 평균 16% 감소하였다(도 6 내지 8; 우측 패널). 비교에서, 체중 조절된 투약 용법에 대하여, 체중이 60kg에서 120kg으로 두 배가 되면 용량이 두 배가 되고, 노출은 선형 약동학 이론과 일치하여, 이에 따라 증가할 것으로 예상된다(도 6 내지 8; 좌측 패널). 따라서, 체중은, *ApoA-I* 노출에 체중 조절된 투약에 의해 부과된 것보다 더 적게 영향을 미쳤으며, 이는 체중 범위의 극단에서 보다 분명하였다.

[0110] 논의

[0111] 시뮬레이션 분석의 결과는 체중이, 체중 조절된 투약에 의해 부과된 것보다 *ApoA-I* 노출에 더 적게 영향을 미쳤음을 시사한다. 따라서, 체중 범위의 극단에서 체중 조절된 용법과 비교하여 고정 용량 용법과 관련된 노출의 변동성이 덜 할 것이 예상된다.

[0112] 본원에 기재된 모델링 및 시뮬레이션 결과는 광범위한 체중에 걸쳐 *ApoA-I* 노출의 변동성을 감소시키기 위하여 rHDL 제형의 고정 투약 용법의 투여를 지지한다.

[0113] 명세서에 걸쳐, 목표는 어떠한 양태 또는 특정한 특징들의 콜렉션으로도 본 발명을 제한하지 않고 본 발명의 바람직한 양태를 설명하는 것이었다. 본 발명으로부터 벗어나지 않고 기재되고 예시된 양태에 다양한 변화 및 변경을 수행할 수 있다.

[0114] 본 명세서에서 언급된 각각의 특허 및 과학 문서, 컴퓨터 프로그램 및 알고리즘의 개시는 이의 전문이 인용에 의해 포함된다.

표 1

4주 투약 용법에 의한 외인성 Apo A-I 예상 노출량

용량	주입 단위	기간(h)	번도수	AUC ₀₋₇₂	AUC ₀₋₁₆₈	C _{max}	최초:최종을 기준으로 한 누적 비		
				(mg·h/dL)	(mg·h/dL)	(mg/dL)	AUC ₀₋₇₂	AUC ₀₋₁₆₈	C _{max}
1.7 g	g	2	QW	1437(24)	1952.4(34.3)	38.8(15.7)	1.25	1.24	1.16
3.4 g	g	2	QW	2732.9(24.9)	3787.5(35.1)	79.1(16)	1.20	1.20	1.13
5.1 g	g	2	QW	4102.5(25.2)	5804.3(35.1)	120.4(16.4)	1.20	1.20	1.13
6.8 g	g	2	QW	5371.8(25.6)	7608.1(35.6)	159.7(16.2)	1.17	1.17	1.11
40 mg/kg	mg/kg	2	QW	2859.4(34.1)	3977.5(43.7)	82.2(25.1)	1.20	1.20	1.14
70 mg/kg	mg/kg	2	QW	4845.1(34)	6770.2(43.1)	144.1(24.7)	1.17	1.16	1.11
100 mg/kg	mg/kg	2	QW	6852.7(35.1)	9638.6(44.6)	207.4(24.9)	1.15	1.15	1.10
1.7 g	g	1.5	QW	1423.2(24.9)	1891.6(35.4)	40.1(16)	1.24	1.19	1.15
3.4 g	g	1.5	QW	2757(24.2)	3840.9(33.9)	81.5(16.3)	1.19	1.20	1.12
5.1 g	g	1.5	QW	4023.4(25.4)	5672.1(35.7)	123.2(15.9)	1.17	1.18	1.12
40 mg/kg	mg/kg	1.5	QW	2810.9(33.4)	3896.2(42.8)	84.6(24.1)	1.18	1.19	1.13
70 mg/kg	mg/kg	1.5	QW	4900.7(34.2)	6910.7(43.2)	148.3(24.4)	1.18	1.17	1.12
100 mg/kg	mg/kg	1.5	QW	6937.5(34.9)	9743.4(44.6)	214.8(24.1)	1.16	1.16	1.11
1.7 g	g	2	BW	1845.9(33.4)	3885.1(35)	47.3(19.9)	1.60	1.33	1.42
3.4 g	g	2	BW	3575.7(34)	7498.4(35.8)	96.8(19.4)	1.57	1.28	1.39
5.1 g	g	2	BW	5320.6(33.5)	11127.8(35.3)	147.2(19.1)	1.55	1.25	1.37
1.7 g	g	1.5	BW	1845.9(33.4)	3884.6(35)	48.6(19.6)	1.60	1.33	1.41
3.4 g	g	1.5	BW	3575.8(34)	7497.7(35.8)	99.3(19.1)	1.56	1.28	1.38
5.1 g	g	1.5	BW	5320.9(33.5)	11126.6(35.3)	150.4(18.7)	1.54	1.25	1.36

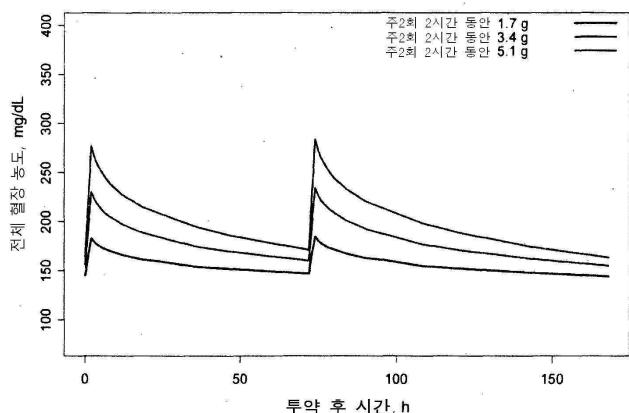
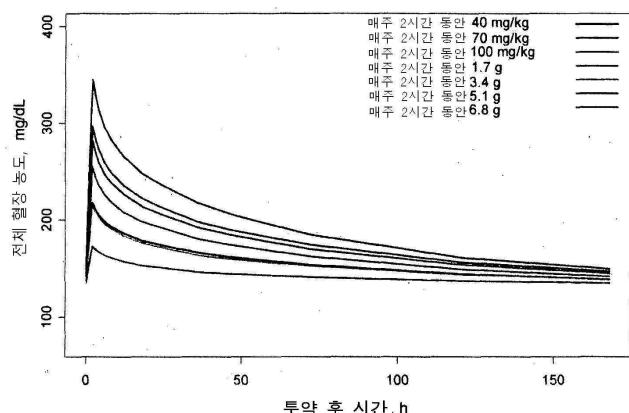
수치들은 평균(%CV)이고, 통상적인 피검체(체중 = 90kg, CLCR = 80mL/min)를 반영하며, 남성과 여성에 걸쳐 평균낸 것이다.

QW = 매주 투약, BW = 주2회 투약

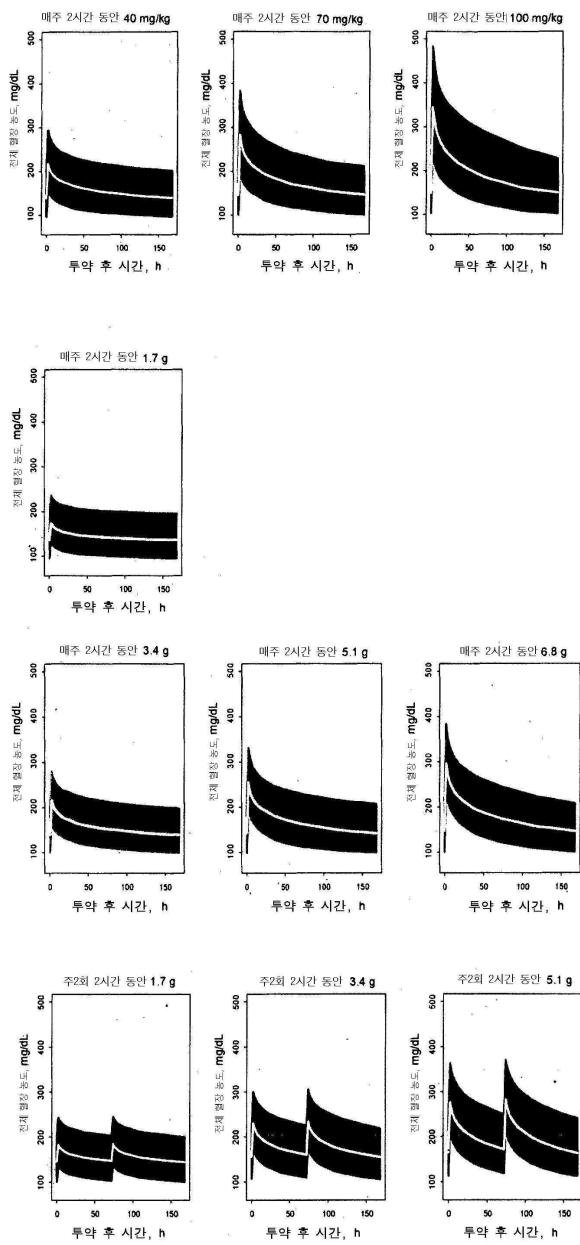
[0115]

도면

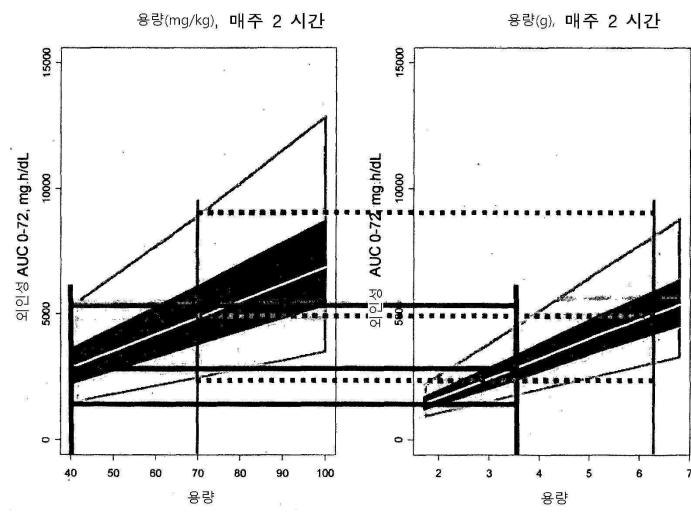
도면 1



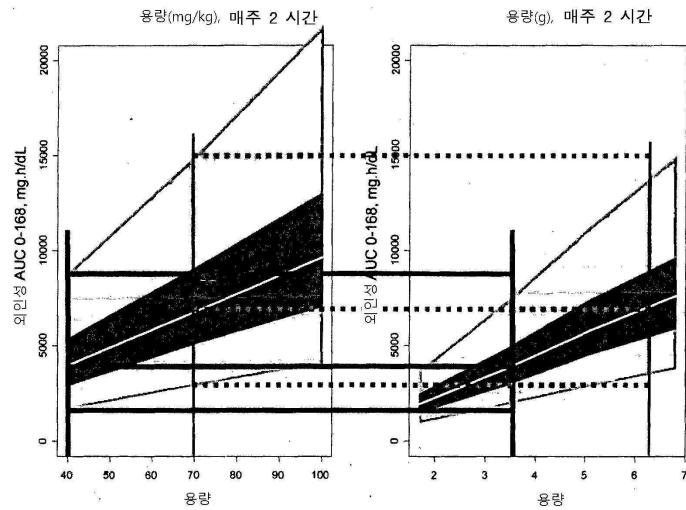
도면2



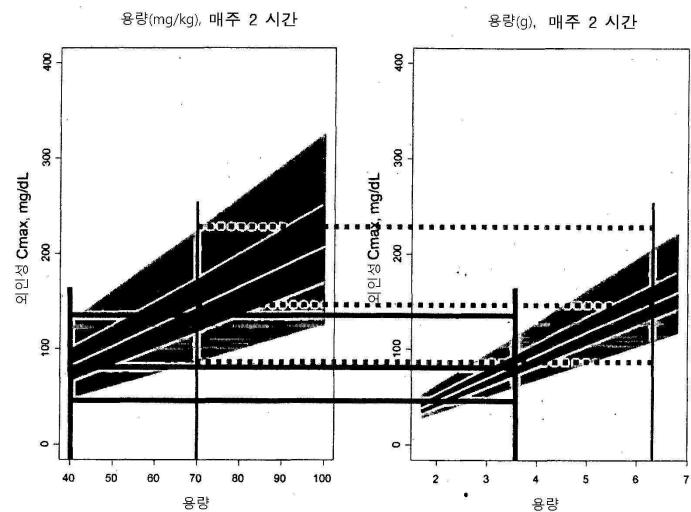
도면3



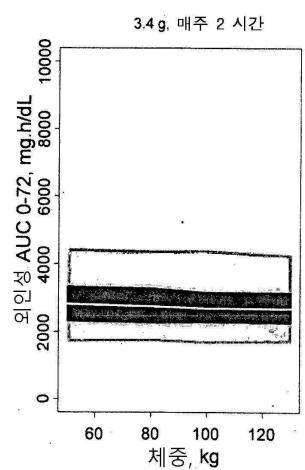
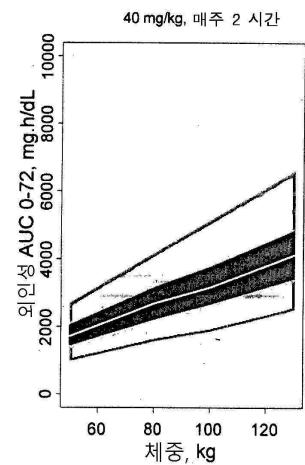
도면4



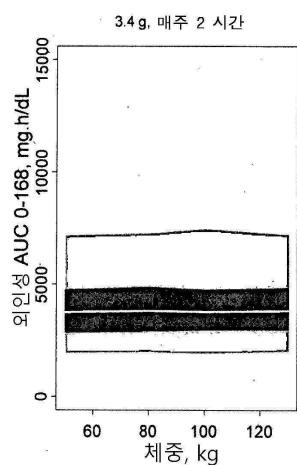
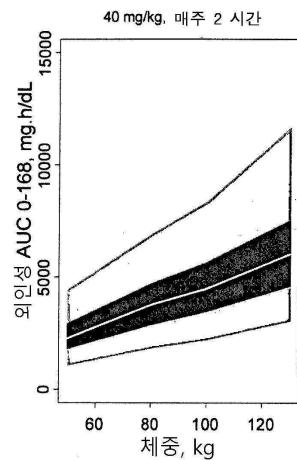
도면5



도면6



도면7



도면8

