



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I882950 B

(45)公告日：中華民國 114 (2025) 年 05 月 11 日

(21)申請案號：107138053

(22)申請日：中華民國 107 (2018) 年 10 月 26 日

(51)Int. Cl. : A61K31/445 (2006.01)

A61K38/47 (2006.01)

A61K9/08 (2006.01)

A61K47/12 (2006.01)

A61K47/24 (2006.01)

A61K47/26 (2006.01)

A61P25/00 (2006.01)

(30)優先權：2017/10/26 美國

62/577,429

(71)申請人：日商武田藥品工業股份有限公司(日本) TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED (JP)

日本

(72)發明人：朴 隆熙 PARK, YUNG HEE (US)；陳 思 CHEN, NANCY (CA)；胡軍 HU, JUN (CN)；梅亞潘 穆瑟拉曼 MEIYAPPAN, MUTHURAMAN (US)；米勒 湯瑪士 艾倫 MILLER, THOMAS ALLEN (US)

(74)代理人：陳長文

審查人員：簡正芳

申請專利範圍項數：22 項 圖式數：21 共 84 頁

(54)名稱

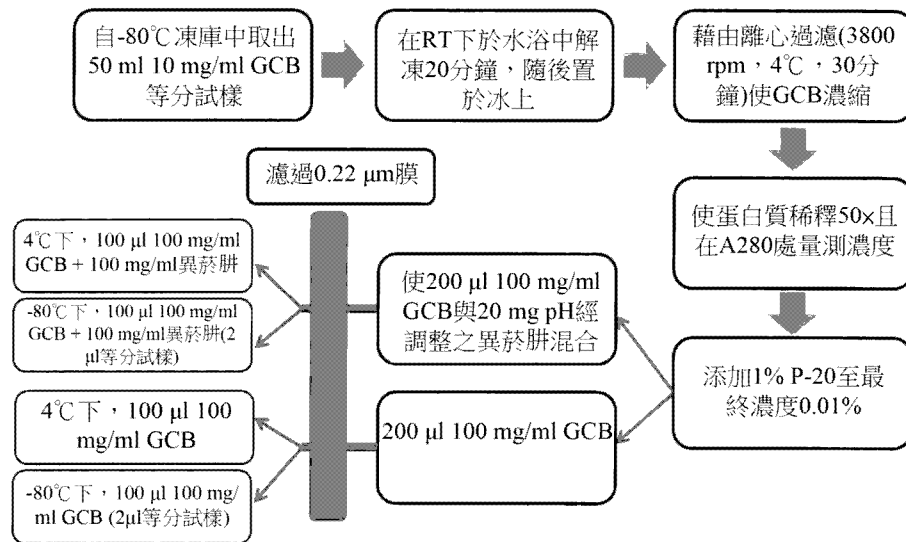
包含葡萄糖腦苷脂酶及異煙胍之調配物

(57)摘要

本發明提供一種葡萄糖腦苷脂酶(諸如維拉甘酶 α (velaglucerase alfa))及異煙胍(isofagomine)之莫耳比至少約 1:2.5 之組合物。亦提供該組合物之用途，其用於治療與 GCase 路徑中功能異常相關之病症。該病症可為溶酶體儲積病，諸如高歇氏(Gaucher)病、法布瑞氏(Fabry)症、龐培氏(Pompe)症、黏多醣病或多系統萎縮。該病症亦可為神經退化性病症，諸如帕金森氏病、阿茲海默氏病或路易體性癡呆。該組合物可具有 0.5 至 5.0 mg/kg 之葡萄糖腦苷脂酶及至少約 3 倍莫耳量超過該葡萄糖腦苷脂酶之異煙胍。可靜脈內或皮下投與該組合物。

The invention provides a composition of glucocerebrosidase, such as velaglucerase alfa, and isofagomine, in a molar ratio of at least about 1:2.5. Also provided is a use of the composition for treatment of a disorder related to a dysfunction in a GCase pathway. The disorder could be a lysosomal storage disease, such as Gaucher disease, Fabry disease, Pompe disease, a mucopolysaccharidoses, or multiple system atrophy. The disorder could also be a neurodegenerative disorder, such as Parkinson disease, Alzheimer's disease, or Lewy body dementia. The composition can have 0.5 to 5.0 mg/kg of glucocerebrosidase and isofagomine in at least about a 3-fold molar excess to the glucocerebrosidase. The composition can be administered intravenously or subcutaneously.

指定代表圖：



【圖1】



I882950

【發明摘要】

【中文發明名稱】

包含葡萄糖腦苷脂酶及異煙肼之調配物

【英文發明名稱】

FORMULATIONS COMPRISING GLUCOCEREBROSIDASE AND
ISOFLAGOMINE

【中文】

本發明提供一種葡萄糖腦苷脂酶(諸如維拉昔酶 α (velaglucerase alfa))及異煙肼(isofagomine)之莫耳比至少約1:2.5之組合物。亦提供該組合物之用途，其用於治療與GCCase路徑中功能異常相關之病症。該病症可為溶酶體儲積病，諸如高歇氏(Gaucher)病、法布瑞氏(Fabry)症、龐培氏(Pompe)症、黏多醣病或多系統萎縮。該病症亦可為神經退化性病變，諸如帕金森氏病、阿茲海默氏病或路易體性癡呆。該組合物可具有0.5至5.0 mg/kg之葡萄糖腦苷脂酶及至少約3倍莫耳量超過該葡萄糖腦苷脂酶之異煙肼。可靜脈內或皮下投與該組合物。

【英文】

The invention provides a composition of glucocerebrosidase, such as velaglucerase alfa, and isofagomine, in a molar ratio of at least about 1:2.5. Also provided is a use of the composition for treatment of a disorder related to a dysfunction in a GCCase pathway. The disorder could be a lysosomal storage disease, such as Gaucher disease, Fabry disease, Pompe disease, a mucopolysaccharidoses, or multiple system atrophy. The disorder could also be a neurodegenerative disorder, such as Parkinson disease, Alzheimer's disease, or Lewy body dementia. The

composition can have 0.5 to 5.0 mg/kg of glucocerebrosidase and isofagomine in at least about a 3-fold molar excess to the glucocerebrosidase. The composition can be administered intravenously or subcutaneously.

【指定代表圖】

圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

包含葡萄糖腦苷脂酶及異煙肼之調配物

【英文發明名稱】

FORMULATIONS COMPRISING GLUCOCEREBROSIDASE AND
ISOFAGOMINE

【技術領域】

【先前技術】

【0001】 葡萄糖腦苷脂(GCB)係一種蛋白質藥物，其可能用於治療高歇氏病(Gaucher disease)，即以(GCB)缺失為特徵之體染色體隱性溶酶體儲積病症。

【0002】 高歇氏病係由GBA基因突變引發之體染色體隱性病變，其導致溶酶體酶 β -葡萄糖腦苷脂酶之缺失。葡萄糖腦苷脂酶催化神經鞘脂葡萄糖腦苷脂向葡萄糖及腦醯胺之轉化。酶缺失導致葡萄糖腦苷脂主要累積於巨噬細胞之溶酶體間隔中，產生泡沫細胞或「高歇氏細胞(Gaucher cell)」。在高歇氏病中，取決於突變之一或多個胺基酸，突變體GCCase之各種形式具有較低、幾乎無或無葡萄糖苷腦醯胺裂解活性。此病症之嚴重性係與剩餘酶活性之相對水平及受質累積之最終程度相關。

【0003】 GCB係水解醣脂葡萄糖腦苷脂的溶酶體酶，該醣脂葡萄糖腦苷脂係在白血球及紅血球之膜中的醣神經鞘脂質分解後形成。缺失此酶導致葡萄糖腦苷脂大量累積於位於高歇氏患者之肝、脾及骨髓中之吞噬細胞的溶酶體中。此等分子之累積導致一系列表現形式，包括脾腫大、肝腫大、骨骼病、血小板減少症及貧血(Beutler等人「Gaucher disease」 The

Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease (McGraw-Hill, Inc, New York, 1995, 第2625-2639頁)。

【0004】維拉昔酶 α (velaglucerase alfa)係用於治療高歇氏病之一種形式的GCB。VPRIV係含有維拉昔酶 α 之調配物。維拉昔酶 α 催化葡萄糖腦苷脂的水解，減少葡萄糖腦苷脂的累積量。在臨床試驗中，VPRIV使脾及肝尺寸減小，且改善貧血及血小板減少症。

【0005】VPRIV及維拉昔酶 α 及其他含有蛋白質的類似藥物產品係以液體或凍乾(亦即，冷凍-乾燥)形式儲存。凍乾藥物產品經常藉由僅在患者使用之前添加合適投與稀釋劑而重構。由於包括變性及聚集之物理不穩定性以及包括例如水解、脫醯胺及氧化之化學不穩定性，呈液體或凍乾形式之維拉昔酶 α 或GCB的量可減少。

【0006】需要具有GCB、VPRIV或維拉昔酶 α 之改良穩定性的改良調配物，尤其適用於皮下(SC)投與之彼等調配物。在24小時內，GCB在室溫下具有小於30 mg/mL之溶解度界限。用於SC注射產品之實用體積通常係2.5 mL或更小。此有必要具有可濃縮為水平高度足以投與治療上充足劑量之調配物。此外，理想地，調配物將在室溫下或在冷藏條件下具有合適儲存穩定性。

【0007】亦需要具有GCB、VPRIV或維拉昔酶 α 之改良生物可用性之用於SC投與的調配物。靜脈內(IV)投與之現行VPRIV調配物提供大約1%之血清生物可用性。皮下(SC)投與將不可能提供與IV投與之組織曝露量相當的組織曝露量。作為IV投與之藥物，GCB具有小於15分鐘之血清半衰期。改良之血清穩定性將允許更多SC投與之GCB分散至SC間隔外部且分散至全身循環中。血清穩定性提昇亦將能夠保持高循環GCB濃度，因

此使單核細胞、巨噬細胞及組織中之組織細胞能夠吸收更多GCB。

【發明內容】

【0008】 在一個態樣中，提供一種組合物，其以1:1或至少約1:>1 (例如，1:x，其中x大於1)之莫耳比包含葡萄糖苷腦苷脂酶(GCB)及異煙肼(IFG)。在一些實施例中，GCB係維拉昔酶 α (velaglucerase alfa)。維拉昔酶 α 係以重組方式產生之酶，其胺基酸序列與人類細胞株中產生之自然生成的人類GCB相同，且係尤其適用於實施本發明之GCB形式。在一些實施例中，組合物之pH係約6.0。在一些實施例中，組合物之pH係約6.5。在一些實施例中，組合物之pH係約7.0。在一些實施例中，GCB與IFG之莫耳比係約1:1至約1:30。在一些實施例中，GCB與IFG之莫耳比係約1:1至約1:10。在一些實施例中，GCB與IFG之莫耳比係約1:1至約1:5。在一些實施例中，GCB與IFG之莫耳比係約1:2至約1:10。在一些實施例中，GCB與IFG之莫耳比係約1:2.5至約1:10。在一些實施例中，GCB與IFG之莫耳比係約1:2.5至約1:5。在一些實施例中，GCB與IFG之莫耳比係約1:10至約1:30。在一些實施例中，GCB與IFG之莫耳比係約1:30至約1:100。在一些實施例中，GCB與IFG之莫耳比係約1:2.5至約1:3.5。在一些實施例中，GCB與IFG之莫耳比係約1:3.0。在一些實施例中，GCB與IFG之莫耳比係1:3.0，其尤其適用於實施本發明。

【0009】 在一些實施例中，組合物在至少20°C之溫度下。在一些實施例中，組合物在0°C至20°C之溫度下。在一些實施例中，組合物在低於0°C之溫度下。在一些實施例中，組合物係水溶液。在一些實施例中，組合物係凍乾物。

【0010】 在一些實施例中，組合物進一步包含醫藥學上可接受之賦

形劑、醫藥學上可接受之鹽或醫藥學上可接受之賦形劑與醫藥學上可接受之鹽二者。

【0011】 在一些實施例中，IFG係酒石酸異煙胍(IFGT)。在一些實施例中，酒石酸異煙胍係D-酒石酸異煙胍。IFGT及特定而言D-酒石酸異煙胍係尤其適用於實施本發明之IFG的鹽。酒石酸異煙胍可有利地提高血清中之GCB活性，使其高於一般使用2.5 mg/kg之皮下劑量所獲得之上限。相應地，尤其當莫耳比係至少1:3.0 GCB: IFGT時，與IFGT共調配之GCB可提供允許皮下投與之血清生物可用性。IFTG共調配物亦提高GCB之總體酶活性。在一些實施例中，IFG不同於酒石酸異煙胍。在一些實施例中，組合物係液體。在一些實施例中，組合物進一步包含抗氧化劑。在一些實施例中，組合物進一步包含碳水化合物。在一些實施例中，組合物進一步包含界面活性劑。在一些實施例中，組合物包含45-120 mg/mL維拉昔酶 α 及0.2-1.8 mg/mL D-酒石酸異煙胍。在一些實施例中，組合物包含60 mg/mL維拉昔酶 α 及0.9 mg/mL D-酒石酸異煙胍。

【0012】 在一些實施例中，組合物進一步包含檸檬酸鹽或磷酸鹽及聚山梨醇酯20 (例如，50 mM檸檬酸鈉或磷酸鈉，及0.01%聚山梨醇酯20)。在一些實施例中，組合物進一步包含5-20 mM檸檬酸鈉及0.01%聚山梨醇酯20。在一些實施例中，組合物進一步包含10 mM檸檬酸鈉及0.01%聚山梨醇酯20。在一些實施例中，組合物進一步包含5-20 mM磷酸鈉及0.01%聚山梨醇酯20。在一些實施例中，組合物進一步包含10 mM磷酸鈉及0.01%聚山梨醇酯20。在一些實施例中，組合物進一步包含5-20 mM檸檬酸鈉及0.01% (w/v)聚山梨醇酯20。在一些實施例中，組合物進

一步包含10 mM檸檬酸鈉及0.01% (w/v)聚山梨醇酯20。在一些實施例中，組合物進一步包含5-20 mM磷酸鈉及0.01% (w/v)聚山梨醇酯20。在一些實施例中，組合物進一步包含10 mM磷酸鈉及0.01% (w/v)聚山梨醇酯20。在一些實施例中，組合物進一步包含5-20 mM檸檬酸鈉及0.01% (v/v)聚山梨醇酯20。在一些實施例中，組合物進一步包含10 mM檸檬酸鈉及0.01% (v/v)聚山梨醇酯20。在一些實施例中，組合物進一步包含5-20 mM磷酸鈉及0.01% (v/v)聚山梨醇酯20。在一些實施例中，組合物進一步包含10 mM磷酸鈉及0.01% (v/v)聚山梨醇酯20。在一些實施例中，組合物係呈約pH 6.0。在一些實施例中，組合物係呈pH 6.0。

【0013】 在另一態樣中，提供一種容器，其包含本文所述之組合物的任一者。在一些實施例中，容器係選自由以下組成之群：載藥之注射器、小瓶或安瓿。

【0014】 在另一態樣中，提供一種製備本文所述之組合物的任一者之方法。方法包含溶解IFG (例如，於水中)、將pH調整至約6.0且添加GCB以生成組合物。在一些實施例中，方法進一步包含在添加GCB之前凍乾IFG。在一些實施例中，方法進一步包含添加聚山梨醇酯20至0.01%。在一些實施例中，方法進一步包含添加聚山梨醇酯20至0.01% (w/v)。在一些實施例中，方法進一步包含添加聚山梨醇酯20至0.01% (v/v)。在一些實施例中，方法進一步包含使組合物濾過0.22 μm 膜。在一些實施例中，IFG之存在量足以保持組合物中GCB之穩定性。在一些實施例中，IFG之存在量足以在0-50 $^{\circ}\text{C}$ 下保持組合物中GCB之穩定性持續至少三日。在一些實施例中，IFG之存在量足以在0-40 $^{\circ}\text{C}$ 下保持組合物中GCB之穩定性持續至少6個月。

【0015】 在另一態樣中，提供一種治療與GCase路徑中功能異常相關之病症的方法，其包含投與本文所述之組合物的任一者。在一些實施例中，方法有效治療該病症。在一些實施例中，靜脈內或皮下投與組合物。在一些實施例中，皮下投與組合物，例如藉由皮下注射，其尤其適用於實施本發明。在一些實施例中，每週兩次、每週一次、少於每週一次或每隔一週一次地投與組合物。通常，本文所述之組合物係藉由每週一次或兩次、或每隔一週一次地注射進行皮下投與。相較於類似靜脈內劑量之GCB一者，本文所述皮下投與之組合物(特定而言，具有IFGT之調配物)可提供明顯更高血清曝露量。更高血清生物可用性有利地使需要投與至受試者之皮下注射次數減少。舉例而言，每次治療需要投與更少注射量，從而獲得治療有效量且/或皮下注射之間的時間間隔可延長。

【0016】 在另一態樣中，本文所述之組合物用於療法中。在一個實施例中，本文所述之組合物係用於治療與如本文揭示GCase路徑中之功能異常相關之病症的方法中。在另一實施例中，本文所述之組合物係用於例如藉由本文揭示之方法製造用於治療與GCase路徑中之功能異常相關之病症的藥品。在一些實施例中，靜脈內或皮下投與組合物。在一些實施例中，皮下投與組合物，例如藉由皮下注射。在一些實施例中，每週兩次、每週一次、少於每週一次或每隔一週一次地投與組合物。通常，本文所述之組合物係藉由每週一次或兩次、或每隔一週一次地注射進行皮下投與。

【0017】 在一些實施例中，病症包含GCase活性缺陷。在一些實施例中，GCase活性缺陷包含酶活性降低。在一些實施例中，病症包含 α -突觸核蛋白失調。在一些實施例中，病症係溶酶體儲積病，例如，高歇氏病(Gaucher disease)、法布瑞氏症(Fabry disease)、龐培氏症(Pompe

disease)、黏多醣病或多系統萎縮。本文所述之組合物尤其適用於治療高歇氏病。在一些實施例中，病症係神經退化性病變，例如，帕金森氏病 (Parkinson disease)、阿茲海默氏病 (Alzheimer's disease) 或路易體性癡呆 (Lewy body dementia)。

【0018】 在另一態樣中，提供一種治療GCCase路徑中功能異常之方法，其包含向有需要之受試者投與本文所述之組合物的任一者。在一些實施例中，受試者係人類。

【0019】 在另一態樣中，提供一種治療GCCase路徑中功能異常之方法，其包含向受試者投與包含0.5至5.0 mg/kg GCB及IFG之組合物，例如，其中IFG之莫耳量超過GCB至少約1倍、1.25倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、4倍或5倍，其中皮下投與組合物。在另一態樣中，提供一種包含0.5至5.0 mg/kg GCB及IFG之組合物，例如，其中IFG之莫耳量超過GCB至少約1倍、1.25倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、4倍或5倍，該組合物用於治療GCCase路徑中功能異常之方法中，其中皮下投與組合物。在另一態樣中，提供包含0.5至5.0 mg/kg GCB及IFG之組合物的用途，例如，其中IFG之莫耳量超過GCB至少約1倍、1.25倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、4倍或5倍，該組合物用於製造用於治療GCCase路徑中功能異常之方法的藥品。在一些實施例中，以不提高內源血清GCB活性之量投與組合物中之IFG。在一些實施例中，組合物包含0.8至4.0 mg/kg GCB。在一些實施例中，組合物包含1.0至3.0 mg/kg GCB。在一些實施例中，組合物包含1.2至2.0 mg/kg GCB。在一些實施例中，組合物包含約1.5 mg/kg GCB。在一些實施例中，組合物包含1.5 mg/kg GCB。在一些實施例中，組合物包含2.0至5.0 mg/kg GCB。在一些實施例中，組合物包含2.25至4.5

mg/kg GCB。在一些實施例中，組合物包含2.25至3.75 mg/kg GCB。在一些實施例中，組合物包含3.5至5.0 mg/kg GCB。在一些實施例中，IFG與GCB之莫耳比係1至5或1至10。在一些實施例中，IFG與GCB之莫耳比係2至10。在一些實施例中，IFG與GCB之莫耳比係10至30。在一些實施例中，IFG與GCB之莫耳比係30至100。在一些實施例中，IFG與GCB之莫耳比係2.5至3.5。在一些實施例中，IFG與GCB之莫耳比係3。在一些實施例中，例如，相對於IV單獨投與相等量之GCB的曝露量、活性或生物可用性，GCB之曝露量、活性或生物可用性提高。在一些實施例中，脾中GCB之曝露量、活性或生物可用性提高。在一些實施例中，肝中GCB之曝露量、活性或生物可用性提高。在一些實施例中，血清中GCB之曝露量、活性或生物可用性提高。

【圖式簡單說明】

專利或申請文件含有至少一個彩色圖示。在需要且支付必要費用時，辦公室將提供具有彩色圖示之本專利或專利申請公開案之副本。

圖1係繪示用於製備葡萄糖腦苷脂酶(GCB)與異煙肼(IFG)調配物之製程的流程圖。

圖2A及2B繪示添加IFG後第一日(2A)及添加IFG後兩週(2B)之GCB樣本的SDS-PAGE測試。未進行IFG之pH調整。

圖3顯示含有pH經調整之酒石酸異煙肼(IFGT)的凍乾溶液之艾本德管(Eppendorf tube)。

圖4A及4B繪示添加IFG後同日(4A)及儲存三日後(4B)之GCB樣本的SDS-PAGE測試。IFG之pH經調整。

圖5繪示添加至GCB中pH經調整之IFGT的粒徑篩析層析法(SEC)分

析之結果。

圖6A及6B繪示添加至GCB中pH經調整之IFGT的粒徑篩析層析法 (SEC)分析之結果。

圖7A-7D繪示結合於GCB之IFG的表面電漿子共振研究之結果。

圖8繪示來自奈米示差掃描螢光測定法(nano-DSF)分析之結果，該分析評估GCB熔融溫度，該溫度隨1:3至1:100 GCB:IFG範圍內之不同IFG莫耳比而變化。

圖9A-9C繪示用IFGT預培育之維拉昔酶 α (velaglucerase alpha)上所進行之酶活性反應結果。圖9A顯示使用合成比色pNP-GPS受質的抑制曲線。圖9B顯示使用合成螢光4MU-GPS受質的抑制曲線。圖9C顯示使用天然醣神經鞘脂質C12-GluCer受質的抑制。

圖10A顯示在40°C下儲存三週之GCB/IFGT樣本的外觀。圖10B顯示儲存三週之GCB/IFGT樣本的SDS-PAGE分析。第1-3組(G1、G2、G3)之溶液顯得清澈。第4組(G4)溶液顯得渾濁。

圖11顯示GCB免疫組織化學分析(IHC)之陰性及陽性對照，其來自石蟹獼猴中靜脈內GCB及具有IFG之皮下GCB的藥物動力學研究。

圖12顯示皮下注射GCB (上部格塊)及靜脈內注射GCB (下部格塊)後，各種時間點處2×放大率下肝中GCB之染色。

圖13顯示皮下注射GCB (上部格塊)及靜脈內注射GCB (下部格塊)後，各種時間點處20×放大率下肝中GCB之染色。

圖14顯示皮下注射GCB (上部格塊)及靜脈內注射GCB (下部格塊)後，各種時間點處2×放大率下脾中GCB之染色。

圖15顯示皮下注射GCB (上部格塊)及靜脈內注射GCB (下部格塊)

後，各種時間點處20×放大率下脾中GCB之染色。

圖16A及16B顯示投與維拉昔酶 α (16A)及以1:3莫耳比投與維拉昔酶 α 與IFGT (16B)後，肝及脾均質物中維拉昔酶 α 蛋白質及酶活性水平之分析結果。

圖16C顯示皮下投與維拉昔酶 α 與IFGT後，石蟹獼猴中GCB之血清活性水平的分析結果。

圖17A及17B顯示以範圍係(1:3至1:100)之不同莫耳比皮下投與4 mg/kg維拉昔酶 α 及IFG後，GCB之血清生物可用性的ECL ELISA分析結果(17A)及GCB活性分析結果(17B)。

圖18A及18B顯示靜脈內投與10 mg/kg維拉昔酶 α 或以1:100莫耳比皮下投與4 mg/kg維拉昔酶 α 及IFG後，肝(18A)及脾(18B)中GCB含量情況的ECL ELISA分析結果。

圖19A及19B顯示以1:3莫耳比皮下投與4 mg/kg維拉昔酶 α 及IFG後，肝(19A)及脾(19B)中GCB含量的ECL ELISA分析結果。

圖20A及20B顯示以範圍係(1:1至1:30)之不同莫耳比皮下投與1.5 mg/kg維拉昔酶 α 及IFG後，GCB之血清生物可用性的ECL ELISA分析結果(20A)及GCB活性分析結果(20B)。

圖21顯示在37°C下以無IFG、3 nM IFG、10 nM IFG、30 nM IFG、100 nM IFG、300 nM IFG及1000 nM IFG培育之人類血清中VPRIV的活性分析結果。

【實施方式】

相關申請案之交叉引用

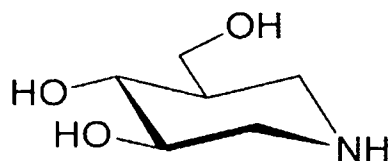
【0020】本申請案要求2017年10月26日申請之美國臨時申請案第

62/577,429號之優先權，其揭示內容以全文引用方式併入本文中。

概覽

【0021】 諸如當組合物係液體時，包含葡萄糖腦苷脂酶(GCB)之組合物可能得益於提高之穩定性。GCB中三種曝露之游離硫醇基可例如藉由GCB分子聚集而進行導致穩定性降低之反應。舉例而言，在pH係6之緩衝液中，通常1-2%之蛋白質已在儲存一個月時聚集，且約15%已在儲存6個月後聚集。儘管不希望嚴格束縛於理論或機制，但蛋白質穩定性仍受諸多因素影響。

【0022】 添加例如酒石酸異煙胍(IFGT)之異煙胍(IFG)提昇體外GCB穩定性，尤其在例如IFGT之IFG經添加至GCB中之前調整至pH 6.0時更甚。IFG具有以下結構：



【0023】 在不希望束縛於理論之情況下，IFG可能與位於活性位點附近之胺基酸相互作用以將GCB鎖於提供較高穩定性之構形中。參見Shen, J.S.等人, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 2008, 369:1071-1075。IFG亦可防止GCB聚集，此係因為IFG可與GCB結合以使GCB更緊密且熱穩定性更高。

【0024】 本發明人已表明，IFG與GCB之莫耳比對液體組合物中GCB之穩定至關重要。如本申請案通篇更詳細地描述，莫耳比係至少1:2.5 (GCB:IFG) (亦即，1:x (其中x係至少2.5))之組合物可能具有大幅減少之GCB聚集及分解。當莫耳比遠低於1:2.5時，可能存在大幅增加之GCB聚集及分解。

【0025】本發明人亦已表明，在皮下投與時，IFG/IFGT與GCB之莫耳比係至少1:2.5 (GCB:IFG)之組合物具有改良之GCB生物可用性、活性、組織曝露量及全身曝露量。改良之生物可用性可能藉由以下之一或多者檢測：肝中GCB之組織染色增加、脾中GCB之組織染色增加、血清中GCB之濃度提高、血清中GCB活性提高。提高之全身曝露量可能藉由量測血清中GCB之蛋白質濃度或GCB之酶活性加以分析。以至少1:2.5 (GCB:IFG)之莫耳比將例如IFGT之IFG添加至GCB中可使皮下調配物中之GCB的生物可用性、活性、組織曝露量或全身曝露量類似於或大於靜脈內調配物、尤其不含IFG之調配物中的GCB生物可用性、活性、組織曝露量或全身曝露量。

定義

【0026】術語「受試者」指代任何哺乳動物，包括(但不限於)如此分類之任何動物，包括人類、非人類靈長類、靈長類、狒狒、黑猩猩、猴子、鼠(例如，小鼠、大鼠)、兔、貓、狗、馬、牛、綿羊、山羊、豬等。術語「受試者」可與術語「患者」互換使用。

【0027】術語「分離之」指代基本脫離其自然環境之分子。舉例而言，分離之蛋白質基本不含來自衍生該蛋白質的細胞或組織源之細胞材料或其他蛋白質。充分純化包含分離之蛋白質的製劑以作為治療組合物投與，或純化至少70%至80% (w/w)、更佳純化至少80%至90% (w/w)、甚至更佳純化90%至95%；且最佳純化至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、99.8%或100% (w/w)。

【0028】如本文所用，術語「約」指代達至此術語所限之值的+/- 10%。舉例而言，約50 mM指代50 mM +/- 5 mM；約4%指代4% +/-

0.4%。

【0029】如本文所用，短語「非經腸投與(parenteral administration /administered parenterally/administer parenterally)」指代非腸內及局部投與之投與模式，通常藉由注射，且包括(但不限於)靜脈內(IV)、肌內、動脈內、鞘內、囊內、眶內、心內、皮內、腹膜內、經氣管、皮下(SC)、表皮下、關節內、囊下、蛛網膜下、脊椎內、硬膜外及胸骨內注射及輸液。

【0030】術語「治療有效劑量」及「治療有效量」指代預防症狀之化合物的量，例如，預防80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%症狀(例如，診斷患有高歇氏病之受試者中的高歇氏病症狀)、推遲症狀發作或改善高歇氏病之症狀。舉例而言，治療有效量將足以治療、預防、緩解與高歇氏病相關之病症的一或多種症狀的嚴重性、推遲其發作且/或降低其發生之風險。可藉由本領域中所熟知的方法且如本文之後續章節中所描述以確定有效量。

【0031】術語「治療」及「治療方法」指現有病症之治療及/或預防疾病性/預防性方法。需要治療者可包括已患有特定醫學病症之個體，以及具有患病風險或可能最終患有該病症之個體。舉例而言，藉由一或多個與以下相關之風險因子的存在評估治療需求：病症之發展、病症之存在或進行，或治療患有該病症之個體的可能接受性。治療可包括減緩或逆轉病症之進行。

【0032】術語「治療」指以有效改善或預防病症(例如本文所述之病症)相關之病況、症狀或參數或預防病症之發作、進行或惡化至統計上顯著程度或熟習此技術者可檢測程度之量、方式及/或模式投與療法。因

此，治療可達成治療性及/或預防性效益。有效量、方式或模式可根據個體變化，且可為個體定作。在某些實施例中，與GCase路徑中功能異常相關病症(例如高歇氏病)的治療係導致以下一或多者的治療：例如在未治療GCase路徑中功能異常之個體中，血紅素濃度提高、血小板含量增加、肝體積減小、脾體積減小或骨骼參數變化(例如骨礦物質密度提高)。在某些實施例中，與GCase路徑中功能異常相關病症(例如高歇氏病)的治療係導致以下一或多者的治療：例如在已治療GCase路徑中功能異常之個體中，血紅素濃度提高、血小板含量增加、肝體積減小、脾體積減小或骨骼參數變化(例如骨礦物質密度提高)，或維持此等參數之一或多者。

【0033】 術語「組合」指使用兩種或更多種藥劑或療法治療相同患者，其中藥劑或療法之使用或作用在時間上重疊。可同時(例如作為單一調配物投與患者或作為兩種分開調配物同時投與)或以任何次序相繼投與藥劑或療法。

【0034】 如本文所用，術語「持續釋放」、「持續釋放投遞」及「持續釋放藥物投遞」意指藥物之單次投與使血液中藥物之有效濃度持續長時間段，例如12小時或更長。舉例而言，多肽之一般投與途徑係皮下、肌內或靜脈內(IV)注射。

【0035】 術語「鹽」包括游離酸或游離鹼之加成鹽。術語「醫藥學上可接受之鹽」指代毒性情況介於提供醫藥應用中之用途範圍內的鹽。非醫藥學上可接受之鹽的鹽可能仍因諸如高結晶性之特性而適用於合成、純化或調配。

【0036】 關於GCB、維拉昔酶或維拉昔酶 α 之術語「單位」指代在37°C下每分鐘將一微莫耳對硝基苯 β -D-葡萄糖吡喃糖苷轉化為對硝基苯酚，

或4-甲基傘形酮 β -D-葡萄糖吡喃糖苷轉化為4-甲基傘形酮所需之GCB、維拉昔酶或維拉昔酶 α 的量。

葡萄糖腦苷脂酶

【0037】維拉昔酶係由人類細胞株中基因活化產生之人類 β -葡萄糖腦苷脂酶，諸如藉由與激活所選人類細胞株中內源 β -葡萄糖腦苷脂酶基因之啟動子標靶重組。維拉昔酶分泌為大約63 kDa之單體醣蛋白。維拉昔酶係由497個胺基酸構成，其序列與天然人類蛋白質相同。參見Zimran等人, Blood Cells Mol Dis, 2007, 39: 115-118。

【0038】維拉昔酶 α 之糖基化可能藉由在細胞培養期間使用幾夫鹼(kifunensine) (即甘露糖苷酶I抑制劑)而改變，從而產生分泌蛋白，其主要含有高甘露糖類型多糖，其每個多糖具有6-9個甘露糖單位，如WO 2013/130963中更詳細地描述。

【0039】伊米昔酶(Imiglucerase) (Cerezyme®)係另一形式之重組人類 β -葡萄糖腦苷脂酶。伊米昔酶以重組方式產生於國倉鼠卵巢(CHO)細胞中。

【0040】它利昔酶 α (Taliglucerase alfa, Elelyso®或Uplyso®)係表現於植物細胞中之重組葡萄糖腦苷脂酶(prGCB)。植物重組葡萄糖腦苷脂酶可藉由至少描述於美國專利申請案第2009/0208477號及第2008/0038232號及PCT申請案第WO 2004/096978號及第WO 2008/132743號中之方法獲得。

【0041】重組GCB之任一者均可使用本領域中已知的生物回應器及生產規模合成方法製造。可使用任何數目之生產規模純化系統。

異煙肼

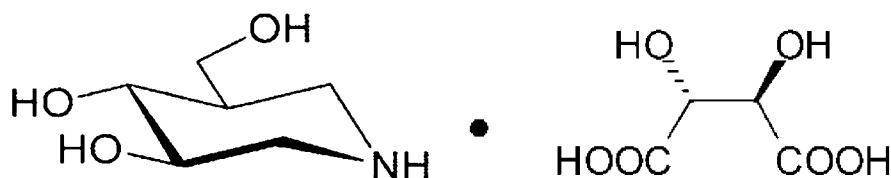
【0042】 可使用各種替代形式之異煙胍。此等包括酒石酸異煙胍、異煙胍HCl、異煙胍游離鹼及檸檬酸異煙胍之任一者。在一些實施例中，異煙胍包含異煙胍HCl、異煙胍游離鹼及檸檬酸異煙胍之一或多者。在一些實施例中，異煙胍包含酒石酸異煙胍。

【0043】 異煙胍HCl係描述於美國專利第5,844,102號及第7,501,439號中。異煙胍HCl係具有低熔點之黃色固體。異煙胍游離鹼可藉由將異煙胍HCl轉化為游離鹼形式而製備。

【0044】 在本文所述之任何態樣及實施例中，異煙胍可能不呈酒石酸異煙胍形式，或GCB/IFG組合物可能不包含酒石酸異煙胍。

酒石酸異煙胍

【0045】 酒石酸異煙胍(IFGT)係可能用於本文所述之各種實施例中的特定形式之異煙胍(IFG)，且其尤其適用於實施本發明。IFGT具有下式：



【0046】 相較於IFG，IFGT具有改良之特徵，其包括改良之合成可製造性。舉例而言，可能更易於在諸如水及乙醇之溶劑中純化IFGT。相較於其他已知的異煙胍之鹽形式，IFGT穩定性更高。IFGT亦尤其適用於工業規模生產，例如，生產超過1 kg之產品。

【0047】 包含GCB及IFG之組合物在本申請案中常稱為GCB/IFG組合物。包含GCB及IFGT之組合物在本申請案中常稱為GCB/IFGT組合物。

GCB與IFG/IFGT之莫耳比

【0048】 在各種實施例中，組合物包含葡萄糖腦苷脂酶(GCB)及異煙胼(IFG)，例如，酒石酸異煙胼(IFGT)，其莫耳比係至少約1:1、1:1.5、1:2或1:2.5 (GCB:IFG)。GCB與IFG、例如GCB與IFGT之莫耳比可為1:1、1:1.5、1:2、1:2.5、1:2.6、1:2.7、1:2.8、1:2.9、1:3.0、1:3.1、1:3.2、1:3.3、1:3.4、1:3.5、1:3.6、1:3.7、1:3.8、1:3.9、1:4.0、1:4.1、1:4.2、1:4.3、1:4.4、1:4.5、1:4.6、1:4.7、1:4.8、1:4.9、1:5.0、1:5.1、1:5.2、1:5.3、1:5.4、1:5.5、1:5.6、1:5.7、1:5.8、1:5.9、1:6.0、1:6.1、1:6.2、1:6.3、1:6.4、1:6.5、1:6.6、1:6.7、1:6.8、1:6.9、1:7.0、1:7.1、1:7.2、1:7.3、1:7.4、1:7.5、1:7.6、1:7.7、1:7.8、1:7.9、1:8.0、1:8.1、1:8.2、1:8.3、1:8.4、1:8.5、1:8.6、1:8.7、1:8.8、1:8.9、1:9.0、1:9.1、1:9.2、1:9.3、1:9.4、1:9.5、1:9.6、1:9.7、1:9.8、1:9.9、1:10.0、1:10.1、1:10.2、1:10.3、1:10.4、1:10.5、1:10.6、1:10.7、1:10.8、1:10.9、1:11.0、1:11.1、1:11.2、1:11.3、1:11.4、1:11.5、1:11.6、1:11.7、1:11.8、1:11.9、1:12.0、1:12.1、1:12.2、1:12.3、1:12.4、1:12.5、1:12.6、1:12.7、1:12.8、1:12.9、1:13.0、1:13.1、1:13.2、1:13.3、1:13.4、1:13.5、1:13.6、1:13.7、1:13.8、1:13.9、1:14.0、1:14.1、1:14.2、1:14.3、1:14.4、1:14.5、1:14.6、1:14.7、1:14.8、1:14.9、1:15.0、1:15.1、1:15.2、1:15.3、1:15.4、1:15.5、1:15.6、1:15.7、1:15.8、1:15.9、1:16.0、1:16.1、1:16.2、1:16.3、1:16.4、1:16.5、1:16.6、1:16.7、1:16.8、1:16.9、1:17.0、1:17.1、1:17.2、1:17.3、1:17.4、1:17.5、1:17.6、1:17.7、1:17.8、1:17.9、1:18.0、1:18.1、1:18.2、1:18.3、1:18.4、1:18.5、1:18.6、1:18.7、1:18.8、1:18.9、1:19.0、

1:19.1、1:19.2、1:19.3、1:19.4、1:19.5、1:19.6、1:19.7、1:19.8、
 1:19.9、1:20.0、1:20.1、1:20.2、1:20.3、1:20.4、1:20.5、1:20.6、
 1:20.7、1:20.8、1:20.9、1:21.0、1:21.1、1:21.2、1:21.3、1:21.4、
 1:21.5、1:21.6、1:21.7、1:21.8、1:21.9、1:22.0、1:22.1、1:22.2、
 1:22.3、1:22.4、1:22.5、1:22.6、1:22.7、1:22.8、1:22.9、1:23.0、
 1:23.1、1:23.2、1:23.3、1:23.4、1:23.5、1:23.6、1:23.7、1:23.8、
 1:23.9、1:23.9、1:24.0、1:24.1、1:24.2、1:24.3、1:24.4、1:24.5、
 1:24.6、1:24.7、1:24.8、1:24.9、1:25.0、1:25.1、1:25.2、1:25.3、
 1:25.4、1:25.5、1:25.6、1:25.7、1:25.8、1:25.9、1:26.0、1:26.1、
 1:26.2、1:26.3、1:26.4、1:26.5、1:26.6、1:26.7、1:26.8、1:26.9、
 1:27.0、1:27.1、1:27.2、1:27.3、1:27.4、1:27.5、1:27.6、1:27.7、
 1:27.8、1:27.9、1:28.0、1:28.1、1:28.2、1:28.3、1:28.4、1:28.5、
 1:28.6、1:28.7、1:28.8、1:28.9、1:29.0、1:29.1、1:29.2、1:29.3、
 1:29.4、1:29.5、1:29.6、1:29.7、1:29.8、1:29.9或1:30.0。

【0049】 GCB與IFG、例如GCB與IFGT之莫耳比可為1:2.5至
 1:3.5、1:2.6至1:3.4、1:2.7至1:3.5、1:2.7至1:3.4、1:2.5至1:3.3、1:2.8
 至1:3.5、1:2.8至1:3.3、1:2.7至1:3.2、1:2.6至1:3.1、1:2.5至1:3.0、
 1:2.9至1:3.3、1:2.8至1:3.2、1:2.7至1:3.1、1:2.6至1:3.0、1:2.5至
 1:2.9、1:3.0至1:3.4或1:3.1至1:3.5。

【0050】 GCB與IFG、例如GCB與IFGT之莫耳比可為1:7至1:33、
 1:8至1:32、1:9至1:33、1:7至1:31、1:9至1:31、1:8至1:30、1:7至1:29、
 1:10至1:32、1:11至1:33、1:7至1:29、1:10至1:30、1:9至1:29、1:8至
 1:28、1:7至1:27、1:11至1:31、1:12至1:32、1:13至1:33、1:11至1:29、

1:10至1:28、1:9至1:27、1:8至1:26、1:7至1:25、1:12至1:30、1:13至1:31、1:14至1:32、1:15至1:33、1:13至1:29、1:12至1:28、1:11至1:27、1:10至1:26、1:9至1:25、1:8至1:24、1:7至1:23、1:14至1:30、1:15至1:31、1:16至1:32、1:17至1:33、1:14至1:28、1:13至1:27、1:12至1:26、1:11至1:25、1:10至1:24、1:9至1:23、1:8至1:22、1:7至1:21、1:15至1:29、1:16至1:30、1:17至1:31、1:18至1:32、1:19至1:33、1:15至1:27、1:14至1:26、1:13至1:25、1:12至1:24、1:11至1:23、1:10至1:22、1:9至1:21、1:8至1:20、1:7至1:19、1:16至1:28、1:17至1:29、1:18至1:30、1:19至1:31、1:20至1:32或1:21至1:33。

【0051】 GCB與IFG、例如GCB與IFGT之莫耳比可為1:16至1:26、1:15至1:25、1:14至1:24、1:13至1:23、1:12至1:22、1:11至1:31、1:10至1:30、1:9至1:29、1:8至1:28、1:7至1:27、1:17至1:27、1:18至1:28、1:19至1:29、1:20至1:30、1:21至1:31、1:22至1:32、1:23至1:33、1:17至1:25、1:14至1:24、1:13至1:23、1:12至1:22、1:11至1:21、1:10至1:20、1:9至1:19、1:18至1:26、1:19至1:27、1:20至1:28、1:21至1:29、1:22至1:30、1:23至1:31、1:18至1:24、1:17至1:23、1:16至1:22、1:15至1:21、1:14至1:20、1:13至1:19、1:12至1:18、1:11至1:17、1:19至1:25、1:20至1:26、1:21至1:27、1:22至1:28、1:23至1:29、1:24至1:30、1:19至1:23、1:17至1:21、1:15至1:19、1:13至1:17、1:11至1:15、1:9至1:13、1:7至1:11、1:21至1:25、1:23至1:27、1:25至1:29、1:27至1:31、1:29至1:33、1:20至1:23、1:18至1:21、1:16至1:19、1:14至1:17、1:12至1:15、1:10至1:13、1:8至1:11、1:22至1:25、1:24至1:27、1:26至1:29、1:28至1:31或1:30至1:33。

【0052】 GCB與IFG、例如GCB與IFGT之莫耳比可為1:31、1:32、1:33、1:34、1:35、1:36、1:37、1:38、1:39、1:40、1:41、1:42、1:43、1:44、1:45、1:46、1:47、1:48、1:49、1:50、1:51、1:52、1:53、1:54、1:55、1:56、1:57、1:58、1:35、1:59、1:60、1:61、1:62、1:63、1:64、1:65、1:66、1:67、1:68、1:69、1:70、1:71、1:72、1:73、1:74、1:75、1:76、1:77、1:78、1:79、1:80、1:81、1:82、1:83、1:84、1:85、1:86、1:87、1:88、1:89、1:90、1:91、1:92、1:93、1:94、1:95、1:96、1:97、1:98、1:99或1:100。

【0053】 GCB與IFG、例如GCB與IFGT之莫耳比可為1:30至1:100、1:30至1:80、1:40至1:90、1:50至1:100、1:30至1:60、1:40至1:70、1:50至1:80、1:60至1:90、1:70至1:100、1:30至1:50、1:40至1:60、1:50至1:70、1:60至1:80、1:70至1:90、1:80至1:100、1:30至1:40、1:40至1:50、1:50至1:60、1:60至1:70、1:70至1:80、1:80至1:90或1:90至1:100。

【0054】 在本文所述之其他各種實施例中，組合物包含葡萄糖腦苷脂酶(GCB)及酒石酸異煙胍(IFGT)，其莫耳比係至少約1:2.5。

【0055】 在本文所述之其他各種實施例中，組合物包含葡萄糖腦苷脂酶(GCB)及檸檬酸異煙胍，其莫耳比係至少約1:2.5。

【0056】 在本文所述之其他各種實施例中，組合物包含葡萄糖腦苷脂酶(GCB)及異煙胍HCl，其莫耳比係至少約1:2.5。

【0057】 在本文所述之其他各種實施例中，組合物包含葡萄糖腦苷脂酶(GCB)及異煙胍游離鹼，其莫耳比係至少約1:2.5。

【0058】 在本文所述之其他各種實施例中，組合物包含葡萄糖腦苷

脂酶(GCB)及不包含IFGT之異煙胼，其莫耳比係至少約1:2.5。

GCB濃度

【0059】組合物之任一者中的GCB之濃度可為約0.1至約40 mg/ml、約0.5至約10 mg/ml、約5至約15 mg/ml、約10至約20 mg/ml、約15至約25 mg/ml、約20至約30 mg/ml、約25至約35 mg/ml、約30至約40 mg/ml、約2至約8 mg/ml、約5至約11 mg/ml、約8至約14 mg/ml、約11至約17 mg/ml、約14至約20 mg/ml、約17至約23 mg/ml、約20至約26 mg/ml、約23至約29 mg/ml、約26至約32 mg/ml、約29至約35 mg/ml、約32至約38 mg/ml、約2至約5 mg/ml、約5至約8 mg/ml、約8至約11 mg/ml、約11至約14 mg/ml、約14至約17 mg/ml、約17至約20 mg/ml、約20至約23 mg/ml、約23至約26 mg/ml、約26至約29 mg/ml、約29至約32 mg/ml、約32至約35 mg/ml、約35至約38 mg/ml、約0.5 mg/ml、約1 mg/ml、約2 mg/ml、約3 mg/ml、約4 mg/ml、約5 mg/ml、約6 mg/ml、約7 mg/ml、約8 mg/ml、約9 mg/ml、約10 mg/ml、約11 mg/ml、約12 mg/ml、約13 mg/ml、約14 mg/ml、約15 mg/ml、約16 mg/ml、約17 mg/ml、約18 mg/ml、約19 mg/ml、約20 mg/ml、約21 mg/ml、約22 mg/ml、約23 mg/ml、約24 mg/ml、約25 mg/ml、約26 mg/ml、約27 mg/ml、約28 mg/ml、約29 mg/ml、約30 mg/ml、約31 mg/ml、約32 mg/ml、約33 mg/ml、約34 mg/ml、約35 mg/ml、約36 mg/ml、約37 mg/ml、約38 mg/ml、約39 mg/ml或約40 mg/ml。

【0060】GCB之濃度可為50單位/毫升至200單位/毫升、70單位/毫升至160單位/毫升、80單位/毫升至175單位/毫升、90單位/毫升至190單位/毫升、60單位/毫升至145單位/毫升、50單位/毫升至130單位/毫升、80

單位/毫升至140單位/毫升、70單位/毫升至120單位/毫升、60單位/毫升至100單位/毫升、50單位/毫升至85單位/毫升、90單位/毫升至160單位/毫升、100單位/毫升至180單位/毫升、120單位/毫升至200單位/毫升、90單位/毫升至125單位/毫升、80單位/毫升至105單位/毫升、70單位/毫升至100單位/毫升、60單位/毫升至90單位/毫升、50單位/毫升至80單位/毫升、100單位/毫升至140單位/毫升、115單位/毫升至160單位/毫升、130單位/毫升至180單位/毫升、145單位/毫升至200單位/毫升、100單位/毫升至115單位/毫升、90單位/毫升至105單位/毫升、80單位/毫升至95單位/毫升、70單位/毫升至85單位/毫升、60單位/毫升至75單位/毫升、50單位/毫升至65單位/毫升、110單位/毫升至125單位/毫升、120單位/毫升至135單位/毫升、130單位/毫升至145單位/毫升、140單位/毫升至160單位/毫升、160單位/毫升至180單位/毫升、180單位/毫升至200單位/毫升、約50單位/毫升、約60單位/毫升、約70單位/毫升、約80單位/毫升、約90單位/毫升、約100單位/毫升、約110單位/毫升、約120單位/毫升、約130單位/毫升、約140單位/毫升、約150單位/毫升、約160單位/毫升、約170單位/毫升、約180單位/毫升、約190單位/毫升、約200單位/毫升、50單位/毫升、60單位/毫升、70單位/毫升、80單位/毫升、90單位/毫升、100單位/毫升、110單位/毫升、120單位/毫升、130單位/毫升、140單位/毫升、150單位/毫升、160單位/毫升、170單位/毫升、180單位/毫升、190單位/毫升、或200單位/毫升。

醫藥組合物

【0061】醫藥組合物可能包括「治療有效量」之本文所述的GCB/IFG組合物，例如GCB/IFGT組合物。該有效量可基於投與之組合物

的效果而確定。GCB/IFG組合物、例如GCB/IFGT組合物之治療有效量亦可根據諸如以下之因素而改變，個體之疾病狀態、年齡、性別及重量及組合物誘發個體中所要反應之能力，例如，改善病況或病症之至少一個症狀，例如，葡萄糖腦苷脂酶缺失，例如，高歇氏病。治療有效量亦為組合物之任何毒性或有害效果均小於治療有益效果之量。

【0062】 GCB/IFG組合物可能不含IFGT。

【0063】 可調配本發明之醫藥組合物，與其所要投與途徑相容。舉例而言，GCB/IFG組合物、例如GCB/IFGT組合物可藉由非經腸模式投與，例如，靜脈內、皮下、腹膜內或肌內注射。在各種實施例中，投與途徑係靜脈內投與。在各種實施例中，投與途徑係皮下投與。用於非經腸施用之溶液或懸浮液可包括以下組分：無菌稀釋劑，諸如注射用水、生理鹽水、不揮發油、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其他合成溶劑；抗菌劑，諸如苯甲醇或對羥苯甲酸甲酯；抗氧化劑，諸如抗壞血酸或亞硫酸鈉；螯合劑，諸如伸乙二胺四乙酸；緩衝液，諸如乙酸鹽、檸檬酸鹽或磷酸鹽；及用於調整張力之試劑，諸如氯化鈉或右旋糖。可用諸如鹽酸或氫氧化鈉之酸或鹼調整醫藥組合物之pH。非經腸製劑可封入由玻璃或塑料製成之安瓿、拋棄式注射器或多劑量小瓶中。

pH

【0064】 pH可對本文所述之各種GCB/IFG及GCB/IFGT組合物中GCB的穩定性產生影響。pH可影響GCB之構形及/或聚集及/或分解及/或反應性。舉例而言，pH較高時，氧可具有更高反應性。pH較佳小於7.0、更佳在約4.5至約6.5範圍內、更佳約5.0至約6.0、且更佳約5.5至約5.8、更佳約5.7。使用GCB，聚集可在高於7.0之pH下達至非所要水平，且分解

(例如，分裂)可在低於4.5或5.0之pH下、或在高於6.5或7.0之pH下達至非所要水平。

【0065】 候選pH可藉由以下進行測試：提供例如GCB/IFGT組合物之測試GCB/IFG組合物、將組合物調整至候選pH且用氧氣吹掃組合物。可能在預定時間下將組合物中候選pH之GCB的穩定性量測為例如聚集或分解百分比。可能將量測之穩定性與一或多個標準物進行比較。舉例而言，除組合物之pH未經調整外，合適標準物應係與測試組合物相似之組合物。隨後，可能比較pH經調整與pH未經調整之組合物的穩定性。若GCB穩定性比相對標準組合物之穩定性更高，則GCB/IFG組合物、例如GCB/IFGT組合物可能更合適。適用性可由相較於此標準物測試治療較高穩定性而表示。舉例而言，若相對標準GCB/IFG組合物具有pH 5.5，但在GCB/IFG組合物具有pH 6.3時出現較高GCB穩定性，則pH 6.3之組合物更適用，此係因為相較於pH 5.5，pH 6.3時GCB更穩定。

【0066】 可用於調整蛋白質組合物之pH的緩衝液包括組胺酸、檸檬酸鹽、磷酸鹽、甘胺酸、琥珀酸鹽、乙酸鹽、麩胺酸、三羥甲基胺基甲烷、酒石酸鹽、天冬胺酸鹽、順丁烯二酸鹽及乳酸鹽。

GCB穩定性分析

【0067】 蛋白質穩定性可藉由量測蛋白質聚集或蛋白質分解而量測。蛋白質聚集可藉由各種方法確定，其包括(例如)粒徑篩析層析法(SEC)、非變性PAGE或其他用於確定尺寸之方法等。舉例而言，蛋白質聚集可藉由反相HPLC、非變性PAGE、離子交換層析法、肽圖分析或類似方法確定。

【0068】 如本文所用，穩定性包括諸如以下之參數：蛋白質結構(例

如，最小化或阻止蛋白質結構中之變化，例如，蛋白質聚集或蛋白質分解(例如，分裂)及或蛋白質的生物活性，例如，將受質轉化為產品之能力。

【0069】 GCB穩定性可例如藉由量測蛋白質聚集、蛋白質分解或GCB之生物活性水平而量測。GCB之聚集可藉由各種方法確定，包括粒徑篩析層析法、非變性PAGE及其他用於確定尺寸之方法。舉例而言，相較於儲存前(例如，儲存於2-8°C之溫度下，持續長達3、6、9、12或24個月(或更長)之時段)組合物中蛋白質聚集之量，組合物之GCB蛋白質聚集之量的增加可小於1、5、10、15、20、25、30、35、40、45或50% (例如，如藉由粒徑篩析層析法所量測)。

【0070】 蛋白質分解可藉由各種方法確定，包括反相HPLC、非變性PAGE、離子交換層析法、肽圖分析或類似方法。作為實例，相較於儲存前(例如，儲存於2-8°C之溫度下，持續長達3、6、9、12或24個月(或更長)之時段)組合物中GCB分解之量，組合物之GCB分解之量的增加可小於1、5、10、15、20、25、30、35、40、45或50% (例如，如藉由反相HPLC所量測)。GCB之生物活性可例如藉由體外或體內分析量測，例如，ELISA (例如，量測結合或酶活性)及其他酶分析(例如，分光光度、螢光、熱量、化學發光、放射性或層析分析)、酶分析及類似分析。作為實例，相較於儲存前(例如，儲存於2-8°C之溫度下，持續長達3、6、9、12或24個月(或更長)之時段)組合物中生物活性之量，組合物之GCB生物活性的降低可小於1、5、10、15、20、25、30、35、40、45或50% (例如，酶活性，例如，如藉由體外分析所量測)。

抗氧化劑及穩定劑

【0071】 本文所述之GCB/IFG及GCB/IFGT組合物可能進一步包含抗氧化劑。一種合適抗氧化劑係半胱胺酸。半胱胺酸可能以0.030%至0.100%、0.050%至0.080%、0.040%至0.070%、0.030%至0.060%、0.060%至0.090%、0.070%至0.100%、0.065%至0.080%、0.060%至0.075%、0.055%至0.070%、0.050%至0.065%、0.070%至0.085%、0.075%至0.090%、約0.065%、約0.070%、約0.075%、約0.080%、0.065%、0.070%、0.075%或0.080%存在。在不希望束縛於理論之情況下，半胱胺酸可能進一步穩定GCB。

【0072】 本文所述之GCB/IFG及GCB/IFGT組合物可能進一步包含諸如蔗糖或海藻糖之碳水化合物。例如蔗糖或海藻糖之碳水化合物可能以12%至19%、13%至18%、14%至17%、12%至15%、13%至16%、15%至17%、約16%或16%存在。在不希望束縛於理論之情況下，蔗糖或海藻糖可能藉由降低硫醇(-SH)基之可用性而進一步穩定GCB。

【0073】 本文之GCB/IFG及GCB/IFGT組合物可能進一步包含洗滌劑。洗滌劑可為聚山梨醇酯20 (其尤其適用於實施本發明)或任何數目之基於泊咯沙姆(poloxomer)的化合物。

【0074】 在某些實施例中，在預選之條件下，相較於不同之處在於缺少碳水化合物(蔗糖或海藻糖)、抗氧化劑或碳水化合物及抗氧化劑二者的組合物中之GCB穩定性，GCB穩定性至少高5-80% (例如，高至少約5%、至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約35%、至少約40%、至少約45%、至少約50%、至少約55%、至少約60%、至少約65%、至少約70%、至少約75%或至少約80%)。

【0075】 在儲存於容器之前，GCB/IFG及GCB/IFGT組合物可能由

氧氣吹掃。此外，理想地，容器具有氣密性，從而阻止氧氣入侵。如本文所述之組合物、例如含有GCB之液體組合物中之GCB可能具有延長之穩定性。舉例而言，在預選之條件下，例如，當在2-8°C之溫度下儲存於氣密容器中長達3、6、9、12或24個月之時段(或在一些實施例中更長)時，組合物中之GCB將保留其在儲存前之穩定性的至少50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、99或100%。

【0076】 合適蛋白質濃度可藉由以下進行測試：提供含有0.075%半胱胺酸、16%蔗糖之組合物、將pH調整至5.7、將GCB調整至候選濃度且用O₂吹掃組合物。例如GCB/IFGT組合物之GCB/IFG組合物中的GCB穩定性係以候選濃度在預定時間下量測為聚集或分解百分比，將其與一或多種標準物對比。比較各濃度下GCB之穩定性。可藉由以下表明穩定性：相較於本文所述之濃度，候選濃度對穩定性具有相當或更佳影響。

【0077】 可藉由本申請案通篇所述之任何方法量測GCB穩定性，例如，藉由量測蛋白質聚集或蛋白質分解。蛋白質聚集可例如藉由粒徑篩析層析法、非變性PAGE或其他用於確定尺寸之方法等量測。蛋白質聚集可例如藉由反相HPLC、非變性PAGE、離子交換層析法、SEC、SEC HPLC、肽圖分析或類似方法確定。

界面活性劑

【0078】 本文所述之GCB/IFG及GCB/IFGT組合物可能進一步包含一或多種界面活性劑。在不希望束縛於理論之情況下，界面活性劑可提高蛋白質穩定性，諸如藉由提供可在搖晃時或在運送期間減少蛋白質分解之空氣/液體分界面。可能諸如藉由不引發蛋白質分解而選擇在特定液體組合物中提高蛋白質穩定性之界面活性劑。例示性界面活性劑係泊咯沙姆

188或普朗尼克F68 (Pluronic F68)。界面活性劑之存在量可能介於約0.005%與約5%之間，例如約0.01%與約1%之間，例如約0.025%與約0.5%之間，例如約0.03%與約0.25%之間，例如約0.04%至約0.1%，例如約0.05%至約0.075%，例如0.05%。理想界面活性劑係未經GCB改質或穿過之界面活性劑。

【0079】 舉例而言，候選界面活性劑可藉由以下進行測試：提供含有2 mg/ml GCB、一定量IFG、0.075%半胱胺酸、16%蔗糖之組合物，隨後將pH調整至5.7，隨後添加候選界面活性劑且用O₂吹掃組合物。含有候選界面活性劑之GCB/IFG組合物的穩定性係例如在預定時間下量測為聚集或分解百分比，將其與一或多種標準物對比。舉例而言，除界面活性劑未添加至組合物外，合適標準物應係與測試條件相似之組合物。可能在模擬例如儲存及運送之「現實世界」場景的條件下比較經處理(含有界面活性劑)與未處理(缺少界面活性劑)之組合物的穩定性。除使用另一界面活性劑代替泊咯沙姆188外，標準物可為與測似組合物相似之組合物。在比較之基礎上，泊咯沙姆188則應係標準物。可藉由以下表明穩定性：相較於本文所述之界面活性劑，候選界面活性劑對穩定性具有相當或更佳影響。若候選界面活性劑確定為合適的(例如，相較於標準物之一者，其提高組合物之穩定性)，則可精煉候選界面活性劑之濃度。舉例而言，濃度可在一系列值中提高或降低，且可相比於標準物及相比於其他經測試以確定何種濃度導致穩定性提高值最大之濃度。

【0080】 或者，兩種或更多種界面活性劑之組合用於本文所述之組合物中。可如上文所述藉由比較具有界面活性劑之測試組合的GCB/IFG組合物之穩定性與具有泊咯沙姆188之GCB/IFG組合物的穩定性而測試組

合之適用性。

【0081】 蛋白質穩定性可例如藉由量測蛋白質聚集或蛋白質分解而量測。蛋白質聚集可例如藉由粒徑篩析層析法、非變性PAGE或其他用於確定尺寸之方法等量測。蛋白質聚集可例如藉由反相HPLC、非變性PAGE、離子交換層析法、肽圖分析或類似方法確定。

醫藥學上可接受之鹽

【0082】 醫藥組合物可能進一步包含鹽或醫藥學上可接受之鹽。

【0083】 合適醫藥學上可接受之酸加成鹽可能由無機酸或由有機酸製備。無機酸之實例包括鹽酸、氫溴酸、氫碘酸、硝酸、碳酸、硫酸及磷酸。合適有機酸可能選自脂族、環脂族、芳族、芳脂族、雜環、羧酸及磺酸類有機酸，其實例包括甲酸、乙酸、丙酸、琥珀酸、乙醇酸、葡萄糖酸、乳酸、蘋果酸、酒石酸、檸檬酸、抗壞血酸、葡萄糖醛酸、順丁烯二酸、丙酮酸、天冬胺酸、麩胺酸、苯甲酸、鄰胺苯甲酸、4-羥基苯甲酸、苯基乙酸、杏仁酸、撲酸(embonic/pamoic)、甲磺酸、乙磺酸、苯磺酸、泛酸、三氟甲磺酸、2-羥基乙磺酸、對甲苯磺酸、對胺苯磺酸、環己基胺基磺酸、硬脂酸、海藻酸、 β -羥基丁酸、水楊酸、半乳糖二酸、草酸、丙二酸及半乳糖醛酸。醫藥學上不可接受之酸加成鹽的實例包括(例如)過氯酸鹽及四氟硼酸鹽。所有此等酸加成鹽可能藉由使例如合適酸與化合物反應而製備自異煙肼或GCB。

【0084】 合適醫藥學上可接受之異煙肼的鹼加成鹽包括(例如)金屬鹽，包括鹼金屬、鹼土金屬及過渡金屬鹽，諸如(例如)鈣、鎂、鉀、鈉及鋅鹽。醫藥學上可接受之鹼加成鹽亦包括由鹼性胺製成之有機鹽，鹼性胺諸如(例如) N,N'-二苄基乙烯二胺、氯普魯卡因(chloroprocaine)、膽鹼、

二乙醇胺、乙烯二胺、葡甲胺(N-甲基葡糖胺)及普魯卡因(procaine)。醫藥學上不可接受之鹼加成鹽的實例包括鋰鹽及氰酸鹽。所有此等鹼加成鹽可能藉由使例如合適鹼與化合物反應而製備自異煙胍。

醫藥載劑

【0085】 含有GCB之醫藥組合物可包括一或多種醫藥學上可接受之載劑。如本文所用，詞語「醫藥學上可接受之載劑」意欲包括任何及所有溶劑、賦形劑、分散介質、包衣、抗菌劑及抗真菌劑、等張劑及吸收減緩劑及類似載劑，其與醫藥投與相容。醫藥調配物係成熟領域，且進一步描述於以下中：例如，Gennaro (編), Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第20版, Lippincott, Williams & Wilkins (2000) (ISBN: 0683306472); Ansel等人, Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 第7版, Lippincott Williams & Wilkins Publishers (1999) (ISBN: 0683305727); 及Kibbe (編), Handbook of Pharmaceutical Excipients American Pharmaceutical Association, 第3版. (2000) (ISBN: 091733096X)。除就任何習知介質或試劑與活性化合物不相容而言外，該介質亦可用於本發明之組合物。額外活性化合物亦可併入本組合物中。

【0086】 本文所述之醫藥組合物可能進一步包括防止化合物自體內快速消除之載劑，諸如受控釋放調配物，包括植入物及微膠囊化投遞系統。可使用生物可降解、生物相容性聚合物，諸如乙烯-乙酸乙烯、聚酸酐、聚乙醇酸、膠原蛋白、聚原酸酯及聚乳酸。製備該等調配物之方法將對本領域中之彼等技術者顯而易見。脂質體懸浮液(包括靶向具有針對病毒抗原之單株抗體的感染細胞之脂質體)亦可用作醫藥學上可接受之載

劑。此等可根據本領域中之彼等技術者已知的方法製備，例如，如美國專利第4,522,811號中所描述。

【0087】 針對IV投與，合適載劑包括生理鹽水、抑菌水、CREMOPHOR EL™ (BASF, Parsippany, N.J.)或磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)。在所有情況下，組合物必需係無菌的，且應係流體，其程度係存在輕易可注射性。組合物應在製造及儲存條件下穩定，且受到保存，免受諸如細菌及真菌之微生物的污染作用。載劑可為溶劑或分散介質，其含有例如水、乙醇、聚醇(例如，丙三醇、丙二醇及液體聚乙二醇及類似物)及其合適混合物。合適流動性可例如藉由使用諸如卵磷脂的包衣、藉由在分散之情況下維持所需粒徑且藉由使用界面活性劑而得以維持。防止微生物作用可藉由各種抗菌劑及抗真菌劑實現，例如對羥苯甲酸酯、氯丁醇、酚、抗壞血酸、硫柳汞劑類似物。在許多情況下，將較佳包括等張劑，例如，組合物中之糖、諸如甘露醇、山梨醇之多元醇、氯化鈉。可注射組合物之較長穩定性可藉由包括延緩吸收之試劑而實現，該試劑例如單硬脂酸鋁、人類血清白蛋白及明膠。

【0088】 無菌可注射溶液可藉由將GCB/IFG併入具有上文列舉之成分的一者或組合之合適溶劑中而製備，視需要隨後進行過濾除菌。一般而言，分散液係藉由將活性化合物併入無菌載劑中而製備，該載劑含有鹼性分散介質及來自上文列舉之彼等成分之其他所需成分。在無菌可注射溶液之組合物的無菌粉末情況下，組合物之較佳方法係真空乾燥及冷凍乾燥，例如凍乾，其產生活性成分與來自其前述無菌過濾溶液之任何額外所要成分的粉末。

【0089】 活性化合物(例如，上文所述之GCB組合物)可使用將防止

化合物自體內快速消除之載劑而製備，諸如受控釋放調配物，包括植入物及微膠囊化投遞系統。可使用生物可降解、生物相容性聚合物，諸如乙烯-乙酸乙烯、聚酸酐、聚乙醇酸、膠原蛋白、聚原酸酯及聚乳酸。製備該等調配物之方法將對本領域中之彼等技術者顯而易見。材料亦可商購自Alza Corporation及Nova Pharmaceuticals, Inc。脂質體懸浮液(包括靶向具有針對病毒抗原之單株抗體的感染細胞之脂質體)亦可用作醫藥學上可接受之載劑。此等可根據本領域中之彼等技術者已知的方法製備，例如，如美國專利第4,522,811號中所描述。

封裝及投遞

【0090】 本文所述之GCB/IFG及GCB/IFGT組合物可用各種醫學裝置投與。舉例而言，本文所述之組合物可用無針皮下注射裝置投與，諸如美國專利第5,399,163號、第5,383,851號、第5,312,335號、第5,064,413號、第4,941,880號、第4,790,824或第4,596,556中揭示之裝置。適用於本發明之熟知植入物及組件的實例包括：美國專利第4,487,603號，其揭示用於以受控速率分配藥品之植入式微輸液泵；美國專利第4,486,194號，其揭示用於經由皮膚投與藥品之治療裝置；美國專利第4,447,233號，其揭示用於以精確輸液速率投遞藥品之藥品輸液泵；美國專利第No. 4,447,224號，其揭示用於連續藥物投遞之可變流植入式輸液設備；美國專利第4,439,196號，其揭示具有多腔隔室之滲透性藥物投遞系統；及美國專利第4,475,196號，其揭示滲透性藥物投遞系統。當然，亦已知許多其他此類植入物、投遞系統及組件。

【0091】 本文所述之GCB/IFG及GCB/IFGT組合物可封裝於兩腔注射器中。舉例而言，呈凍乾形式之GCB/IFG及GCB/IFGT組合物可置於第

一注射器腔室中，且液體可存在於第二注射器腔室中(參見例如，美國公開申請案第2004-0249339號)。

【0092】 本文所述之GCB/IFG及GCB/IFGT組合物可封裝於無針注射器中(參見例如，美國專利第6,406,455號及第6,939,324號中)。簡言之，作為一個實例，注射裝置包括：含有氣體或氣體源之氣腔；可允許氣體自氣腔釋放之端口；柱塞，其當氣體釋放自氣腔時可導致至少第一活塞之移動；第一活塞、第二活塞；第一腔室，例如適用於藥物儲存及混合之腔室；活塞套，第一活塞、第二活塞及第一腔室置於其中；位移構件，其可獨立於來自氣腔之氣體的動力而導致第一及第二活塞之一者或二者的移動(位移構件可為柱塞或單獨構件)；與第一腔室相連適用於無針注射之孔口；其中第一及第二活塞可滑動地置於活塞套內，且位移構件、氣體源及柱塞如下安置：在活塞之第一位置中，例如儲液罐之第二腔室係藉由第一活塞、活塞套及第二活塞界定於活塞套內，位移構件可使活塞之一者或二者移入第二位置，其中第一位置係如下位置：可為儲液罐之第二腔室係與可為藥物儲存及混合腔室之第一腔室連接，且第二活塞沿第一活塞之方向移動，從而減小第二腔室之體積，且允許液體自第二腔室轉移至第一腔室，當氣體釋放自氣腔時，柱塞導致第一活塞移動，從而減小第一腔室之體積，使受質經由孔口排出，且自腔室排出，且例如排至受試者。

【0093】 無針注射器可包括單獨組件，其用於第一組分，例如乾燥或液體組分，及第二組分，例如液體組分。組件可提供為兩個單獨組分，且例如由將向自己投與該組分之受試者組裝，或由另一人、例如由提供或給予健康護理之個體組裝。同時，組件可形成本文所述之裝置的所有或部分活塞套。裝置可用於提供任何第一及第二組分，其中理想的是，單獨儲

存或提供組分且在投與至受試者之前使其組合。

治療方法

【0094】 可能將本文所述之GCB/IFG及GCB/IFGT調配物之任一者投與至患者。本文所述之GCB/IFG及GCB/IFGT調配物係用於治療與GCase路徑中功能異常相關之病症、特定而言高歇氏病的方法中。組合物亦用於製造用於藉由本文所述之治療方法治療該等疾病之藥品。

【0095】 劑量可為每隔一週投與約60單位/公克，或60單位/公克。劑量可為每週投與約30單位/公克，或30單位/公克。或者，劑量可能介於以下範圍內：每隔一週投與30至80單位/公克，每隔一週投與40至70單位/公克，每隔一週投與50至80單位/公克，每隔一週投與45至65單位/公克，每隔一週投與40至60單位/公克，每隔一週投與35至55單位/公克，每隔一週投與30至50單位/公克，每隔一週投與45至65單位/公克，每隔一週投與50至70單位/公克，每隔一週投與55至75單位/公克，每隔一週投與60至80單位/公克，每隔一週投與55至65單位/公克，每隔一週投與45至55單位/公克，每隔一週投與35至45單位/公克或每隔一週投與65至75單位/公克。或者，劑量可能介於以下範圍內：每週投與15至40單位/公克，每週投與20至35單位/公克，每週投與25至40單位/公克，每週投與22.5至32.5單位/公克，每週投與20至30單位/公克，每週投與17.5至22.5單位/公克，每週投與15至25單位/公克，每週投與22.5至32.5單位/公克，每週投與25至35單位/公克，每週投與22.5至37.5單位/公克，每週投與30至40單位/公克，每週投與27.5至32.5單位/公克，每週投與22.5至27.5單位/公克，每週投與17.5至22.5單位/公克或每週投與32.5至37.5單位/公克。通常，劑量係每隔一週投與15-60單位/公克，尤其每隔一週投與60單位/公克。劑量調

整可基於治療目的之實現及維持而在個體基礎上進行。

【0096】劑量可為每隔一週投與約1.5 mg/kg，或1.5 mg/kg。劑量可為每週投與約0.75 mg/kg，或0.75 mg/kg。或者，劑量可能介於以下範圍內：每隔一週投與0.75至2.0 mg/kg，每隔一週投與1.0至1.75 mg/kg，每隔一週投與1.25至2.0 mg/kg，每隔一週投與1.125至1.625 mg/kg，每隔一週投與1.0至1.5 mg/kg，每隔一週投與0.875至1.375 mg/kg，每隔一週投與0.75至1.25 mg/kg，每隔一週投與1.215至1.625 mg/kg，每隔一週投與1.25至1.75 mg/kg，每隔一週投與1.375至1.875 mg/kg，每隔一週投與1.5至2.0 mg/kg，每隔一週投與1.375至1.625 mg/kg，每隔一週投與1.125至1.375 mg/kg，每隔一週投與0.875至1.125 mg/kg或每隔一週投與1.625至1.875 mg/kg。或者，劑量可能介於以下範圍內：每週投與0.375至1.0 mg/kg，每週投與0.5至0.875 mg/kg，每週投與0.625至1.0 mg/kg，每週投與0.5625至0.8125 mg/kg，每週投與0.5至0.75 mg/kg，每週投與0.4375至0.5625 mg/kg，每週投與0.375至0.625 mg/kg，每週投與0.5625至0.8125 mg/kg，每週投與0.625至0.875 mg/kg，每週投與0.5625至0.9375 mg/kg，每週投與0.75至1.0 mg/kg，每週投與0.6875至0.8125 mg/kg，每週投與0.5625至0.6875 mg/kg，每週投與0.4375至0.5625 mg/kg或每週投與0.8125至0.9375 mg/kg。通常，劑量係每隔一週投與15 mg/kg，尤其藉由皮下投與進行。劑量調整可基於治療目的之實現及維持而在個體基礎上進行。

【0097】可能將本文所述之GCB/IFG及GCB/IFGT調配物之任一者投與至患者。劑量可為每隔一週投與約90至180單位/公克。劑量可為每週投與約90單位/公克，或90單位/公克。或者，劑量可能介於以下範圍內：

每隔一週投與90至150單位/公克，每隔一週投與110至160單位/公克，每隔一週投與120至180單位/公克，每隔一週投與120至150單位/公克，每隔一週投與90至120單位/公克，每隔一週投與100至130單位/公克，每隔一週投與110至140單位/公克，每隔一週投與120至150單位/公克，每隔一週投與130至160單位/公克，每隔一週投與140至170單位/公克或每隔一週投與150至180單位/公克。或者，劑量可能介於以下範圍內：每隔一週投與90至110單位/公克，每隔一週投與100至120單位/公克，每隔一週投與110至130單位/公克，每隔一週投與120至140單位/公克，每隔一週投與130至150單位/公克，每隔一週投與140至160單位/公克，每隔一週投與150至170單位/公克或每隔一週投與160至180單位/公克。

【0098】 劑量可為每隔一週投與約2.25或4.5 mg/kg。或者，劑量可能介於以下範圍內：每隔一週投與2.25至3.75 mg/kg，每隔一週投與2.75至4.0 mg/kg，每隔一週投與3.0至4.5 mg/kg，每隔一週投與3.0至3.75 mg/kg，每隔一週投與2.25至3.0 mg/kg，每隔一週投與2.5至3.25 mg/kg，每隔一週投與2.75至3.5 mg/kg，每隔一週投與3.0至3.75 mg/kg，每隔一週投與3.25至4.0 mg/kg，每隔一週投與3.5至4.25 mg/kg或每隔一週投與3.75至4.5 mg/kg。或者，劑量可能介於以下範圍內：每隔一週投與2.25至2.75 mg/kg，每隔一週投與2.5至3.0 mg/kg，每隔一週投與2.75至3.25 mg/kg，每隔一週投與3.0至3.5 mg/kg，每隔一週投與3.25至3.75 mg/kg，每隔一週投與3.5至4.0 mg/kg，每隔一週投與3.75至4.25 mg/kg或每隔一週投與4.0至4.5 mg/kg。

【0099】 可進行GCB/IFG及GCB/IFGT組合物之投與以治療與GCase路徑中功能異常相關之病症，諸如溶酶體儲積病。例示性溶酶體儲

積病包括高歇氏病、法布瑞氏症(Fabry disease)、龐培氏症(Pompe disease)、黏多醣病及多系統萎縮。本文所述之組合物尤其適用於治療高歇氏病。病症可為神經退化性病徵，例如帕金森氏病(Parkinson disease)、阿茲海默氏病(Alzheimer's disease)或路易體性癡呆(Lewy body dementia)。或者，病症可能涉及 α -突觸核蛋白失調。

【0100】 在該病症治療中，可靜脈內或皮下投與GCB/IFG及GCB/IFGT組合物。皮下投與包括皮下注射，其尤其適用於實施本發明。各種劑量方案可用於投與組合物。舉例而言，可每週一次、每兩週一次、每月一次地投與組合物。舉例而言，可每三日、每四日、每五日、每六日、每八日、每九日、每10日、每11日、每12日、每13日、每15日或每16日投與組合物。投與頻率可在治療過程中由於各種因素變化。通常，本文所述之組合物係藉由每週一次或兩次、或每隔一週一次注射皮下投與。

【0101】 當敘述藉由皮下投與本文所述之組合物時，應注意在投與期間使患者之不適最小。因此，通常每次注射投與患者之總體積不超過5 mL。更典型地，每次注射皮下投與之體積將小於2.5 mL。若需要多次皮下注射以達到治療有效劑量，可在不同位點投與皮下注射。或者，可減小治療間隔。劑量調整可基於治療目的之達成及維持而在個體基礎上進行。

實例

【0102】 本發明亦藉助於以下實例描述且展示。然而，在本說明書中之任何位置使用此等及其他實例僅係闡釋性的且絕非限制本發明或任何典型術語之範疇及含義。類似地，本發明不限於本文所述之任何特定較佳實施例。實際上，在閱讀此說明書時，本發明之許多修改及變化可能對本領域中之彼等技術者顯而易見，且該等變化可在精神或範疇不背離本發明

之情況下出現。因此，本發明僅受限於所附申請專利範圍之術語以及彼申請專利範圍所定義之等效物的全部範疇。

實例1：GCB之濃度

【0103】 儲存於-80°C下之後，使GCB (5 ml, 10 mg/ml)解凍。隨後，藉由在4°C下以3800 rpm離心過濾30分鐘使GCB濃縮。隨後，稀釋50×，且在A280處量測濃度。獲得100 mg/ml GCB之濃度。隨後，添加1%聚山梨醇酯20，獲得0.1%之最終濃度。向一定量溶液中添加20 mg pH經調整之異煙胍。

【0104】 進行穿過0.22 um膜之過濾。具體過程顯示於圖1中。

實例2：添加pH未調整之IFG使GCB不穩定

【0105】 SDS-PAGE用於分析各種GCB樣本，如下文所示。樣本在37°C下變性15分鐘。在8-16% Novex™三羥甲基胺基甲烷-甘胺酸預鑄式凝膠上進行SDS-PAGE。50 mM二硫蘇糖醇用作還原劑。一些樣本已添加pH未經調整之異煙胍。第一日之結果顯示於圖2A中：

道1：分子量標記

道2：0.5%分析對照(60 ng GCB)

道3：1%分析對照(120 ng GCB)

道4：12 µg GCB參考物，經還原

道5：12 µg GCB (4°C)第1日，未還原

道6：12 µg GCB (4°C)第1日，經還原

道7：12 µg GCB (4°C)第1日，具有12 µg異煙胍，未還原

道8：12 µg GCB (4°C)第1日，具有12 µg異煙胍，經還原

道9：12 µg GCB (-80°C)第1日，未還原

道10：12 μg GCB (-80 $^{\circ}\text{C}$)第1日，經還原

道11：12 μg GCB (-80 $^{\circ}\text{C}$)第1日，具有12 μg 異煙胼，未還原

道12：12 μg GCB (-80 $^{\circ}\text{C}$)第1日，具有12 μg 異煙胼，經還原

【0106】兩週後，結果顯示於表2B中：

道1：分子量標記

道2：0.5%分析對照(60 ng GCB)

道3：1%分析對照(120 ng GCB)

道4：12 μg GCB參考物，經還原

道5：12 μg GCB (4 $^{\circ}\text{C}$)第2週，未還原

道6：12 μg GCB (4 $^{\circ}\text{C}$)第2週，經還原

道7：12 μg GCB (4 $^{\circ}\text{C}$)第2週，具有12 μg 異煙胼，未還原

道8：12 μg GCB (4 $^{\circ}\text{C}$)第2週，具有12 μg 異煙胼，經還原

道9：12 μg GCB (-80 $^{\circ}\text{C}$)第2週，未還原

道10：12 μg GCB (-80 $^{\circ}\text{C}$)第2週，經還原

道11：12 μg GCB (-80 $^{\circ}\text{C}$)第2週，具有12 μg 異煙胼，未還原

道12：12 μg GCB (-80 $^{\circ}\text{C}$)第2週，具有12 μg 異煙胼，經還原

【0107】濃縮程序自身可能具有較低半胱胺酸相關之GCB寡聚合，如藉由可能包含總蛋白質的約0.5%之道4-12中之150kDa至200 kDa之間的模糊帶所示。相較於在-80 $^{\circ}\text{C}$ 下將異煙胼添加至GCB時，在4 $^{\circ}\text{C}$ 下將異煙胼添加至GCB時發現之GCB片段明顯更多，如圖2A之道7及道8中尺寸小於50 kDa之若干模糊帶所示。模糊帶之外觀可能由酸性異煙胼使GCB不穩定所致。

【0108】添加異煙胼在4 $^{\circ}\text{C}$ 下而非在-80 $^{\circ}\text{C}$ 下產生GCB片段。參見圖

2A及2B之道5-8。

實例3：IFGT之pH調整及後續凍乾

【0109】 當IFGT溶解於水中時，產生酸性溶液。特定而言，當103 mg酒石酸異煙胍溶解於5 ml水中時，溶液之pH係3.25。藉由將15 μ l 10 M氫氧化鈉添加至溶液中以將pH調整至6.0。

【0110】 將500 μ l等分試樣之pH經調整的IFGT溶液添加至2 ml艾本德管(Eppendorf tube)中。在乾冰上冷凍含有溶液之艾本德管持續一小時，用使用針穿孔之石蠟膜覆蓋，且凍乾隔夜。具有凍乾物之艾本德管顯示於圖3中。

實例4：將GCB添加至pH經調整之IFG中

【0111】 在將GCB添加至pH 6.0經調整之IFGT中之前，亦使用檸檬酸鈉將GCB溶液之pH調整至6.0。特定而言，100 mg/ml GCB於50 mM檸檬酸鈉中產生具有pH 6.0之溶液。在將100 mM/ml IFGT (pH 6.0)添加至100 mg/ml GCB於50 mM檸檬酸鈉中時，pH係6.0。

實例5：添加pH調整之IFG不會使GCB不穩定

【0112】 SDS-PAGE用於分析製備於同一日(第0日)且儲存三日後(第3日)之各種GCB樣本，如下文所示，該等樣本包括添加至pH經調整之異煙胍的GCB。樣本在37°C下變性15分鐘。在8-16% Novex™三羥甲基胺基甲烷-甘胺酸預鑄式凝膠上進行SDS-PAGE。50 mM二硫蘇糖醇用作還原劑。一些樣本已添加pH未經調整之異煙胍。

道1：分子量標記

道2：0.5%分析對照(60 ng GCB)

道3：1%分析對照(120 ng GCB)

道4：12 μg GCB參考物，未還原

道5：12 μg GCB，100 mg/ml濃度，未還原

道6：12 μg GCB，100 mg/ml濃度，經還原

道7：12 μg GCB，100 mg/ml濃度，具有12 μg pH經調整之異煙肼，未還原

道8：12 μg GCB，100 mg/ml濃度，具有12 μg pH經調整之異煙肼，經還原

【0113】 在第3日樣本上進行SEC HPLC以確定穩定性。參數包括：添加有400 mM氯化鈉作為移動相之培養基DPBS，0.8 ml/min流速，Sepax Zenix-C SEC-150. 3 μm ，150 A，7.8 \times 300mm作為SEC管柱，及管柱溫度25 $^{\circ}\text{C}$ 。

【0114】 表4A中顯示第0日之結果且表4B中顯示第3日之結果。GCB帶見於道4-8中。在第0日或第3日未觀測到尺寸小於50 kDa之更小條帶。將異煙肼之pH調整至與GCB相似之6.0可能最小化GCB之不穩定。

實例6：pH經調整之IFGT針對GCB穩定性之分析

【0115】 將GCB濃縮至100 mg/ml。將100 mg/ml酒石酸異煙肼(IFGT)之pH調整至6.0。隨後使IFGT與GCB混合。在不進行IFGT之pH調整時，GCB/IFGT不穩定且藉由SDS-PAGE觀測到蛋白質剪輯。

【0116】 當進行pH調整時，如藉由SEC所量測，溶液中之GCB持續穩定至少三日。移動相係添加有400 mM氯化鈉之培養基DPBS，流速係0.8 ml/min，SEC管柱係Sepax Zenix-C SEC-150, 3 μm ，150 A，7.8 \times 300 mm。管柱溫度係25 $^{\circ}\text{C}$ 。藉由SEC分析四個樣本，顯示於圖5中。GCB於DS緩衝液中、具有98.8%純度之GCB參考物及具有98.7%純度之GCB用作

標準物。儲存三日之具有中和異煙胍(pH調整至6.0)的GCB亦在SEC上分析，且顯得穩定。

實例7：pH經調整之IFG對GCB穩定性之粒徑篩析層析法分析

【0117】 SEC分離分析係至少在下文表1中所列以下樣本上進行：

表1：

樣本名稱	描述
GR (GCB參考物)	稀釋至2.04 mg/ml之GCB
G4	4°C下稀釋至2.01 mg/ml之GCB樣本
GI4	4°C下稀釋至1.81 mg/ml之GCB/IFG樣本
G80	-80°C下稀釋至1.90 mg/ml之GCB樣本
GI80	-80°C下稀釋至1.81 mg/ml之GCB/IFG樣本

【0118】 以下參數用於SEC：添加有400 mM氯化鈉之培養基DPBS用作移動相。流速係0.8 ml/min。SEC管柱係Sepax Zenix-C SEC-150. 3 μm, 150 A, 7.8 × 300 mm。管柱溫度係25°C。

【0119】 結果顯示於圖6A及6B中。用SDS-PAGE觀測到的肽片段在約10分鐘及30秒至10分鐘及45秒處呈現峰洗提。相較於4°C下之樣本或甚至-80°C下之GCB樣本，-80°C下含異煙胍及GCB之樣本具有更少關於肽片段之峰。

實例8：GCB及IFG濃度對黏度之影響

【0120】 製備(a) GCB及與異煙胍混合之(b) GCB (GCB/IFG)的各種調配物。GCB調配物包括10 mg/ml GCB、25 mg/ml GCB、50 mg/ml GCB、75 mg/ml GCB及100 mg/ml GCB。GCB/IFG調配物包括10 mg/ml GCB與5 mg/mL酒石酸IFG、25 mg/ml GCB與12.5 mg/mL酒石酸IFG、50 mg/ml GCB與25 mg/mL酒石酸IFG、75 mg/ml GCB與37.5 mg/mL酒石酸IFG及100 mg/ml GCB與50 mg/mL酒石酸IFG。各調配物之黏度及剪切率係在黏度計((m-VROC from RheoSense, San Ramon, CA, USA)中量

測。各量測需要約200 μ l尺寸之樣本。報導Slope Fit Rsqrd > 0.98之黏度結果。結果顯示於下表中：

表2：

樣本	黏度(cP)	剪切率(1/s)	平方Slope Fit R
100 mg/ml GCB	4.952	119.4	0.9973
75 mg/ml GCB	2.455	621.4	0.9998
50 mg/ml GCB	1.722	953.6	0.9999
25 mg/ml GCB	1.312	1192.4	0.9994
10 mg/ml GCB	1.074	1192.4	0.9999

表3：

樣本	黏度(cP)	剪切率(1/s)	平方Slope Fit R
100 mg/ml GCB + 50 mg/ml IFGT	4.969	579.2	0.9896
75 mg/ml GCB + 37.5 mg/ml IFGT	2.911	95.2	0.96
50 mg/ml GCB + 25 mg/ml IFGT	1.565	953.6	0.9998
25 mg/ml GCB + 12.5 mg/ml IFGT	1.224	477.7	0.999
10 mg/ml GCB + 5 mg/ml IFGT	1.064	1192.4	0.9998

【0121】 黏度係與GCB之濃度相關。具有100 mg/ml GCB及50 mg/ml酒石酸IFG之調配物具有大約5 cP之黏度，其可遵從皮下注射。

實例9：藉由Biacore量測之pH 7.4及pH 5.0結合於GCB之IFG

【0122】 進行實驗以藉由表面電漿共振(SPR)在pH 7.4及5.0處表徵GCB及異煙肼結合親和力及動力學。此等pH可能闡釋GCB與異煙肼如何在不同環境中彼此結合，環境係諸如具有不同pH值的電漿、細胞質及溶酶體間隔。

【0123】 所有SPR實驗均藉由單循環動力學方法在Biacore S-200上進行。對於pH 7.4之實驗，將2 mg/ml GCB稀釋於pH 5.0之乙酸GE緩衝液中，獲得100 μ g/ml之最終濃度。固定化電泳緩衝液係10 mM HEPES，

5 mM EDTA，0.01% P-20，pH 7.4。此緩衝液隨後直接用於結合分析。

【0124】對於pH 5.0之實驗，將2 mg/ml GCB稀釋於pH 5.0之乙酸GE緩衝液中，獲得100 $\mu\text{g/ml}$ 之最終濃度。固定化電泳緩衝液係20 mM磷酸鈉，2.7 mM氯化鉀，137 mM氯化鈉，5 mM酒石酸鹽，0.01% P-20，pH 5.0。將酒石酸鹽添加至電泳緩衝液中，從而消除由酒石酸異煙胍引入之溶質效應。使用常規亞胺偶聯程序使GCB固定於CM5晶圓上。目標固定化水平係4000 RU。

【0125】對於pH 7.4之Biacore實驗，濃度範圍係0.39 -100 nM。總數係9點，2倍連續稀釋。對於pH 5.0之Biacore實驗，濃度範圍係0.39 -100 nM。總數係9點，2倍連續稀釋。

【0126】結合分析之條件如下：30 $\mu\text{l/min}$ 流速、120秒結合時間、600秒分離時間及3 M氯化鎂作為再生試劑。最初範圍係0.3 μM 達至100 μM 之異煙胍濃縮物流過單循環模式中之固定維拉昔酶 α ，無表面再生。

【0127】對於pH 5.0及pH 7.4研究之各者，進行兩次實驗。所獲資料顯示於下表中及圖7A-7D中。黑線代表實際資料，且紅線代表模型擬合。

表4：

pH 5.0下第一次實驗

ka (1/Ms)	kd (1/s)	K_D (M)	Rmax (RU)	tc	Chi ² (RU ²)	U值
1.25×10^4	0.00314	2.51×10^{-7}	26.73	8.51×10^5	0.138	1

表5：

pH 5.0下第二次實驗

ka (1/Ms)	kd (1/s)	K_D (M)	Rmax (RU)	tc	Chi ² (RU ²)	U值
9883	0.001954	1.98×10^{-7}	24.39	1.70×10^{10}	0.339	1

表6：

pH 7.4下第一次實驗：

ka (1/Ms)	kd (1/s)	K _D (M)	R _{max} (RU)	tc	Chi ² (RU ²)	U值
2.42×10^5	0.002274	9.40×10^{-9}	12.1	1.08×10^9	0.105	1

表7：

pH 7.4下第二次實驗：

ka (1/Ms)	kd (1/s)	K _D (M)	R _{max} (RU)	tc	Chi ² (RU ²)	U值
2.80×10^5	0.001785	6.38×10^{-9}	10.86	6.90×10^9	0.178	2

【0128】 在pH 5.0下結合之GCB/IFG的K_D係198-251 nM。在pH 7.4下結合之GCB/IFG的K_D係6.4-9.4 nM。

實例10：異煙肼提高維拉昔酶 α 之融化溫度

【0129】 使用奈米示差掃描螢光測定法(nano-DSF)評估單獨維拉昔酶或與不同比率之異煙肼組合之維拉昔酶的熱穩定性(圖8)。以40 mg/mL維拉昔酶 α 濃度在指定異煙肼莫耳比下製備初始樣本。在加載至nano-DSF設備上之前，將樣本稀釋至2 mg/mL維拉昔酶 α 濃度。圖8中所列之樣本條件如下：

對照：無D-酒石酸異煙肼(IFGT)

樣本1：100×莫耳比IFGT

樣本2：30×莫耳比IFGT

樣本3：10×莫耳比IFGT

樣本4：3×莫耳比IFGT

樣本5：無IFGT

樣本7：100×莫耳比鹽酸異煙肼

樣本8：100×莫耳比乙酸異煙肼

【0130】 亦使用GCB酶活性分析測定結合於維拉昔酶 α 之異煙肼。在37°C下進行酶反應持續1小時。用維拉昔酶 α 預培養酒石酸異煙肼大約

10分鐘。

【0131】 酒石酸異煙胍之分析濃度表示於圖9A-9C中所示之圖表中。在pH 5.0下，維拉昔酶 α 之最終分析濃度係~1 nM，且在pH 7.4下，最終分析濃度係~10 nM。圖9A顯示使用合成比色pNP-GPS受質的活性抑制曲線。圖9B顯示使用合成螢光4MU-GPS受質的活性抑制曲線。圖9C顯示使用天然醣神經鞘脂質C12-GluCer受質的活性抑制。C12-GluCer裂解反應係藉由使用葡萄糖氧化酶分析套組量測葡萄糖產生而分析。

實例11：三週穩定性研究

【0132】 GCB與D-酒石酸異煙胍之四種不同混合物係如下文表8中所示製備。

表8：

混合物名稱	GCB濃度 (mg/ml)	D-酒石酸IFG 濃度(mg/ml)	GCB與IFGT之 莫耳比
第1組	15	2.25	1:30
第2組	15	0.75	1:10
第3組	15	0.225	1:3
第4組	15	0.075	1:1

【0133】 在最初時間點且在40°C下儲存三週後，分析如藉由SEC、rpHPLC及SDS-PAGE之各者量測之具體活性及純度。SEC可檢測可溶性高分子量種類，而rpHPLC提供有關GCB之化學穩定性之資訊，諸如抗氧化性。SDS-PAGE可檢測蛋白質剪輯及聚集。針對具體活性，參考標準物之活性係16 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ (第0日)及18 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ (第3週)。使用基於螢光之活性分析，觀測到顯著逐日可變性。相較於參考標準物之活性，所有穩定性樣本均具有稍高活性。

【0134】 亦進行視覺檢測。樣本之圖像顯示於圖10A中。資料顯示於下表中。在圖10B中所示之SDS-PAGE結果中，下道對應於上文樣本：

道1：分子量標記

道2：12 µg GCB參考物，未還原

道3：12 µg GCB，第1組，未還原

道4：12 µg GCB，第2組，未還原

道5：12 µg GCB，第3組，未還原

道6：12 µg GCB，第4組，未還原

表9：

混合物名稱	第0日之具體活性 (µmol/min/mg)	第3週之具體活性 (µmol/min/mg)
第1組，1:30莫耳比之GCB:IFG	21	28
第2組，1:10莫耳比之GCB:IFG	20	22
第3組，1:3莫耳比之GCB:IFG	25	28
第4組，1:1莫耳比之GCB:IFG	22	22

表10：

混合物名稱	第0日之SEC純度 (%)	第3週之SEC純度 (%)
第1組，1:30莫耳比之GCB:IFG	99.6	99.4
第2組，1:10莫耳比之GCB:IFG	99.5	99.3
第3組，1:3莫耳比之GCB:IFG	99.5	99.2
第4組，1:1莫耳比之GCB:IFG	99.5	98.8

表11：

混合物名稱	第0日之rpHPLC純度 (%)	第3週之rpHPLC純度 (%)
第1組，1:30莫耳比之GCB:IFG	97.4	96.8
第2組，1:10莫耳比之GCB:IFG	97.4	98.3
第3組，1:3莫耳比之GCB:IFG	97.4	98.1

第4組，1:1莫耳比 之GCB:IFG	97.3	98.3
------------------------	------	------

表12：

混合物名稱	第0日之SDS-PAGE純度(%)	第3週之SDS-PAGE純度(%)
第1組，1:30莫耳比 之GCB:IFG	>98	>98
第2組，1:10莫耳比 之GCB:IFG	>98	>98
第3組，1:3莫耳比 之GCB:IFG	>98	>98
第4組，1:1莫耳比 之GCB:IFG	>98	觀測到聚集物

【0135】 GCB與IFG之1:1莫耳比極低，無法在40°C下提供三週以上穩定性。聚集物見於SDS-PAGE分析中，且溶液在三週時呈渾濁。然而，在1:3 GCB:IFG之莫耳比下且超過三週，純度係至少98%於SDS-PAGE中，且溶液呈透明。

實例12：石蟹獼猴中靜脈內GCB及皮下GCB與IFG之藥物動力學研究

【0136】 測試兩組石蟹獼猴之GCB的藥物動力學。在第1組中，藉由靜脈內注射投與GCB一次。在第2組中，藉由皮下注射投與GCB與IFG之調配物一次。分別在給藥後1小時、2小時、8小時及24小時處自肝及脾收集三個樣本。研究設計之其他細節顯示於下文表13中：

表13：

小組編號及來源	測試物品及劑量	濃度(mg/ml)	劑量體積(ml/kg)	ROA/TOA
1 (12隻雄性， PNN來源)	10 mg/kg GCB	10	1	IV注射，在 第1日1次 (T=0)
2 (12隻雄性， PNN來源)	調配在一起之10 mg/kg GCB及5 mg/kg酒石酸異 煙肼(100× IFG 莫耳比)	100 (GCB) 50 (酒石酸異 煙肼)	0.1	SC注射，在 第1日1次 (T=0)

【0137】 在給藥後1、2、8及24小時處(n=3)自肝及脾收集樣本。

【0138】 隨後在所有樣本上進行組織學分析。加工10% NBF固定肝及脾用於石蠟塊。製備5個微米部分用於GCB IHC (1:10,000之初級抗體TK36-小鼠抗huGCB)及蘇木精及伊紅染色(Haemotoxylin and Eosin staining)。

【0139】 圖11顯示肝及脾中針對猴組織上GCB IHC染色之陰性及陽性對照組。缺少GCB IHC抗體時，可見微小染色(頂部格塊)。存在GCB IHC抗體時，在未處理之肝中可見模糊背景染色(下部左側格塊)。存在GCB IHC抗體時，在處理之肝及脾中可見深色染色(下部中間及下部右側格塊)。特定而言，肝顯示庫普夫細胞(Kupffer cell)、內皮細胞及肝細胞中之GCB陽性染色，且脾顯示內皮細胞及巨噬細胞陽性染色。

【0140】 在藉由靜脈內注射投遞GCB且藉由皮下注射投遞GCB與IFG後，研究肝中之GCB生物分佈。在藉由皮下注射處理之猴的肝中，在8小時時間點處可見較強GCB。在藉由靜脈內注射處理之猴的肝中，在1小時及2小時時間點處可見較強GCB染色。結果顯示於圖12 (2×放大率)及圖13 (20×放大率)。

【0141】 類似結果見於脾中，如圖14 (2×放大率)及圖15 (20×放大率)所示。此等資料表示，皮下投與GCB與IFG可提供與IV投與GCB相當之GCB組織曝露量。

實例13：肝及脾中維拉昔酶 α 活性與蛋白質含量之關聯

【0142】 在石蟹獼猴中IV劑量投與後，分析肝及脾均質物中維拉昔酶 α 蛋白質及酶活性水平。在給藥後(0.5-24小時)後，在預定時間點處收集組織。資料顯示於圖16A及16B中。特定而言，圖16A顯示使用維拉昔酶 α 僅在2-10 mg/kg範圍內IV給藥之結果。圖16B顯示使用對應量之異煙肼

(0.0075-5 mg/kg)從而維拉昔酶 α :異煙肼之莫耳比係1:3調配之維拉昔酶 α 在1.5-10 mg/kg範圍內進行SC給藥之結果。

實例14：皮下投與酒石酸異煙肼後石蟹獼猴中之血清GCB活性水平

【0143】 在皮下(SC)投與維拉昔酶 α 與酒石酸異煙肼後，分析石蟹獼猴中之GCB血清活性水平。資料顯示於圖16C中。自載劑及用GCB處理且範圍係4 - 14 ng/mL或0.07 - 0.25 nmol 4MU/min/mL之預給藥動物(n=39)確定內源GCB血清活性。此血清活性中之提高可能由防止原生GCB分解過程持續出現於血清中而導致。基於來自更高0.025 mg/kg劑量之資料，併入Vela-3xIFGT (0.0225 mg/kg)中之酒石酸異煙肼劑量不會提高內源血清GCB活性。

實例15：IFG在維拉昔酶 α SC血清曝露量中提供>25×提高

【0144】 相較於4 mg/kg IV劑量之維拉昔酶 α ，以4 mg/kg劑量對石蟹獼猴皮下投與1:3莫耳比之維拉昔酶 α 及IFG能夠提供大於25倍之血清曝露量提昇。莫耳比超過維拉昔酶 α 3倍至100倍之IFG產生血清曝露量之類似提高。如ECL ELISA分析測定之血清生物可用性提昇與GCB活性分析(4MU-GPS受質)相關。結果顯示於圖17A及17B中。將0.07 mg/kg IFGT添加至4 mg/kg GCB中顯著提昇血清中之GCB量(16A)以及GCB之總體酶活性(16B)。因此，資料顯示，當GCB與例如IFGT之IFG共調配時，尤其以至少1:3 (GCB:IFG，例如GCB:IFGT)之莫耳比共調配時，其可提供允許SC投與之血清生物可用性。

實例16：相較於單獨靜脈內投與VPRIV，以1:100莫耳比皮下投與VPRIV及IFG之優越組織生物分佈

【0145】 以4 mg/kg劑量對石蟹獼猴皮下投與1:100莫耳比之維拉昔

酶 α 及IFG能夠賦予超過10 mg/kg單獨IV投與維拉昔酶 α 之維拉昔酶 α 的組織吸收。VPRIV之護理IV輸液劑量標準係1.5 mg/kg。在一些實施例中，可能使用大約1.5 mg/kg之目標皮下劑量。在1 ml之HEPES/Triton X-100溶解緩衝液中使約250 mg之組織均質化。組織中之維拉昔酶 α 含量係使用ECL ELISA分析量測，且校正至如BCA分析所確定之總蛋白質含量。結果顯示於圖18A及18B中。在皮下投與1:100莫耳比之GCB:IFG後，肝(18A)及脾(18B)中存在之GCB的曝露情況優於在5日(120小時)過程中靜脈內投與GCB之曝露情況。

實例17：相較於單獨靜脈內投與VPRIV，以1:3莫耳比皮下投與VPRIV及IFG之組織生物分佈比較性

【0146】 以目標1.5 mg/kg臨床劑量對石蟹獼猴皮下投與1:3莫耳比之維拉昔酶 α 及IFG能夠賦予與單獨投與2 mg/kg IV劑量之維拉昔酶 α 相當的維拉昔酶 α 組織吸收。VPRIV之護理IV輸液劑量標準係1.5 mg/kg。在1ml之HEPES/Triton X-100溶解緩衝液中使約250 mg之組織均質化。組織中之維拉昔酶 α 含量係使用ECL ELISA分析量測，且校正至如BCA分析所確定之總蛋白質含量。結果顯示於圖19A及19B中。在皮下投與1:3莫耳比之GCB:IFG後，肝中存在之GCB的量與在8小時及24小時時間點處靜脈內投與GCB之量具有可比性。類似地，在皮下投與1:3莫耳比之GCB:IFG後，脾中之GCB組織曝露量與在8小時及24小時時間點處靜脈內投與GCB之量具有可比性。

【0147】 類似地，在皮下投與1:3莫耳比之GCB:IFG後，脾中之GCB組織曝露量與在8小時及24小時時間點處靜脈內投與GCB之量具有可比性。因此，將例如IFGT之IFG添加至GCB調配物中可允許含有調配物

之GCB皮下投與。

實例18：低至1:1之異煙胼比率提供類似於較高異煙胼莫耳比之血清曝露量

【0148】 以1.5 mg/kg劑量對石蟹獼猴皮下投與1:1莫耳比之維拉昔酶 α 及IFG能夠提供與較高異煙胼比率類似之GCB血清曝露量。對於1:1與1:100之間的莫耳比，未觀測到GCB血清曝露量之明顯差異。如ECL ELISA分析測定之血清生物可用性提昇與GCB活性分析(4MU-GPS受質)相關。結果顯示於圖20A及20B中。

【0149】 給藥前，用於給藥之測試物品製備為針對動物設施之冷凍調配物。給藥前，將測試物品解凍大約1至3小時。因此，資料顯示，若室溫儲存不穩定性可在GCB與例如IFGT之IFG共調配、特定而言以至少1:1 (GCB:IFG，例如GCB:IFGT)之莫耳比共調配時藉由低溫存儲(例如，冷凍)避免，則其可提供允許SC投與之足夠血清生物可用性。

實例19：異煙胼防止VPRIV在37°C下於人類血清中熱變性

【0150】 測試含有10 nM VPRIV (一種形式之GCB)的血清以確定IFG能否使GCB穩定。將IFG添加至VPRIV中，從而IFG在血清中具有以下IFG濃度：1 nM、3 nM、10 nM、30 nM、100 nM、300 nM及1000 nM。使用未添加IFG之陰性對照。

【0151】 使用4-甲基傘形酮b-D-葡萄糖吡喃醣苷受質的裂解量測酶活性。在60分鐘內，1 nM IFG及10 nM IFG之陰性對照的活性自100%降低至約40%。參見圖21。然而，添加30 nM (3×莫耳比)及更高之濃度防止多數活性損失。IFG可能有效防止GCB在血清中熱變性。IFG及IFGT介導之防止GCB的熱變性可能提高GCB生物可用性，提高血清中之GCB持久

性且保證更長細胞及組織的GCB吸收過程。

【0152】 本發明之範疇不受本文所述之特定實施例限制。實際上，本發明之各種修改以及本文所述之彼等修改將自先前描述及所附圖示而對本領域中之彼等技術者顯而易見。該等修改意欲落入所附申請專利範圍之範疇中。應進一步理解，所有值均係近似值且用於描述。

【0153】 本文提及之所有公開案、專利申請案、專利及其他參考文獻均以引用方式全文併入。在矛盾之情況下，以包括定義之本說明書為準。此外，材料、方法及實例僅具有闡釋性，且不意欲具有限制性。

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種組合物，其包含1:2.5至1:30之莫耳比之葡萄糖腦苷脂酶(GCB)及異煙肼(isofagomine)(IFG)，其中該組合物係用於皮下投與，且其中該組合物之pH係6.0至7.5。

【請求項2】

如請求項1之組合物，其中該GCB係維拉昔酶 α (velaglucerase alfa)。

【請求項3】

如請求項1之組合物，其中該GCB與該IFG之莫耳比係(a) 1:2.5至1:10，或(b) 1:10至1:30，或(c) 1:2.5至1:3.5，或(d) 1:3.0。

【請求項4】

如請求項1之組合物，其中該組合物係於(a) 20°C至40°C，或(b) 0°C至20°C，或(c) 小於0°C之溫度儲存。

【請求項5】

如請求項1之組合物，其中該組合物係液體或凍乾物。

【請求項6】

如請求項1之組合物，其進一步包含醫藥學上可接受之賦形劑、醫藥學上可接受之鹽，或醫藥學上可接受之賦形劑及醫藥學上可接受之鹽二者。

【請求項7】

如請求項1之組合物，其中該IFG係酒石酸異煙肼，其中視情況該酒石酸異煙肼係D-酒石酸異煙肼。

【請求項8】

如請求項1之組合物，其進一步包含抗氧化劑，及/或碳水化合物，及/或界面活性劑。

【請求項9】

如請求項1之組合物，其中該組合物包含45-120 mg/mL GCB及0.2-1.8 mg/mL異煙肼，尤其60 mg/mL GCB及0.9 mg/mL異煙肼。

【請求項10】

如請求項9之組合物，其中該組合物進一步包含

- (a) 50 mM檸檬酸鈉或磷酸鈉及0.01%聚山梨醇酯20，或
- (b) 5-20 mM檸檬酸鈉及0.01%聚山梨醇酯20，或
- (c) 10 mM檸檬酸鈉及0.01%聚山梨醇酯20，或
- (d) 5-20 mM磷酸鈉及0.01%聚山梨醇酯20，或
- (e) 10 mM磷酸鈉及0.01%聚山梨醇酯20。

【請求項11】

一種容器，其包含如請求項1至10中任一項之組合物，其中視情況該容器係選自由以下組成之群：載藥之注射器、小瓶或安瓿。

【請求項12】

一種製備如請求項1至10中任一項之組合物的方法，其包含將該IFG溶解於水中，將該pH調整至6.0，及添加該GCB以生成該組合物。

【請求項13】

如請求項12之方法，其進一步包含以下一或多個步驟：

- (a) 在添加GCB之前凍乾該IFG，
- (b) 添加聚山梨醇酯20至0.01%，

(c) 使該組合物濾過0.22 μm 膜。

【請求項14】

一種如請求項1至10中任一項之組合物之用途，其係用於製備治療高歇氏病(Gaucher disease)的醫藥品。

【請求項15】

如請求項14之用途，其中該組合物係用於靜脈內或皮下投與，其中視情況該皮下投與係皮下注射。

【請求項16】

如請求項14或15之用途，其中該組合物係用於以下投與：

- (a) 每週兩次，或
- (b) 每週一次，或
- (c) 少於每週一次，或
- (d) 每隔一週一次。

【請求項17】

一種組合物之用途，其係用於製備治療高歇氏病(Gaucher disease)的醫藥品，其中該組合物包含0.5至5.0 mg/kg GCB及莫耳量超過GCB至少3倍之IFG，其中該組合物係用於皮下投與。

【請求項18】

如請求項17之用途，其中該組合物包含：

- (a) 0.8至4.0 mg/kg GCB，或
- (b) 1.0至3.0 mg/kg GCB，或
- (c) 1.2至2.0 mg/kg GCB，或
- (d) 1.5 mg/kg GCB，或

- (e) 2.0至5.0 mg/kg GCB，或
- (f) 2.25至4.5 mg/kg GCB，或
- (g) 2.25至3.75 mg/kg GCB，或
- (h) 3.5至5.0 mg/kg GCB。

【請求項19】

如請求項18之用途，其中該IFG與GCB之莫耳比為3至10。

【請求項20】

如請求項18之用途，其中該IFG與GCB之莫耳比為10至30。

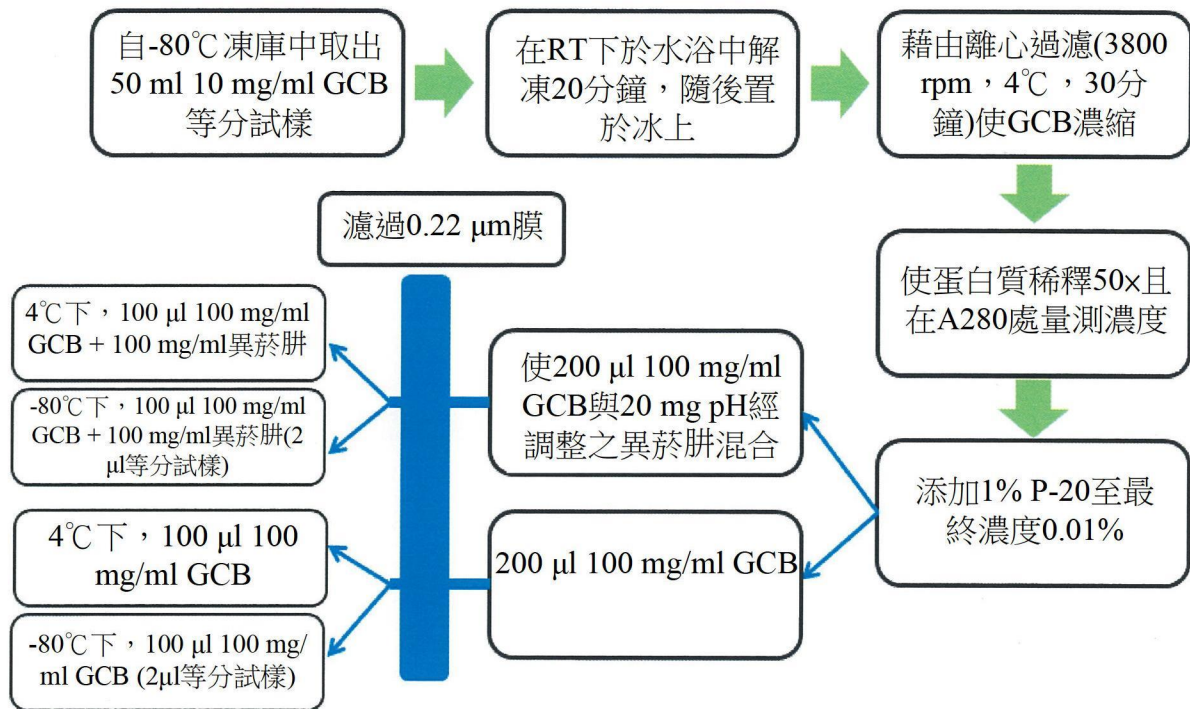
【請求項21】

如請求項18之用途，其中該IFG與GCB之莫耳比為30至100。

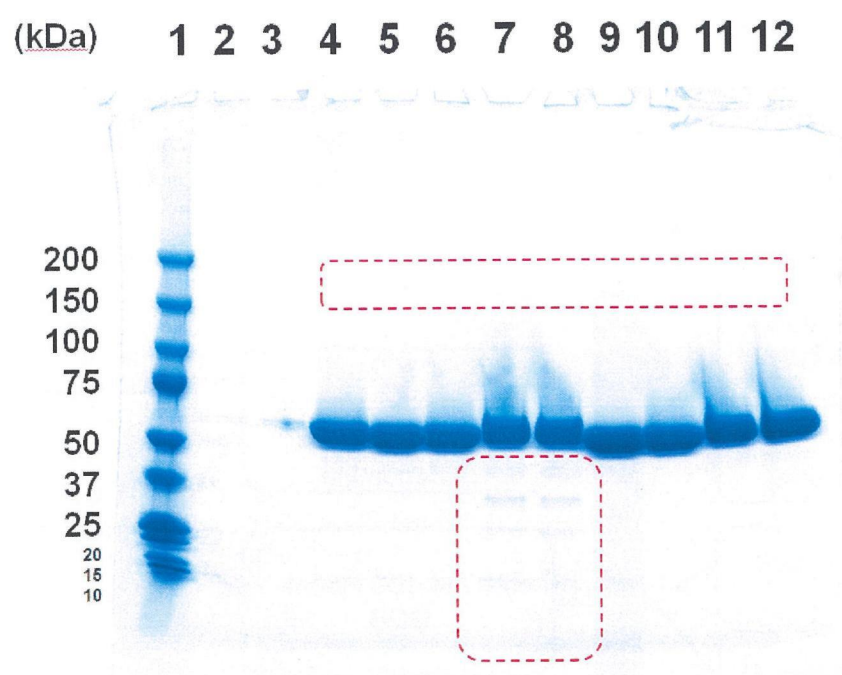
【請求項22】

如請求項18之用途，其中該IFG與GCB之莫耳比為3。

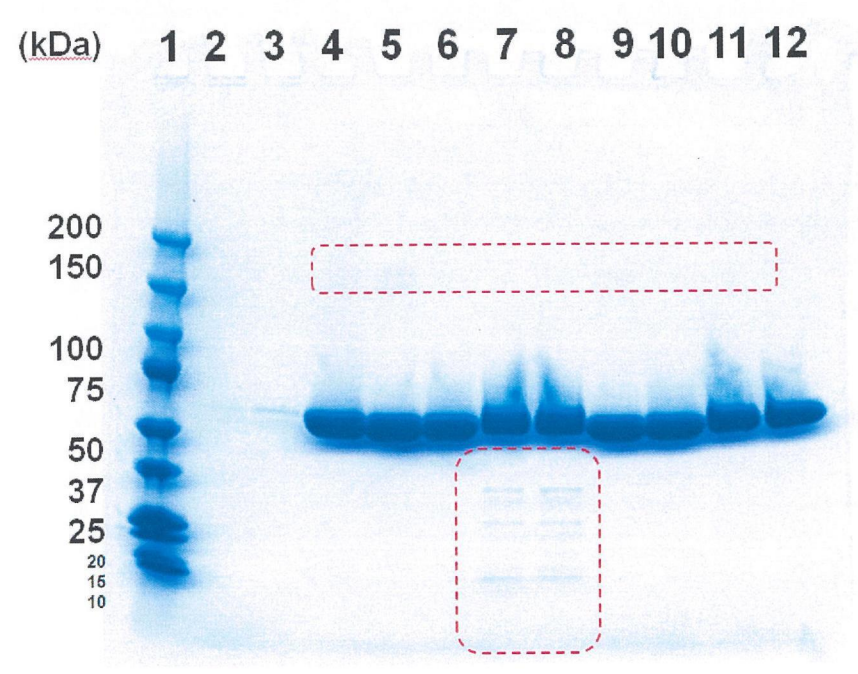
【發明圖式】



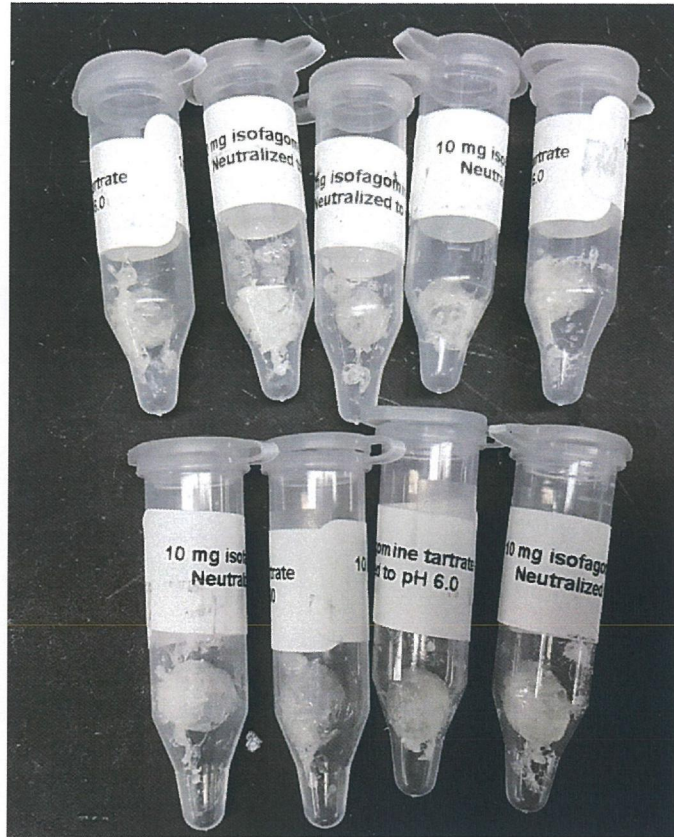
【圖1】



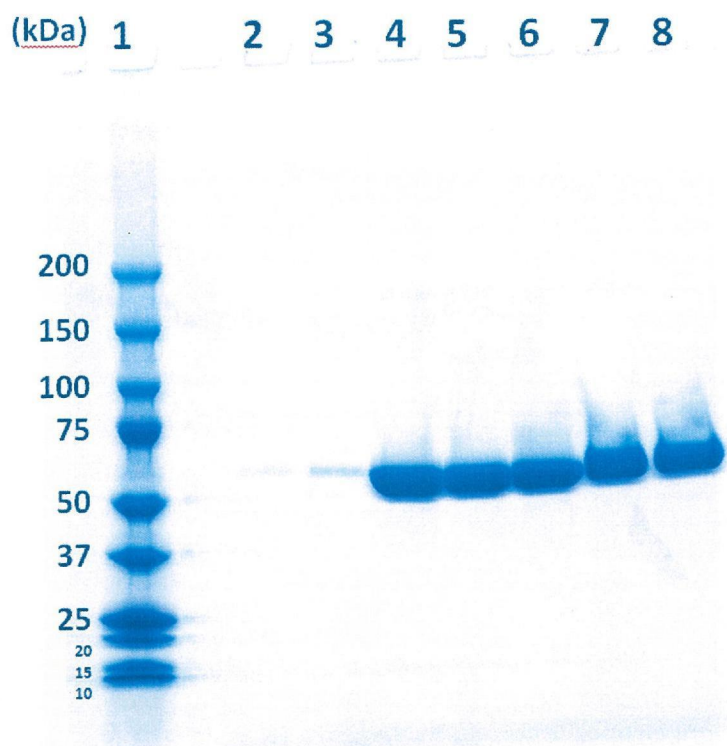
【圖2A】



【圖2B】



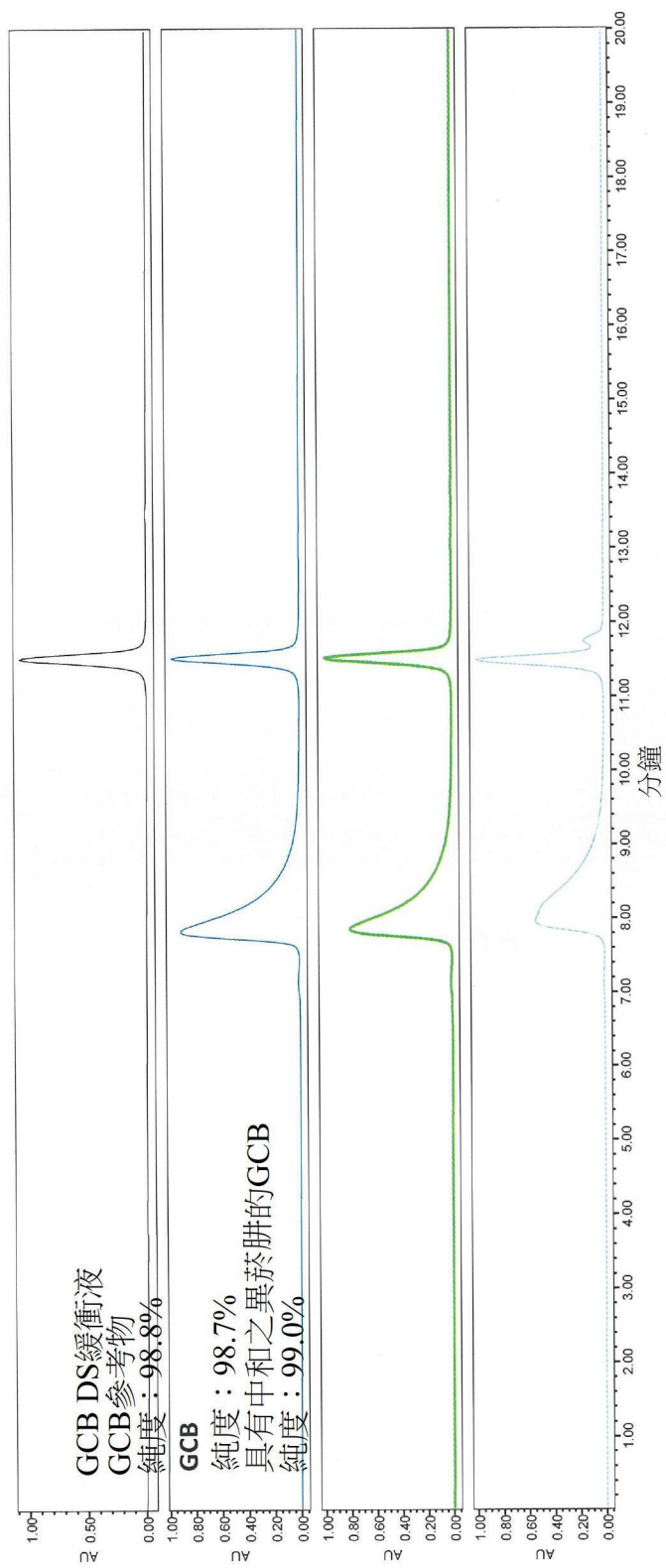
【圖3】



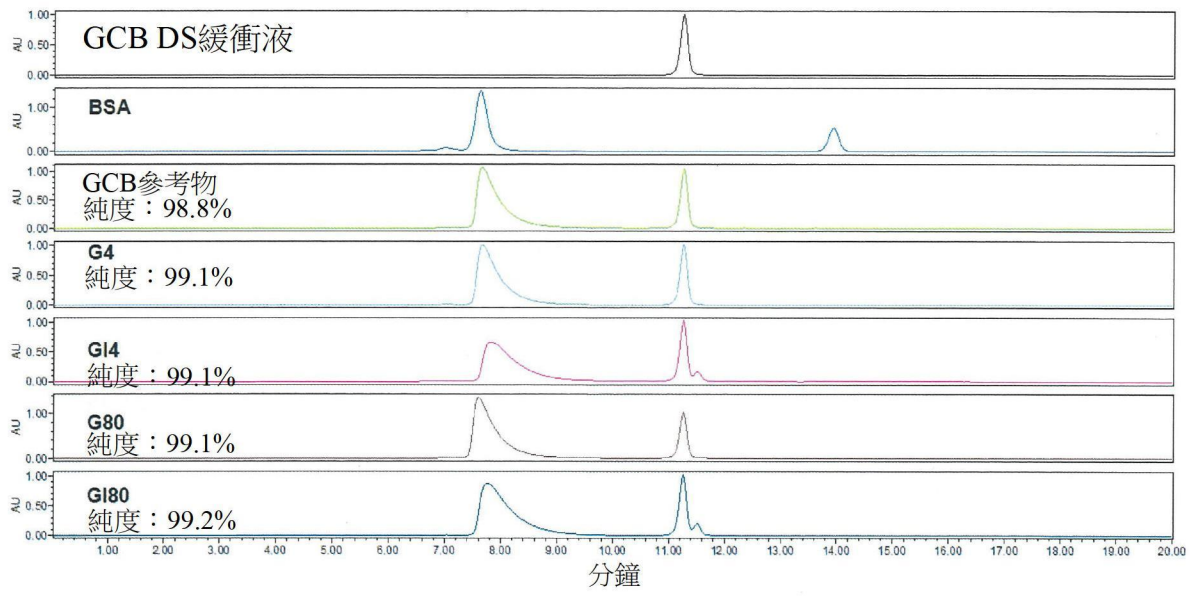
【圖4A】



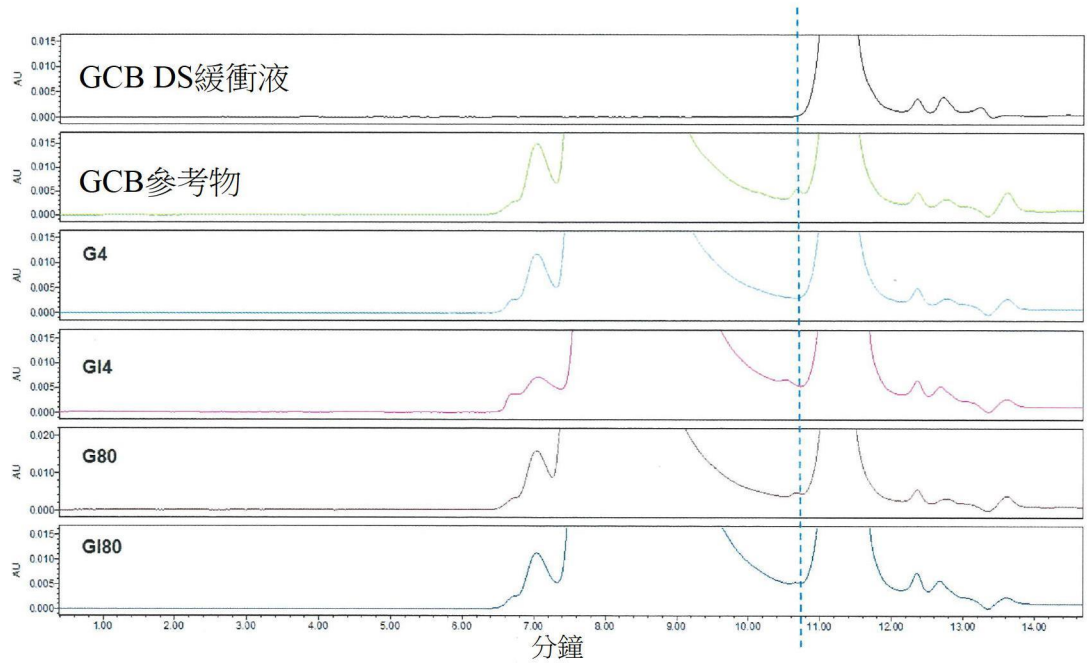
【圖4B】



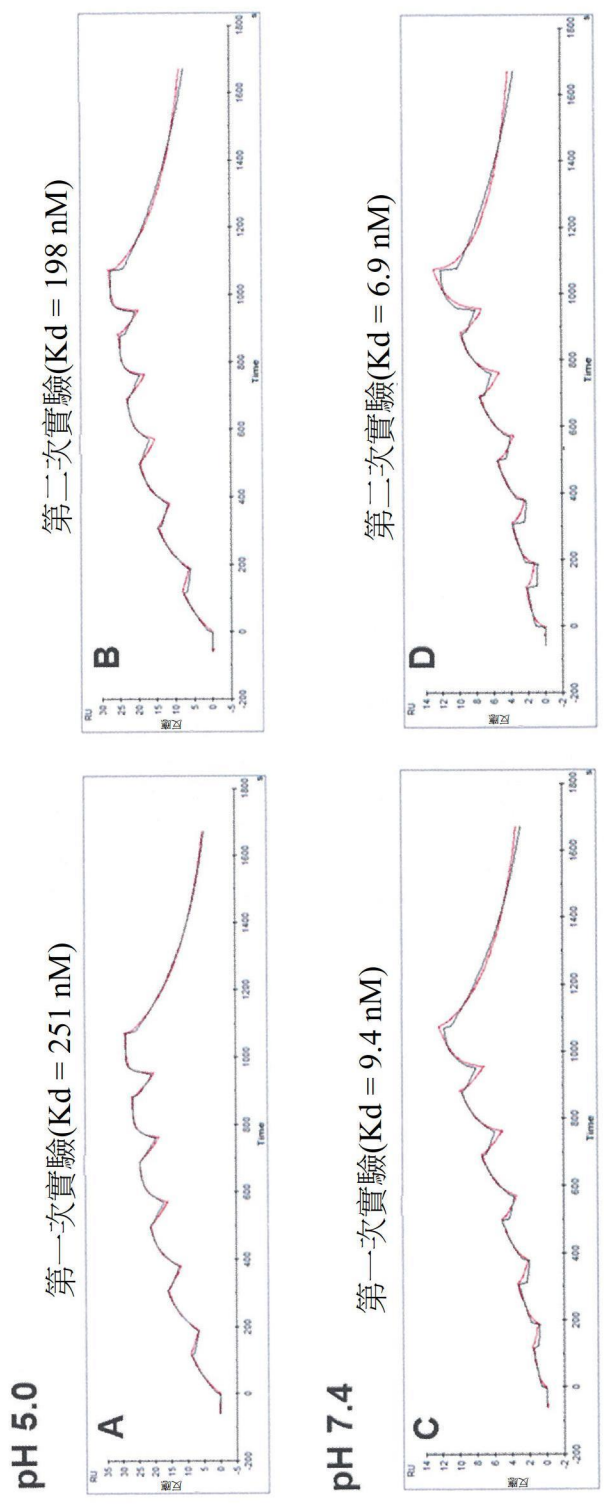
【圖5】



【圖6A】

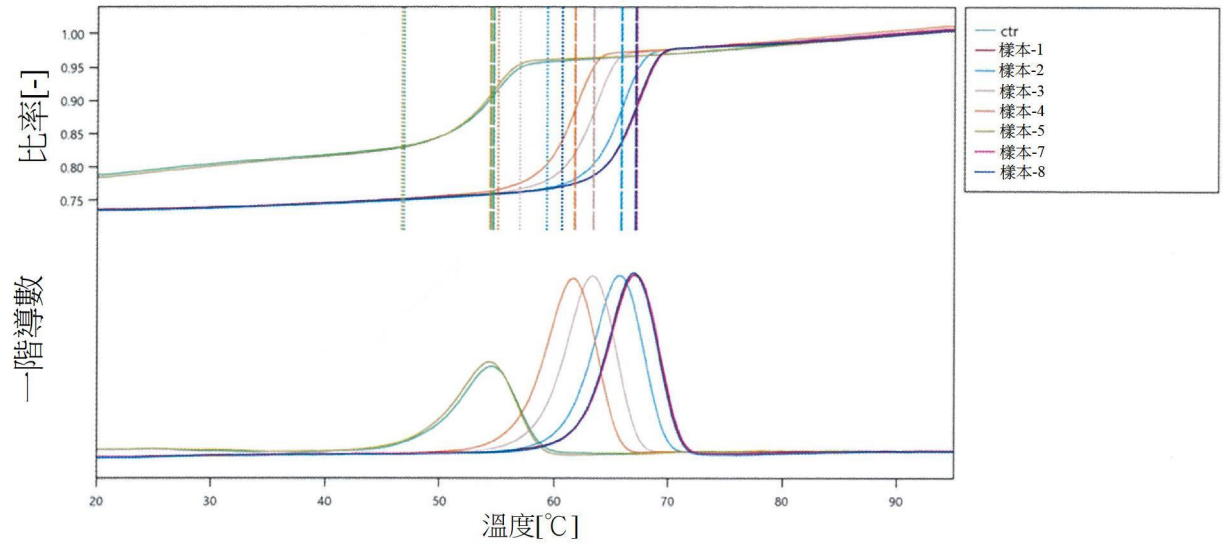


【圖6B】

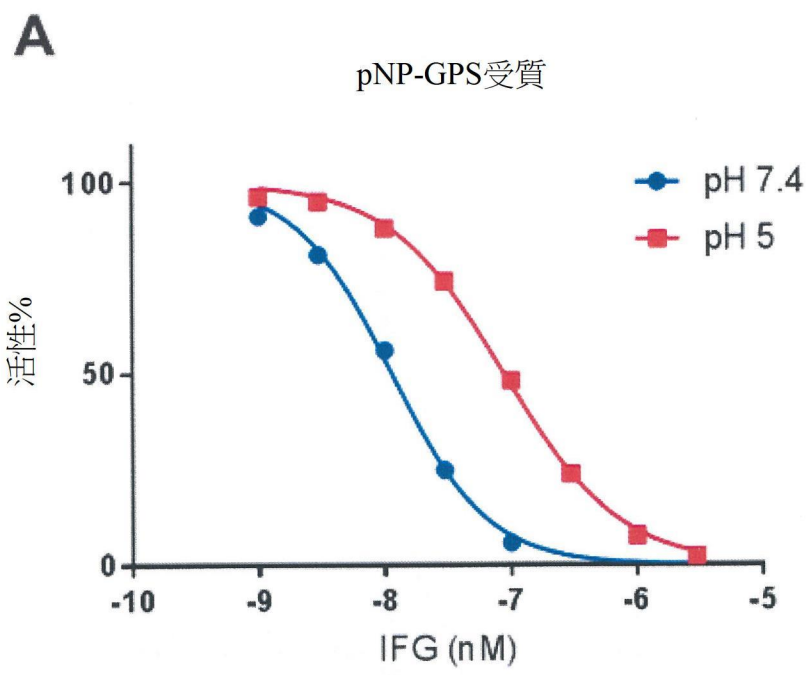


【圖7】

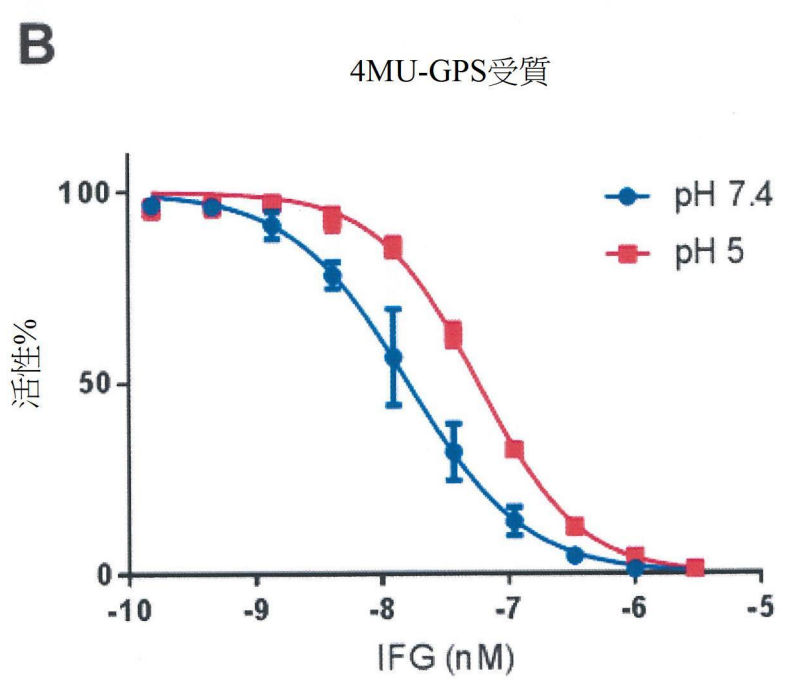
GCB-IFG滴定 2017年05月09日



【圖8】



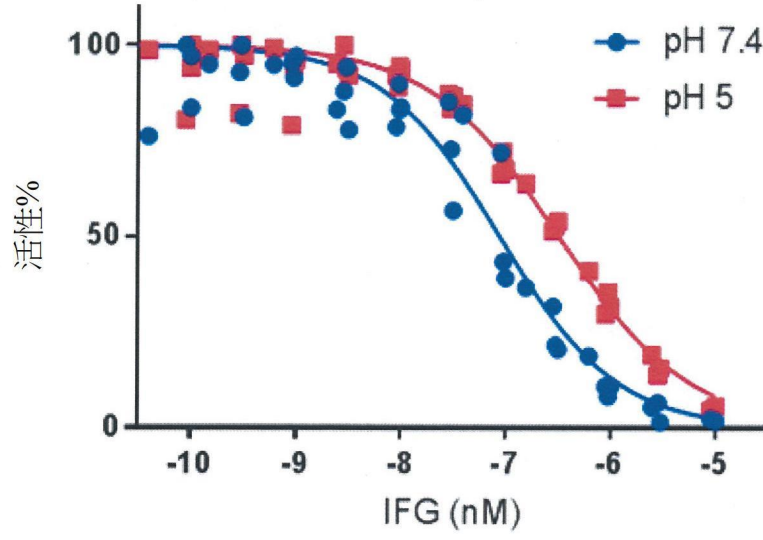
【圖9A】



【圖9B】

C

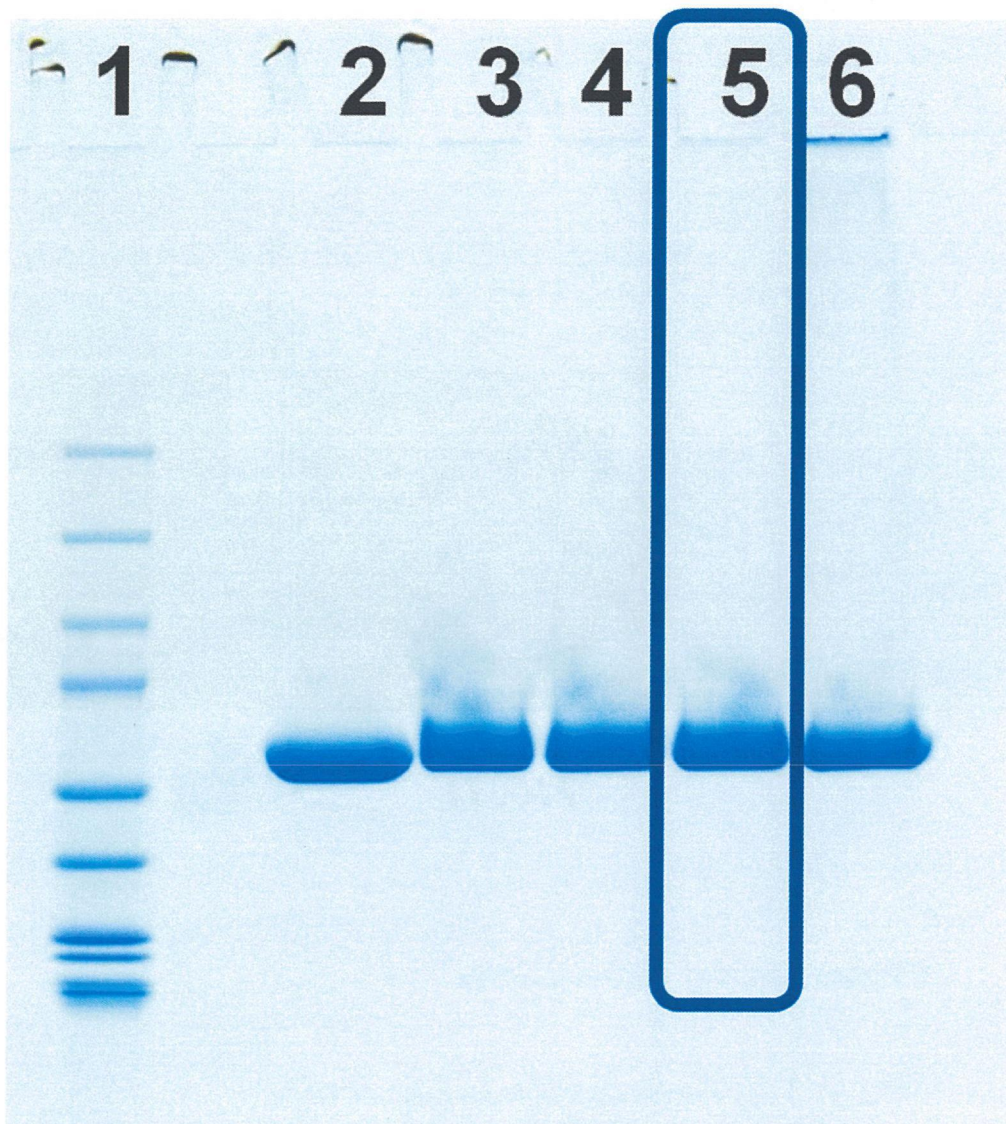
C12-葡萄糖神經醯胺受質



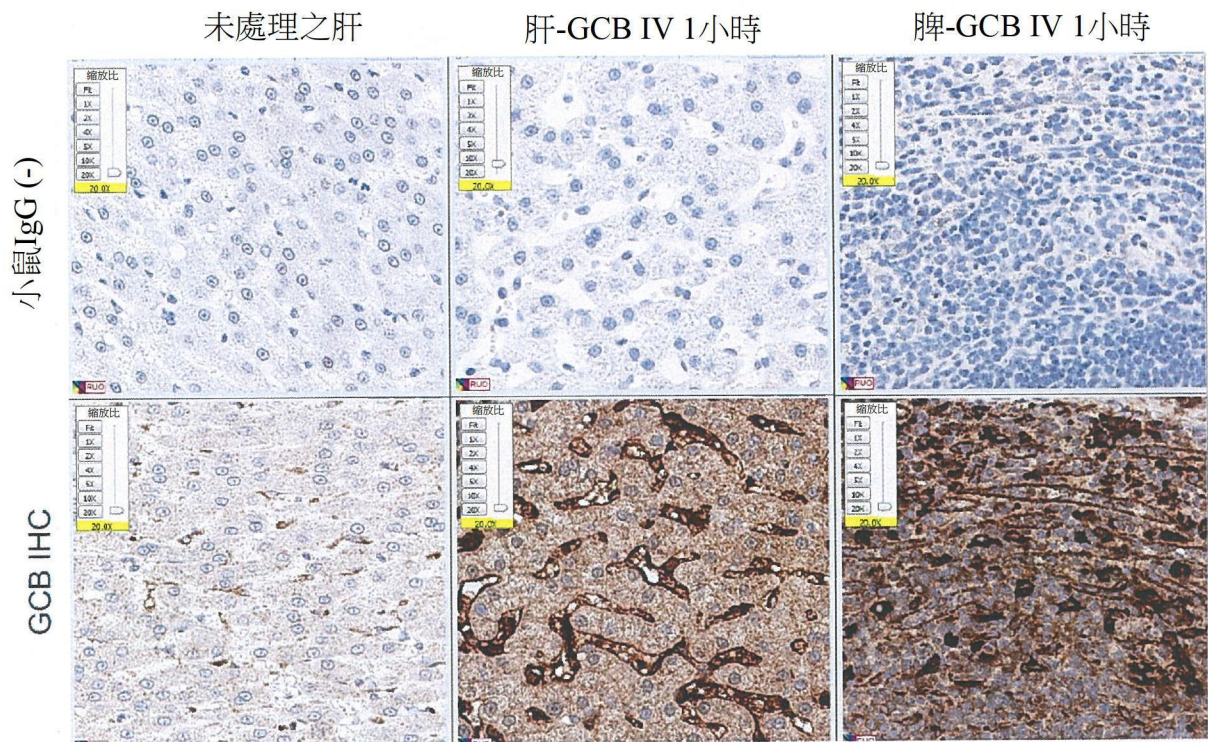
【圖9C】



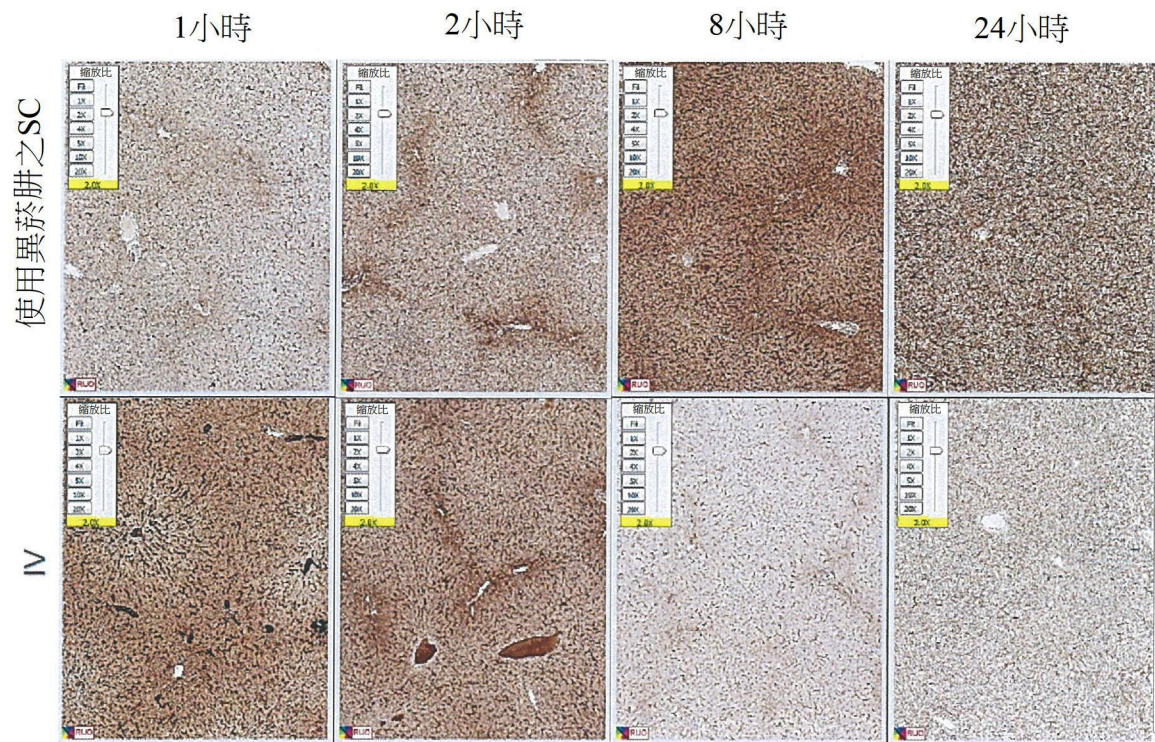
【圖10A】



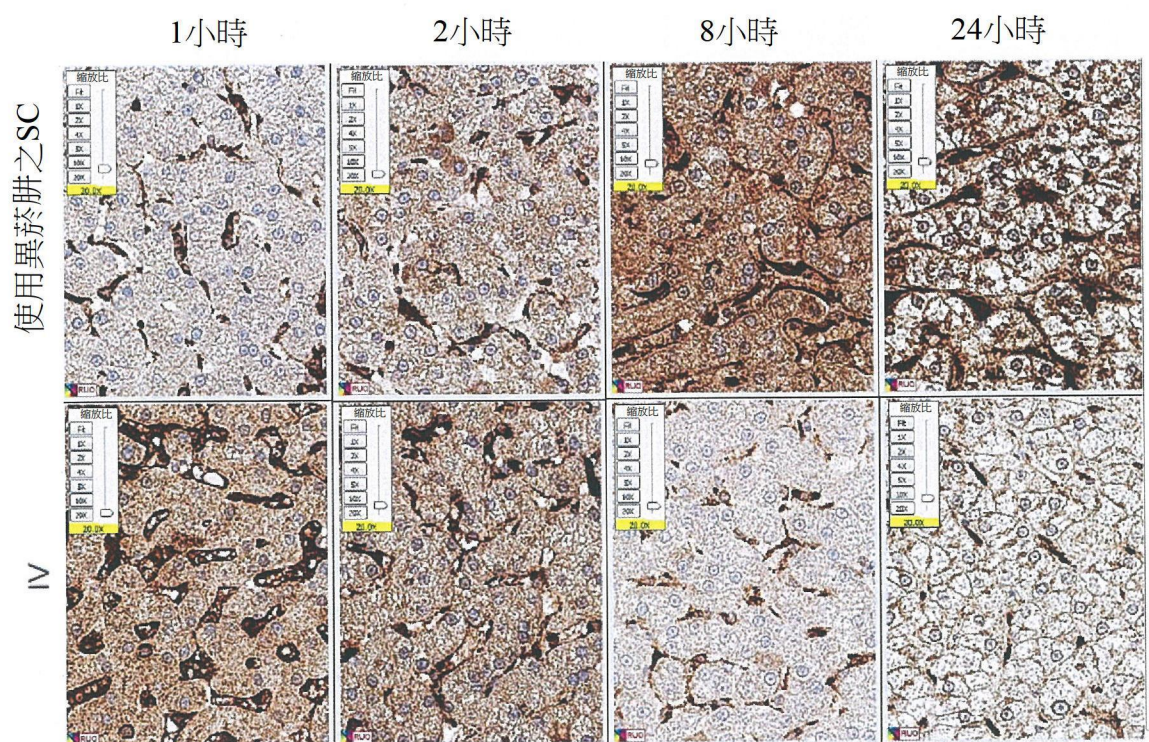
【圖10B】



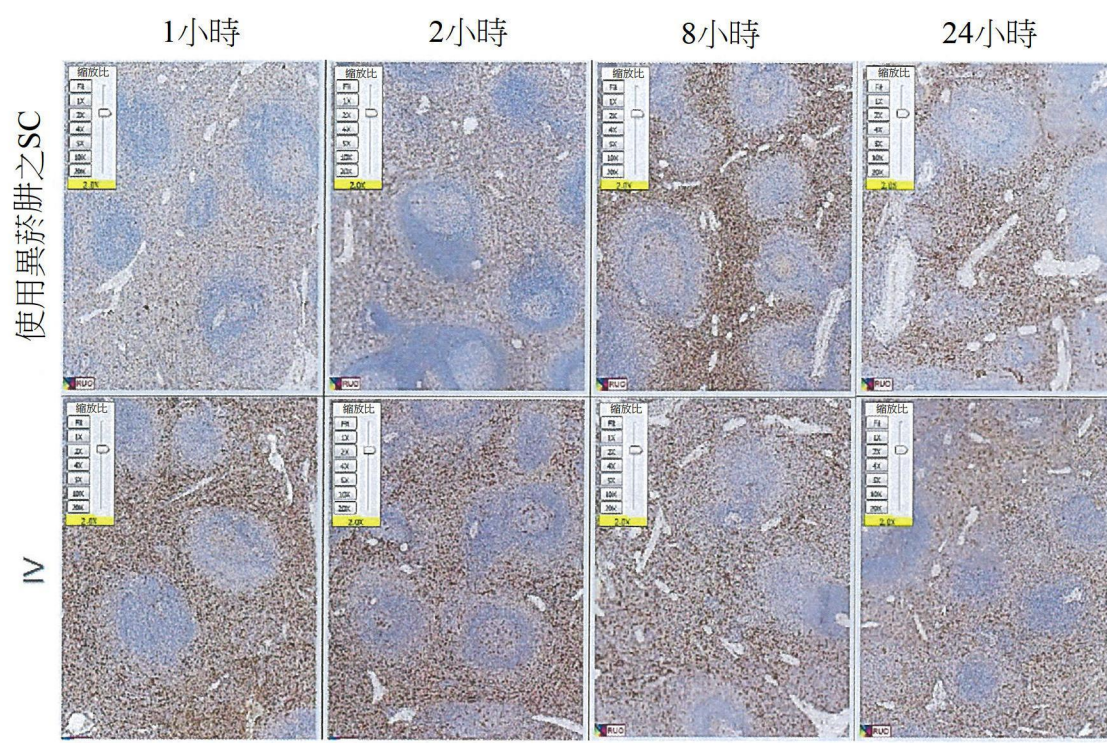
【圖11】



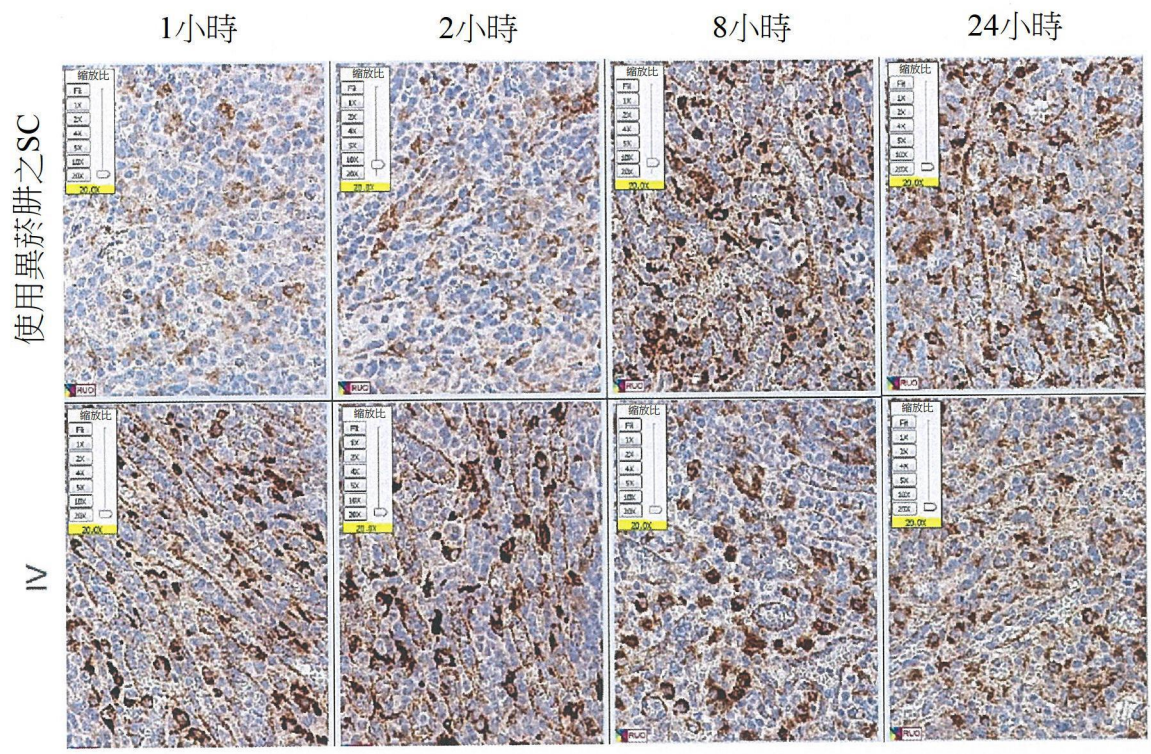
【圖12】



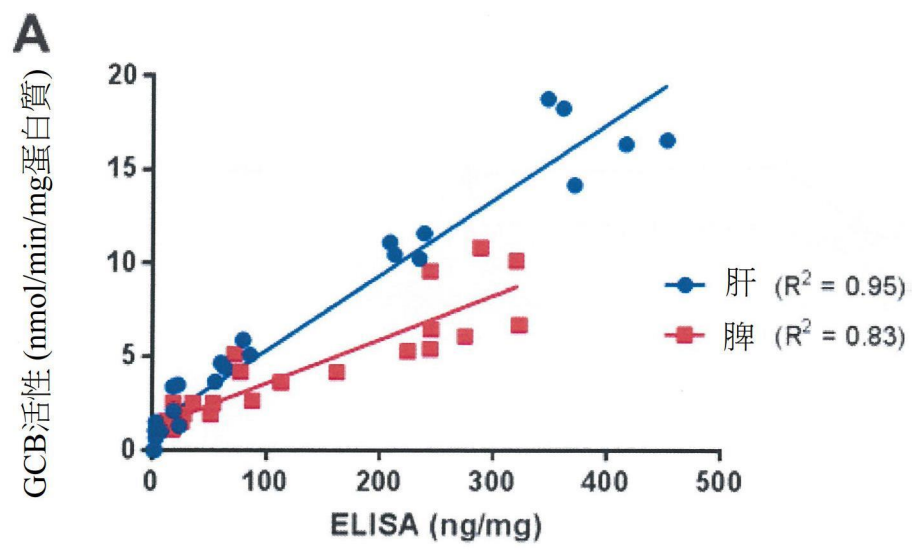
【圖13】



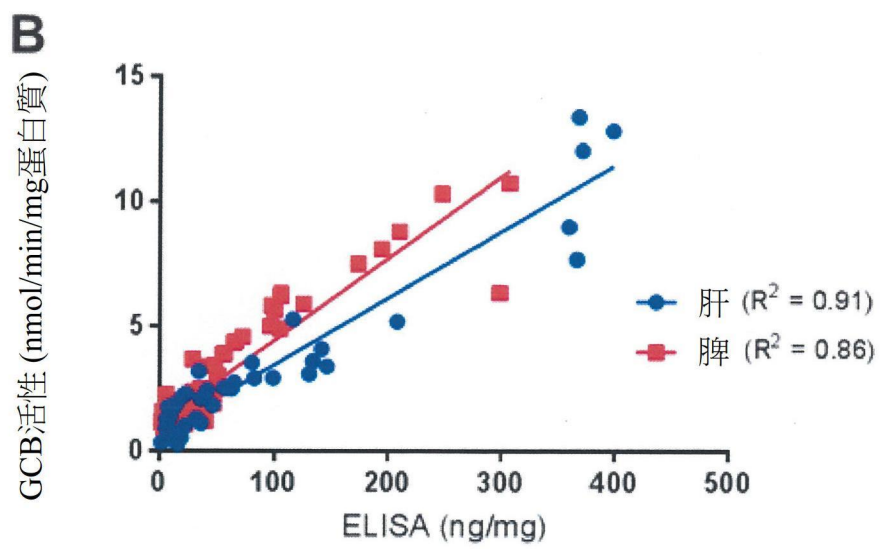
【圖14】



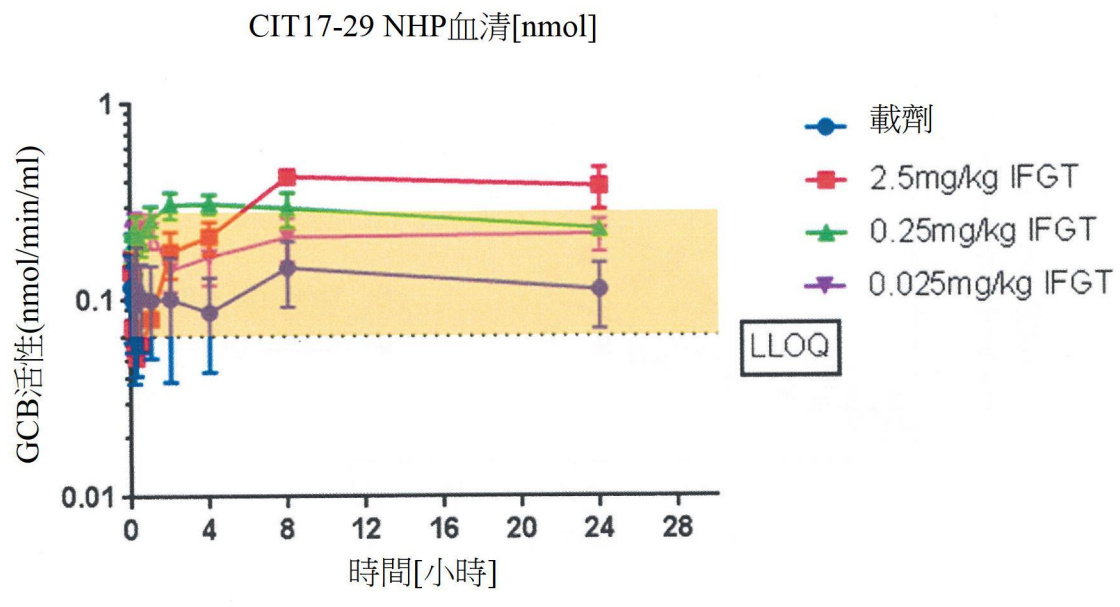
【圖15】



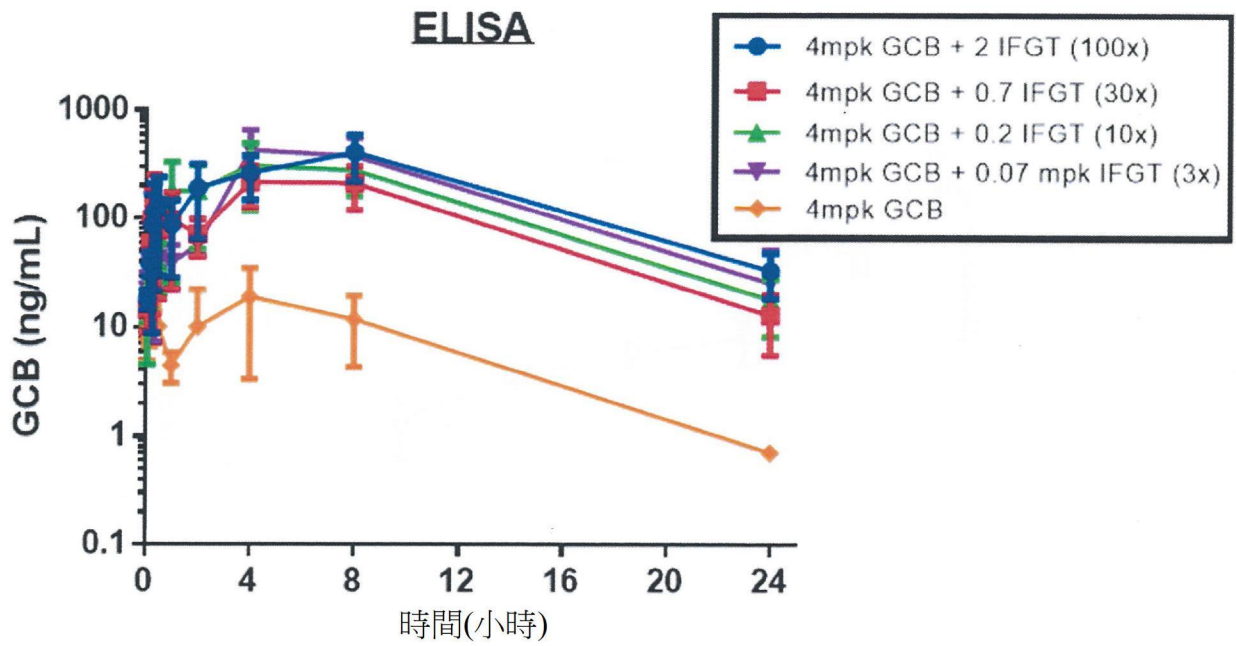
【圖16A】



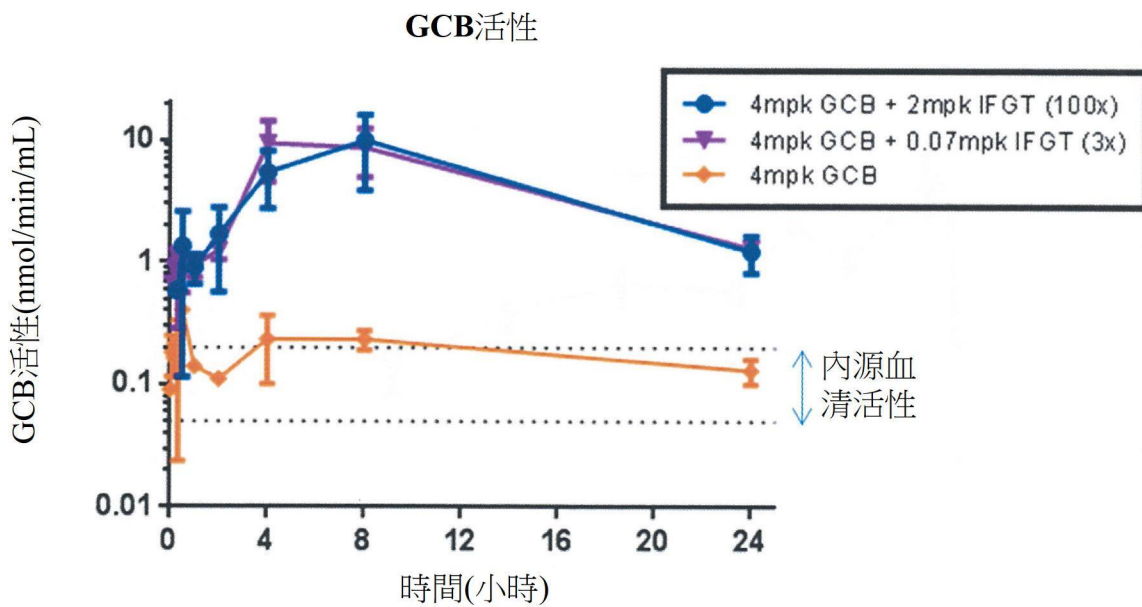
【圖16B】



【圖16C】

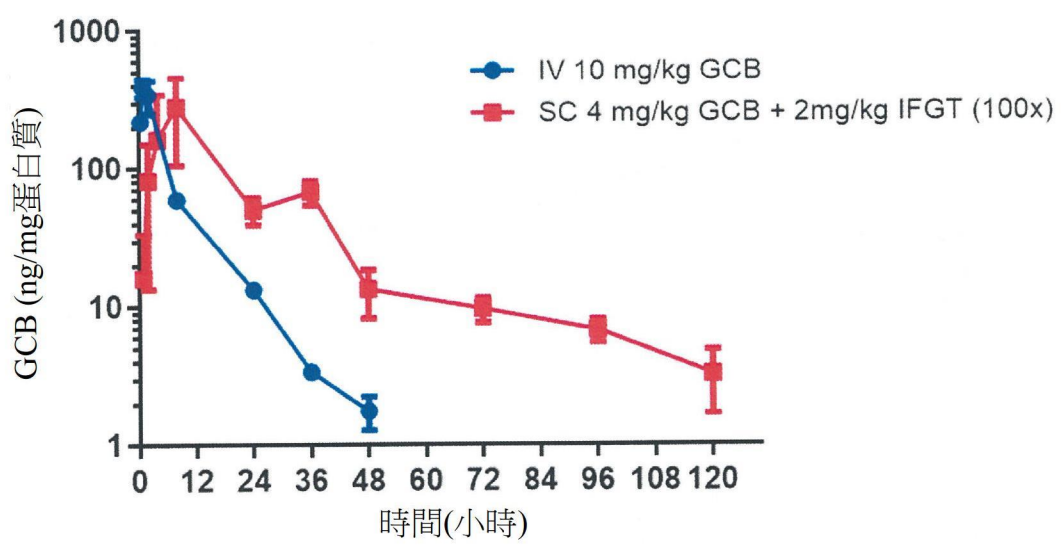


【圖17A】



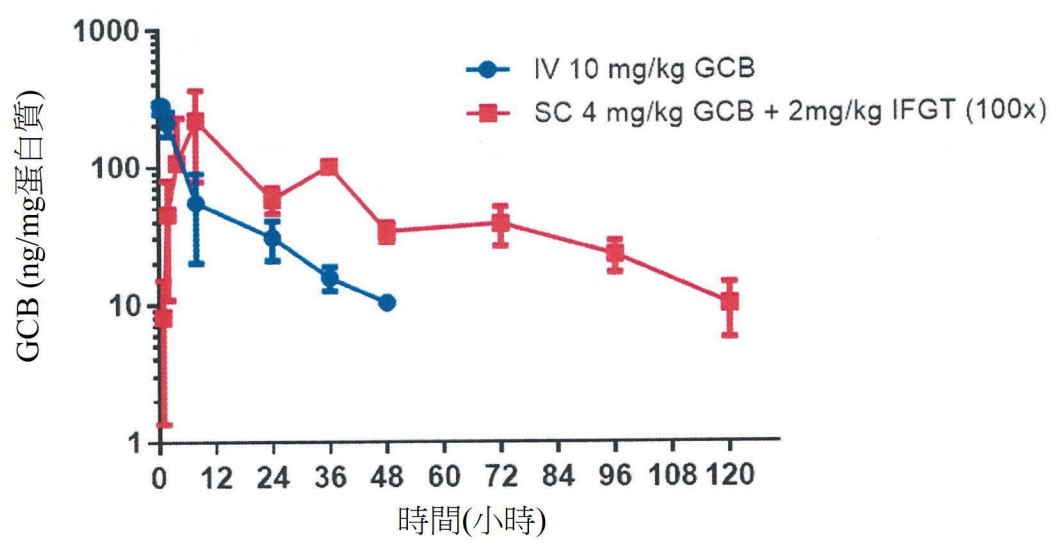
【圖17B】

肝



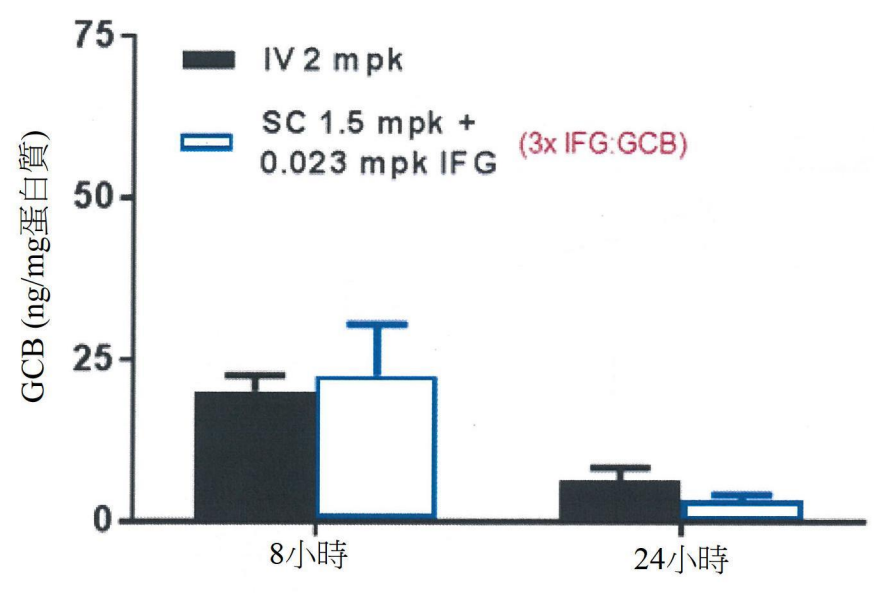
【圖18A】

脾



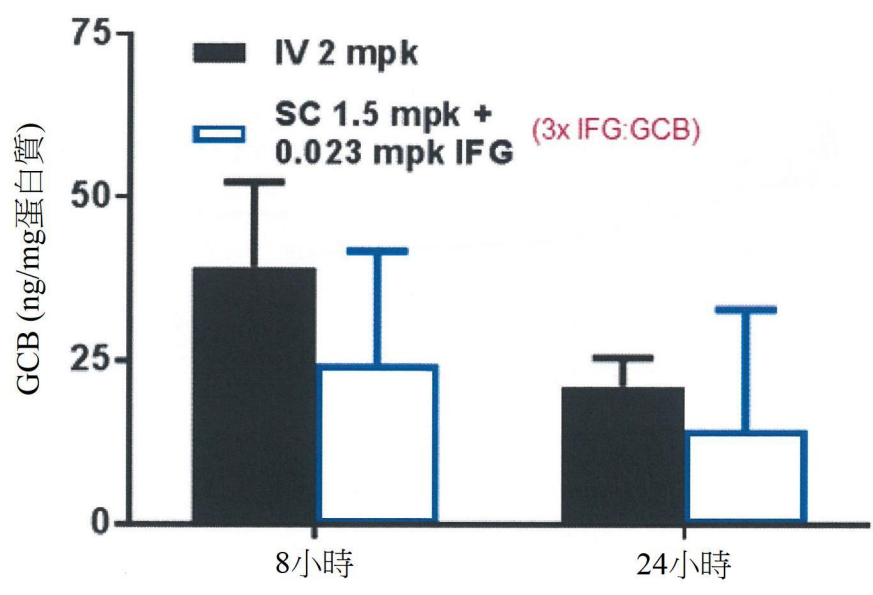
【圖18B】

肝

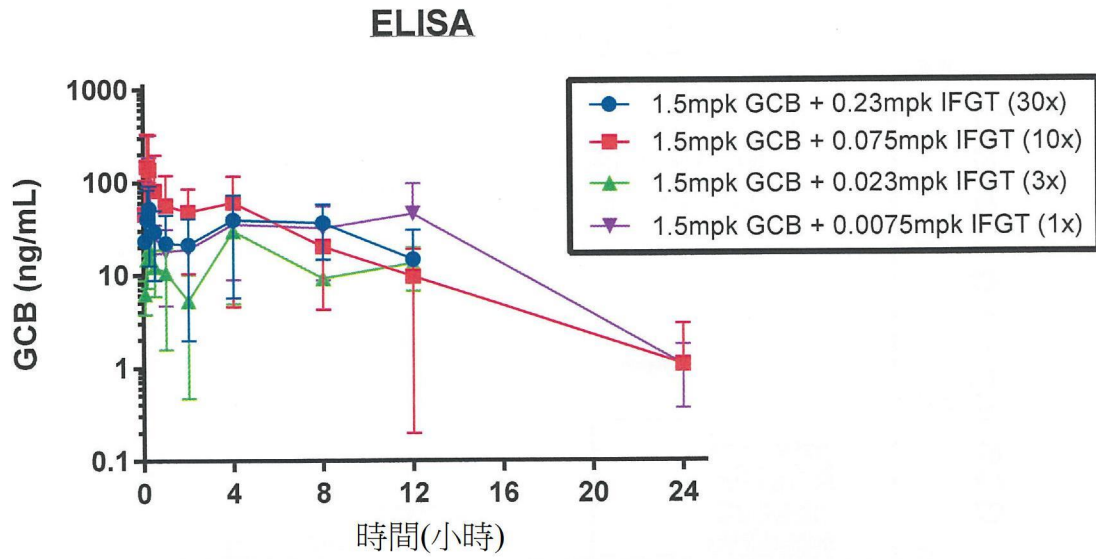


【圖19A】

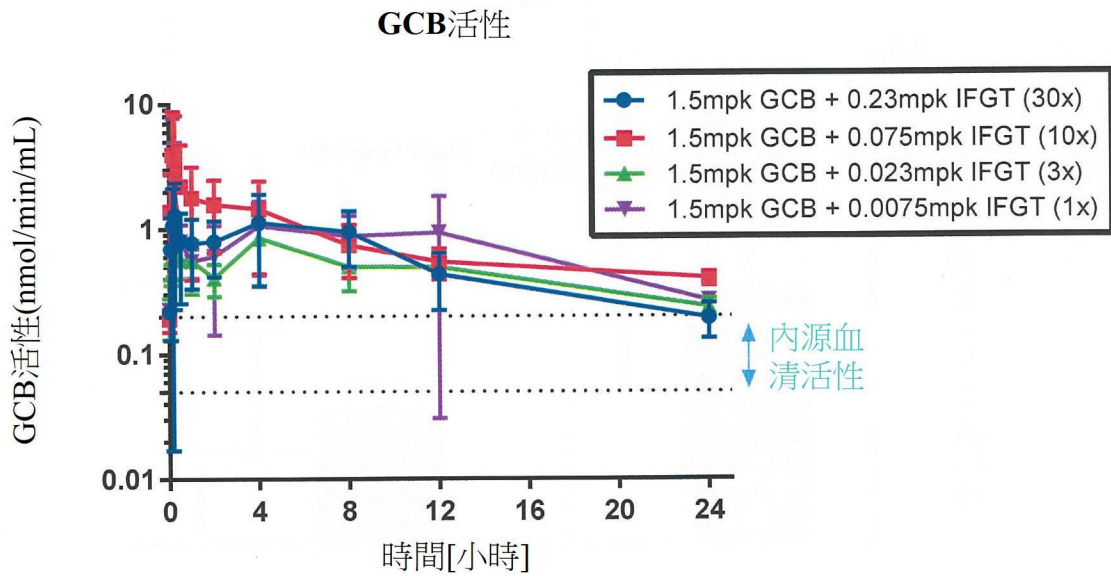
脾



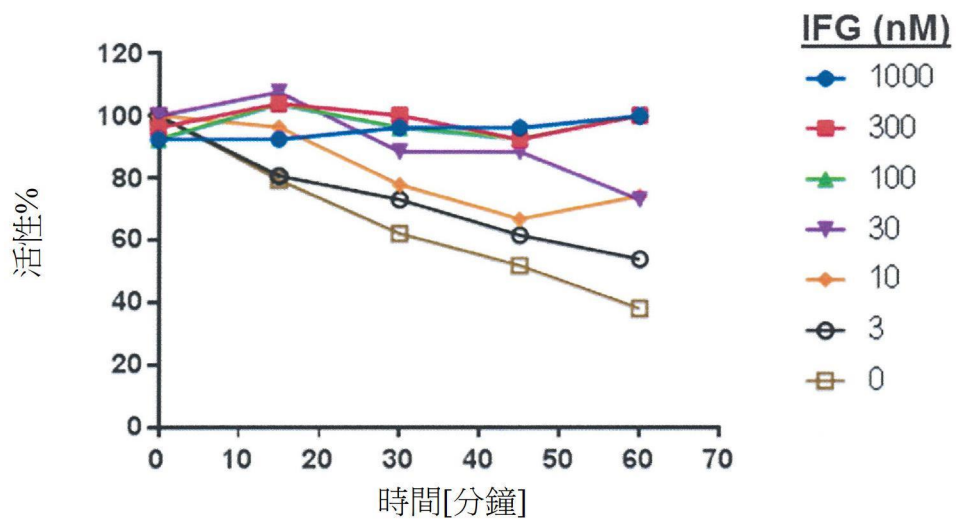
【圖19B】



【圖20A】



【圖20B】



【圖21】