

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202390528** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.04.13

(22) Дата подачи заявки
2021.08.06

(51) Int. Cl. **A61K 31/22** (2006.01)
A61K 31/397 (2006.01)
A61K 31/40 (2006.01)
A61K 31/4468 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

(54) СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ НЕВОСПРИИМЧИВОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИИ, ВКЛЮЧАЮЩИЕ ИНГИБИТОР ANGPTL3

(31) 63/062,990; 63/135,946

(32) 2020.08.07; 2021.01.11

(33) US

(86) PCT/US2021/045008

(87) WO 2022/032137 2022.02.10

(71) Заявитель:

РИДЖЕНЕРОН

ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:

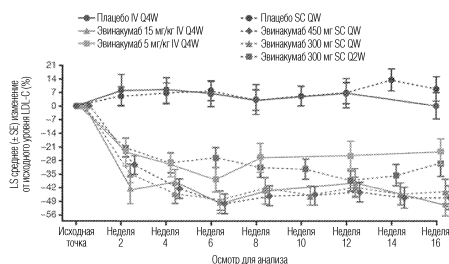
**Порди Роберт К., Али Шейзия (US),
Швеммер Джайп Дэниел Э. (умер)**

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Изобретение относится к способам для лечения пациентов, страдающих невосприимчивой гиперхолестеринемией. Способы по настоящему изобретению обеспечивают снижение по меньшей мере одного параметра липида у пациента посредством введения терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связываются с ANGPTL3, в комбинации с терапевтически эффективным количеством статина, первого липидоснижающего средства, отличного от статина, и второго липидоснижающего средства, отличного от статина.

Расчетный LS-средний (± SE) процент изменения от исходного уровня LDL-C с течением времени



A1

202390528

202390528

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-577110EA/019

СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ НЕВОСПРИИМЧИВОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИИ, ВКЛЮЧАЮЩИЕ ИНГИБИТОР ANGPTL3

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Настоящая заявка подана 6 августа 2021 г. как Международная патентная заявка РСТ, и для нее испрашивается приоритет по Предварительным патентным заявкам США No. 63/062990, поданной 7 августа 2020 г., и 63/135946, поданной 11 января 2021 г.; полное содержание которых приведено в настоящем описании посредством ссылки.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

[0002] Настоящее изобретение относится к области видов терапевтического лечения заболеваний и нарушений, которые являются ассоциированными с повышенными уровнями липидов и липопротеинов. Более конкретно, изобретение относится к применению ингибитора ANGPTL3 с сопутствующими видами липидоснижающей терапии для лечения пациентов с семейной гиперхолестеринемией, для достижения оптимальных уровней сывороточных липидов и липопротеинов.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0003] Гиперлипидемия является общим термином, который охватывает заболевания и нарушения, характеризующиеся или ассоциированные с повышенными уровнями липидов и/или липопротеинов в крови. Гиперлипидемии включают гиперхолестеринемию, гипертриглицеридемию, комбинированную гиперлипидемию и повышенный уровень липопротеина а (Lp(a)). Особенно преобладающей формой гиперлипидемии во многих популяциях является гиперхолестеринемия.

[0004] Гиперхолестеринемия, в частности, увеличение уровней относящегося к липопротеинам низкой плотности (LDL) холестерина (LDL-C), составляет главный риск для развития атеросклероза и коронарной болезни сердца (CHD) (Sharrett т.е., 2001, *Circulation* 104:1108-1113). Холестерин липопротеинов низкой плотности идентифицирован как первичная мишень для холестеринснижающей терапии и принят в качестве обоснованной суррогатной терапевтической конечной точки. Многочисленные исследования показали, что уменьшение уровней LDL-C уменьшает риск CHD с сильной прямой зависимостью между уровнями LDL-C и событиями CHD; для каждого 1 ммоль/л (~40 мг/дл) уменьшения уровня LDL-C, смертность и заболеваемость для сердечно-сосудистого заболевания (CVD) снижается на 22%. Более сильные уменьшения уровней LDL-C обеспечивают большее снижение количества событий, и сравнительные данные для интенсивного против стандартного лечения статинами позволяет предполагать, что чем ниже уровень LDL-C, тем больше преимущество для пациентов с очень высоким риском для сердечно-сосудистой (CV) системы.

[0005] Семейная гиперхолестеринемия (FH) представляет собой наследственное нарушение метаболизма липидов, приводящее к предрасположенности индивидуума к преждевременному тяжелому сердечно-сосудистому заболеванию (CVD) (Kolansky *et al.*,

(2008), *Am J Cardiology*, 102(11):1438-1443). FH может представлять собой либо аутосомно-доминантное, либо аутосомно-рецессивное заболевание, возникающее в результате мутаций в рецепторе липопротеинов низкой плотности (LDLR), или по меньшей мере в 3 различных генах, кодирующих белки, вовлеченные в печеночный клиренс LDL-C, которые могут вызывать FH. Примеры таких дефектов включают мутации в гене, кодирующем рецептор LDL (LDLR), который удаляет LDL-C из кровотока, и в гене аполипопротеина (Apo) B, который является главным белком частицы LDL. Во всех случаях, FH характеризуется накоплением LDL-C в плазме с рождения и последующим развитием сухожильных ксантом, ксантелазм, атером и CVD. FH можно классифицировать как либо гетерозиготную FH (heFH), либо гомозиготную FH (hoFH), в зависимости от того, имеет ли индивидуум генетический дефект в одной (гетерозиготной) или обеих (гомозиготных) копиях вовлеченного гена.

[0006] Современные LDL-C-снижающие лекарственные средства включают статины, ингибиторы абсорбции холестерина, фибраты, ниацин, секвестранты желчных кислот и ингибиторы пробелковой конвертазы субтилизин/кексинового типа 9 (PCSK9). Статины представляют собой обычно назначаемое лечение для снижения LDL-C. Однако, несмотря на доступность таких видов липидоснижающей терапии, многие подверженные высокому риску пациенты терпят неудачу в достижении предписанного им в руководствах целевого уровня LDL-C (Gitt *et al.*, 2010, *Clin Res Cardiol* 99(11):723-733).

[0007] Пациенты с невосприимчивой гиперхолестеринемией представляют собой пациентов, которые, несмотря на максимально переносимые липидоснижающих терапевтических средств, включая статины и ингибиторы PCSK9, не достигают целевых уровней холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) и имеют увеличенный риск атеросклеротического сердечно-сосудистого заболевания (ASCVD). Хотя дополнительное снижение уровня LDL-C можно осуществлять посредством афереза LDL, использование этого инвазивного способа ограничено из-за ограниченной доступности центров афереза, высокой стоимости процедур, неудобства для пациентов, отсутствия покрытия страховым обеспечением и неблагоприятных событий. Пациенты, не достигающие цели в отношении LDL-C, несмотря на подвергание воздействию оптимизированного режима LMT, нуждаются в альтернативных видах LDL-C-снижающей терапии, или в использовании комбинации лекарственных средств, таких как средства и режимы, описанные в настоящем описании.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0008] В одном аспекте, изобретение относится к способу лечения пациента, страдающего невосприимчивой гиперхолестеринемией, включающему введение пациенту терапевтически эффективного количества комбинации (a) статина; (b) липидоснижающего средства, отличного от статина; и (c) ингибитора ANGPTL3. Пациент, «страдающий невосприимчивой гиперхолестеринемией», в рамках изобретения, также относится к субъекту или пациенту, имеющему невосприимчивую гиперхолестеринемия, и/или к субъекту с диагнозом невосприимчивая гиперхолестеринемия.

[0009] В одном варианте осуществления, способ по настоящему изобретению дополнительно включает введение терапевтически эффективного количества второго липидоснижающего средства, отличного от статина.

[0010] В одном варианте осуществления способа по настоящему изобретению, статин выбран из группы, состоящей из аторвастатина (ЛИПИТОР®), питавастатина (ЛИВАЛО®), ловастатина (МЕВАКОР®), симвастатина (ЗОКОР®), правастатина (ПРАВАХОЛ®), флувастатина (ЛЕСКОЛ®) и розувастатина (КРЕСТОР®). В другом варианте осуществления, статин представляет собой розувастатин (КРЕСТОР®), вводимый перорально один раз в сутки в дозе от приблизительно 5 мг до приблизительно 40 мг. В другом варианте осуществления, статин представляет собой аторвастатин (ЛИПИТОР®), вводимый перорально один раз в сутки в дозе от приблизительно 10 мг до приблизительно 80 мг.

[0011] В одном варианте осуществления способа по настоящему изобретению, одно липидоснижающее средство, отличное от статина, представляет собой средство, ингибирующее абсорбцию холестерина. В другом варианте осуществления, средство, ингибирующее абсорбцию холестерина, представляет собой эзетимиб (ЗЕТИЯ®). В другом варианте осуществления, эзетимиб (ЗЕТИЯ®) вводят перорально один раз в сутки в дозе приблизительно 10 мг.

[0012] В одном варианте осуществления способа по настоящему изобретению, второе липидоснижающее средство, отличное от статина, представляет собой средство, ингибирующее микросомальный белок переноса триглицеридов (МТТР). В другом варианте осуществления, средство, ингибирующее МТТР, представляет собой ломитапид (ЮКСТАПИД®). В другом варианте осуществления, ломитапид (ЮКСТАПИД®) вводят перорально один раз в сутки в дозе от приблизительно 5 мг до приблизительно 60 мг. В другом варианте осуществления, ломитапид (ЮКСТАПИД®) вводят перорально один раз в сутки в дозе приблизительно 20 мг.

[0013] В одном варианте осуществления способа по настоящему изобретению, ингибитор ANGPTL3 представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с ANGPTL3. В другом варианте осуществления, антитело против ANGPTL3 представляет собой эвинакумаб. В другом варианте осуществления, эвинакумаб вводят пациенту до, во время или после лечения с использованием статина, эзетимиба или ломитапида. В другом варианте осуществления, эвинакумаб вводят внутривенно в дозе, лежащей в диапазоне от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 20 мг/кг массы тела. В другом варианте осуществления, эвинакумаб вводят внутривенно в дозе приблизительно 15 мг/кг массы тела. В другом варианте осуществления, эвинакумаб вводят подкожно в дозе, лежащей в диапазоне от приблизительно 50 мг до приблизительно 750 мг. В другом варианте осуществления, эвинакумаб вводят подкожно в дозе, лежащей в диапазоне от приблизительно 300 мг до приблизительно 450 мг. В следующем варианте осуществления, эвинакумаб вводят

каждую неделю, каждые две недели, каждые 3 недели, каждые 4 недели, каждые 2 месяца, каждые 3 месяца или каждые 4 месяца.

[0014] В другом аспекте, изобретение относится к способу снижения по меньшей мере одного параметра липида у пациента с невосприимчивой гиперхолестеринемией посредством введения ингибитора ANGPTL3 в комбинации со статином и по меньшей мере одним липидоснижающим средством, отличным от статина. В одном варианте осуществления, второе липидоснижающее средство, отличное от статина, вводят пациенту. Первое нестатиновое липидоснижающее средство может, например, представлять собой средство, ингибирующее поглощение холестерина (например, эзетимиб). Второе нестатиновое липидоснижающее средство может, например, представлять собой ингибитор микросомального белка переноса триглицеридов (например, ломитапид).

[0015] В другом аспекте, изобретение относится к способу улучшения одного или нескольких параметра(ов) липидов у пациента с диагнозом невосприимчивая гиперхолестеринемия, включающему введение одной или нескольких терапевтически эффективных доз ингибитора подобного ангиопоэтину белка 3 (ANGPTL3) в комбинации с одной или несколькими терапевтически эффективными дозами липидоснижающего средства, выбранного из группы, состоящей из статина, средства, ингибирующего абсорбцию холестерина, и средства, ингибирующего микросомальный белок переноса триглицеридов (MTTP), или их комбинации, где улучшение одного или нескольких параметра(ов) липидов представляет собой одно или несколько из следующего:

- (a) уменьшение от исходного (неделя 0) уровня липопротеинов низкой плотности-С (LDL-C);
- (b) уменьшение от исходного уровня аполипопротеина В (Апо В);
- (c) уменьшение от исходного уровня липопротеинов невысокой плотности-С (не-HDL-C);
- (d) уменьшение от исходного уровня общего холестерина (общего-С); и/или
- (e) уменьшение от исходного уровня триглицеридов (TG).

[0016] В другом варианте осуществления, улучшение одного или нескольких параметра(ов) липидов представляет собой одно или несколько из следующего:

- (a) уменьшение от исходного (неделя 0) уровня липопротеинов низкой плотности-С (LDL-C) на $\geq 23\%$;
- (b) уменьшение от исходного уровня аполипопротеина В (Апо В) на $\geq$ приблизительно 20%;
- (c) уменьшение от исходного уровня липопротеинов невысокой плотности-С (не-HDL-C) на $\geq 30\%$;
- (d) уменьшение от исходного уровня общего холестерина (общего-С) на $\geq$ приблизительно 30%; и/или
- (e) уменьшение от исходного уровня триглицеридов (TG) на $\geq 35\%$.

[0017] В одном варианте осуществления способа по настоящему изобретению, ингибитор ANGPTL3 представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с ANGPTL3. В другом варианте осуществления, антитело против ANGPTL3 представляет собой эвинакумаб. В другом варианте осуществления, эвинакумаб вводят пациенту до, во время или после лечения с использованием статина, эзетимиба или ломитапида.

[0018] В одном варианте осуществления способа по настоящему изобретению, статин выбран из группы, состоящей из аторвастатина (ЛИПИТОР®), питавастатина (ЛИВАЛО®), ловастатина (МЕВАКОР®), симвастатина (ЗОКОР®), правастатина (ПРАВАХОЛ®) флувастатина (ЛЕСКОЛ®) и розувастатина (КРЕСТОР®). В другом варианте осуществления, статин представляет собой розувастатин (КРЕСТОР®), вводимый перорально один раз в сутки в дозе от приблизительно 5 мг до приблизительно 40 мг. В другом варианте осуществления, статин представляет собой аторвастатин (ЛИПИТОР®), вводимый перорально один раз в сутки в дозе от приблизительно 10 мг до приблизительно 80 мг.

[0019] В одном варианте осуществления способа по настоящему изобретению, средство, ингибирующее абсорбцию холестерина, представляет собой эзетимиб (ЗЕТИЯ®). В другом варианте осуществления, эзетимиб (ЗЕТИЯ®) вводят перорально один раз в сутки в дозе приблизительно 10 мг.

[0020] В одном варианте осуществления способа по настоящему изобретению, средство, ингибирующее МТТР, представляет собой ломитапид (ЮКСТАПИД®). В другом варианте осуществления, ломитапид (ЮКСТАПИД®) вводят перорально один раз в сутки в дозе от приблизительно 5 мг до приблизительно 60 мг. В другом варианте осуществления, ломитапид (ЮКСТАПИД®) вводят перорально один раз в сутки в дозе приблизительно 20 мг.

[0021] В одном варианте осуществления способа по настоящему изобретению, эвинакумаб вводят внутривенно в дозе, лежащей в диапазоне от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 20 мг/кг массы тела. В другом варианте осуществления, эвинакумаб вводят внутривенно в дозе приблизительно 15 мг/кг массы тела.

[0022] В одном варианте осуществления способа по настоящему изобретению, эвинакумаб вводят подкожно в дозе, лежащей в диапазоне от приблизительно 50 мг до приблизительно 750 мг. В другом варианте осуществления, эвинакумаб вводят подкожно в дозе, лежащей в диапазоне от приблизительно 300 мг до приблизительно 450 мг.

[0023] В одном варианте осуществления способа по настоящему изобретению, эвинакумаб вводят пациенту каждую неделю, каждые две недели, каждые 3 недели, каждые 4 недели, каждые 2 месяца, каждые 3 месяца или каждые 4 месяца.

[0024] В одном варианте осуществления способа по настоящему изобретению, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с ANGPTL3, содержат определяющие комплементарность области (CDR) варибельной

области тяжелой цепи (HCVR), имеющей аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 1, и CDR варибельной области легкой цепи (LCVR) из SEQ ID NO: 5.

[0025] В другом варианте осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с ANGTL3, содержат CDR1 тяжелой цепи (HCDR1), имеющую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 2, HCDR2, имеющую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 3, HCDR3, имеющую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 4, CDR1 легкой цепи (LCDR1), имеющую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 6, LCDR2, имеющую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 7, и LCDR3, имеющую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 8.

[0026] В другом варианте осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с ANGPTL3 содержат HCVR, имеющую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 1 и LCVR, имеющую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 5.

[0027] В одном аспекте, изобретение относится к применению комбинации статина, одного липидоснижающего средства, отличного от статина, и ингибитора подобного ангиопэтину белка 3 (ANGPTL3) в лечении пациента, страдающего невосприимчивой гиперхолестеринемией.

[0028] В другом аспекте, изобретение относится к применению комбинации статина, одного липидоснижающего средства, отличного от статина, и ингибитора подобного ангиопэтину белка 3 (ANGPTL3) в изготовлении лекарственного средства для лечения пациента, страдающего невосприимчивой гиперхолестеринемией.

[0029] В другом аспекте, изобретение относится к фармацевтической композиции для лечения пациента, страдающего невосприимчивой гиперхолестеринемией, где композиция содержит терапевтически эффективное количество комбинации статина, одного липидоснижающего средства, отличного от статина, и ингибитора подобного ангиопэтину белка 3 (ANGPTL3).

[0030] В другом аспекте, изобретение относится к применению ингибитора подобного ангиопэтину белка 3 (ANGPTL3) в комбинации с липидоснижающим средством, выбранным из группы, состоящей из статина, средства, ингибирующего абсорбцию холестерина, и средства, ингибирующего микросомальный белок переноса триглицеридов (МТТР), или их комбинации, в улучшении одного или нескольких параметра(ов) липидов у пациента с диагнозом невосприимчивая гиперхолестеринемия.

[0031] В другом аспекте, изобретение относится к применению ингибитора подобного ангиопэтину белка 3 (ANGPTL3) в комбинации с липидоснижающим средством, выбранным из группы, состоящей из статина, средства, ингибирующего абсорбцию холестерина, и средства, ингибирующего микросомальный белок переноса триглицеридов (МТТР), или их комбинации, в изготовлении лекарственного средства для улучшения одного или нескольких параметра(ов) липидов у пациента с диагнозом невосприимчивая гиперхолестеринемия.

[0032] В другом аспекте, изобретение относится к фармацевтической композиции для улучшения одного или нескольких параметра(ов) липидов у пациента с диагнозом невосприимчивая гиперхолестеринемия, где композиция содержит терапевтически эффективное количество ингибитора подобного ангиопозтину белка 3 (ANGPTL3) в комбинации с липидоснижающим средством, выбранным из группы, состоящей из статина, средства, ингибирующего абсорбцию холестерина, и средства, ингибирующего микросомальный белок переноса триглицеридов (МТТР), или их комбинации.

[0033] В другом аспекте, изобретение относится к способам лечения пациентов, страдающих семейной гиперхолестеринемией, посредством введения ингибитора ANGPTL3 в комбинации с другими липидокорректирующими терапевтическими средствами для достижения оптимальных уровней сывороточных липидов и липопротеинов.

[0034] В одном варианте осуществления, способ включает введение пациенту, страдающему семейной гиперхолестеринемией, терапевтически эффективного количества комбинации (а) статина; (b) одного липидоснижающего средства, отличного от статина, и (с) ингибитора ANGPTL3.

[0035] В одном варианте осуществления, пациенту вводят (а) статин; (b) одно липидоснижающее средство, отличное от статина; (с) ингибитор ANGPTL3 и (d) второе липидоснижающее средство, отличное от статина.

[0036] В одном варианте осуществления, семейная гиперхолестеринемия выбрана из группы, состоящей из гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии (HeFH) и гомозиготной семейной гиперхолестеринемии (HoFH).

[0037] В одном варианте осуществления, статин выбран из группы, состоящей из аторвастатина (Липитор®), питевастатина (ЛИВАЛО®), ловастатина (Мевакор®), симвастатина (Зокор®), правастатина (Правахол®) флувастатина (ЛЕСКОЛ®) и розувастатина (КРЕСТОР®).

[0038] В одном варианте осуществления, статин представляет собой розувастатин (КРЕСТОР®), который вводят перорально один раз в сутки в дозе от приблизительно 5 мг до приблизительно 40 мг. В другом варианте осуществления, статин представляет собой розувастатин (КРЕСТОР®), который вводят перорально один раз в сутки в дозе 5-40 мг.

[0039] В одном варианте осуществления, статин представляет собой аторвастатин (Липитор®), который вводят перорально один раз в сутки в дозе от приблизительно 10 мг до приблизительно 80 мг. В другом варианте осуществления, статин представляет собой аторвастатин (Липитор®), который вводят перорально один раз в сутки в дозе 10-80 мг.

[0040] В одном варианте осуществления, одно липидоснижающее средство, отличное от статина, представляет собой средство, ингибирующее абсорбцию холестерина.

[0041] В одном варианте осуществления, средство, ингибирующее абсорбцию холестерина, представляет собой эзетимиб (ЗЕТИЯ®).

[0042] В одном варианте осуществления, эзетимиб (ЗЕТИЯ®) вводят перорально один раз в сутки в дозе приблизительно 10 мг. В другом варианте осуществления, эзетимиб (ЗЕТИЯ®) вводят перорально один раз в сутки в дозе 10 мг.

[0043] В одном варианте осуществления, второе липидоснижающее средство, отличное от статина, представляет собой средство, ингибирующее микросомальный белок переноса триглицеридов (МТТР).

[0044] В одном варианте осуществления, средство, ингибирующее микросомальный белок переноса триглицеридов, представляет собой ломитапид (ЮКСТАПИД®).

[0045] В одном варианте осуществления, ломитапид (ЮКСТАПИД®) вводят перорально один раз в сутки в дозе от приблизительно 5 мг до приблизительно 60 мг. В другом варианте осуществления, ломитапид (ЮКСТАПИД®) вводят перорально один раз в сутки в дозе 5-60 мг.

[0046] В одном варианте осуществления, ломитапид (ЮКСТАПИД®) вводят перорально один раз в сутки в дозе приблизительно 20 мг. В другом варианте осуществления, ломитапид (ЮКСТАПИД®) вводят перорально один раз в сутки в дозе 20 мг.

[0047] В одном варианте осуществления, второе липидоснижающее средство, отличное от статина, представляет собой средство, ингибирующее PCSK9. В одном варианте осуществления, ингибитор PCSK9 представляет собой алирокумаб (ПРАЛУЭНТ®).

[0048] В одном варианте осуществления, второе липидоснижающее средство, отличное от статина, представляет собой средство, которое уменьшает продукцию содержащих ароВ липопротеинов. В одном варианте осуществления, средство, которое уменьшает продукцию содержащих ароВ липопротеинов, представляет собой мипомерсен.

[0049] Предусматривают также, что дополнительными средствами, которые действуют для снижения уровня липидов, можно заменять первое и второе липидоснижающие средства, описанные в настоящем описании, или альтернативно, можно их комбинировать с первым и вторым липидоснижающими средствами, плюс эвинакумаб, для достижения нормализации по меньшей мере одного параметра липидов, описанного в настоящем описании.

[0050] В конкретных вариантах осуществления, виды липидоснижающей терапии, описанные в настоящем описании, можно комбинировать для использования в лечении пациентов, подвергаемых аферезу, так что уровень одного или нескольких из параметров липидов, описанных в настоящем описании, нормализуется.

[0051] В одном варианте осуществления, ингибитор ANGPTL3 выбран из группы, состоящей из низкомолекулярного ингибитора, нуклеиновой кислоты (например, миРНК), и антитела, которое специфически связывается с ANGPTL3.

[0052] В одном варианте осуществления, антитело против ANGPTL3 представляет собой эвинакумаб.

[0053] В одном варианте осуществления, эвинакумаб вводят до, во время или после лечения с использованием статина, эзетимиба, ломитапида, мипомерсена, ингибитора PCSK9, или любого другого липидоснижающего средства, разработанного как применимое для достижения нормализации по меньшей мере одного параметра липида, описанного в настоящем описании.

[0054] В одном варианте осуществления, эвинакумаб вводят внутривенно в дозе, лежащей в диапазоне от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 20 мг/кг массы тела.

[0055] В одном варианте осуществления, эвинакумаб вводят внутривенно в дозе приблизительно 15 мг/кг массы тела. В другом варианте осуществления, эвинакумаб вводят внутривенно в дозе 15 мг/кг массы тела.

[0056] В одном варианте осуществления, эвинакумаб вводят подкожно в дозе, лежащей в диапазоне от приблизительно 50 мг до приблизительно 750 мг.

[0057] В одном варианте осуществления, эвинакумаб вводят подкожно в дозе, лежащей в диапазоне от приблизительно 250 мг до приблизительно 450 мг.

[0058] В одном варианте осуществления, эвинакумаб вводят каждую неделю, каждые две недели, каждые 3 недели, каждые 4 недели, каждые 2 месяца, каждые 3 месяца, или каждые 4 месяца.

[0059] Во втором аспекте, изобретение относится к способу улучшения одного или нескольких параметра(ов) липидов у пациента с диагнозом семейная гиперхолестеринемия, включающему введение одной или нескольких терапевтически эффективных доз ингибитора ANGPTL3 в комбинации с одной или несколькими терапевтически эффективными дозами липидоснижающего средства, выбранного из группы, состоящей из статина, средства, ингибирующего абсорбцию холестерина, средства, ингибирующего микросомальный белок переноса триглицеридов (МТТР), или их комбинации, где улучшение одного или нескольких параметра(ов) липидов представляет собой одно или несколько из следующего:

(a) уменьшение от исходного (неделя 0) уровня липопротеинов низкой плотности-С (LDL-C);

(b) уменьшение от исходного уровня аполипопротеина В (Апо В);

(c) уменьшение от исходного липопротеинов невысокой плотности-С (не-HDL-C);

(d) уменьшение от исходного уровня общего холестерина (общего-С);

(e) уменьшение от исходного уровня липопротеинов (a) (Lp(a)); и/или

(f) уменьшение от исходного уровня триглицеридов (TG).

[0060] В одном варианте осуществления, семейная гиперхолестеринемия выбрана из группы, состоящей из гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии (HeFH) и гомозиготной семейной гиперхолестеринемии (HoFH).

[0061] В одном варианте осуществления, ингибитор ANGPTL3 выбран из группы, состоящей из низкомолекулярного ингибитора, нуклеиновой кислоты (например, мiРНК) и антитела, которое специфически связывается с ANGPTL3.

[0062] В одном варианте осуществления, антитело, которое специфически связывается с ANGPTL3, представляет собой эвинакумаб.

[0063] В одном варианте осуществления, статин выбран из группы, состоящей из аторвастатина (Липитор®), питавастатина (Ливало®), ловастатина (Мевакор®), симвастатина (Зокор®), правастатина (Правахол®), флувастатина (Лескол®) и розувастатина (Крестор®).

[0064] В одном варианте осуществления, статин представляет собой розувастатин (Крестор®), и его вводят перорально один раз в сутки в дозе от приблизительно 5 мг до приблизительно 40 мг. В другом варианте осуществления, статин представляет собой розувастатин (Крестор®), и его вводят перорально один раз в сутки в дозе 5-40 мг.

[0065] В одном варианте осуществления, статин представляет собой аторвастатин (Липитор®), и его вводят перорально один раз в сутки в дозе от приблизительно 10 мг до приблизительно 80 мг. В другом варианте осуществления, статин представляет собой аторвастатин (Липитор®), и его вводят перорально один раз в сутки в дозе 10-80 мг.

[0066] В одном варианте осуществления, средство, ингибирующее абсорбцию холестерина, представляет собой эзетимиб (ЗЕТИЯ®).

[0067] В одном варианте осуществления, эзетимиб (ЗЕТИЯ®) вводят перорально один раз в сутки в дозе приблизительно 10 мг. В другом варианте осуществления, эзетимиб (ЗЕТИЯ®) вводят перорально один раз в сутки в дозе 10 мг.

[0068] В одном варианте осуществления, средство, ингибирующее микросомальный белок переноса триглицеридов, представляет собой ломитапид (ЮКСТАПИД®).

[0069] В одном варианте осуществления, ломитапид (ЮКСТАПИД®) вводят перорально один раз в сутки в дозе от приблизительно 5 мг до приблизительно 60 мг. В другом варианте осуществления, ломитапид (ЮКСТАПИД®) вводят перорально один раз в сутки в дозе 5-60 мг.

[0070] В одном варианте осуществления, ломитапид (ЮКСТАПИД®) вводят перорально один раз в сутки в дозе приблизительно 20 мг. В другом варианте осуществления, ломитапид (ЮКСТАПИД®) вводят перорально один раз в сутки в дозе 20 мг.

[0071] В одном варианте осуществления, другие липидоснижающие средства можно комбинировать со средствами, отмеченными выше, для достижения приемлемого уровня по меньшей мере одного из параметров липидов, описанных выше. Другие средства включают, но без ограничения, ингибиторы PCSK9. В одном варианте осуществления, ингибитор PCSK9 представляет собой антитело, которое специфически связывается с PCSK9. В одном варианте осуществления, антитело, которое специфически связывается с PCSK9, представляет собой алирокумаб (ПРАЛУЭНТ®).

[0072] В одном варианте осуществления, дополнительное липидоснижающее средство, которое можно комбинировать с видами терапии, описанными выше, включает средство, которое уменьшает продукцию содержащих ароВ липопротеинов. В одном

варианте осуществления, средство, которое уменьшает продукцию содержащих аров липопротеинов, представляет собой мипомерсен.

[0073] Предусматривают также, что дополнительными средствами, которые действуют для снижения уровня липидов, можно заменять первое и второе липидоснижающие средства, описанные в настоящем описании, или альтернативно, можно их комбинировать с первым и вторым липидоснижающими средствами, плюс эвинакумаб для достижения нормальных уровней по меньшей мере одного параметра липида, описанного в настоящем описании.

[0074] В конкретных вариантах осуществления, виды липидоснижающей терапии, описанные в настоящем описании, можно комбинировать для использования в лечении пациентов, подвергаемых аферезу, где целью является снижение уровня по меньшей мере одного или нескольких параметров липидов, описанных выше, до приемлемого диапазона. В родственных вариантах осуществления, использование комбинации видов терапии, описанных в настоящем описании, может исключать необходимость афереза, или может способствовать увеличению временного интервала между процедурами афереза.

[0075] В одном варианте осуществления, лечение приводит к по меньшей мере 40% уменьшению от исходного по меньшей мере одного параметра липида.

[0076] В одном варианте осуществления, лечение приводит к по меньшей мере 75% уменьшению от исходного по меньшей мере одного параметра липида.

[0077] В одном варианте осуществления, лечение приводит к по меньшей мере 40% уменьшению от исходного уровней LDL-C.

[0078] В одном варианте осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с ANGPTL3, содержат определяющие комплементарность области (CDR) вариабельной области тяжелой цепи (HCVR), имеющей аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 1, и CDR вариабельной области легкой цепи (LCVR) из SEQ ID NO: 5.

[0079] В одном варианте осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с ANGTL3, содержат CDR1 тяжелой цепи (HCDR1), имеющую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 2, HCDR2, имеющую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 3, HCDR3, имеющую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 4, CDR1 легкой цепи (LCDR1), имеющую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 6, LCDR2, имеющую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 7, и LCDR3, имеющую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 8.

[0080] В одном варианте осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с ANGPTL3, содержат HCVR, имеющую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 1, и LCVR, имеющую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 5.

[0081] Другие варианты осуществления настоящего изобретения станут очевидными из обзора следующего подробного описания.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[0082] На фигуре 1 графически изображен рассчитанный LS средний ($\pm$ SE) процент изменения от исходного уровня LDL-C с течением времени. LS средние и SE, полученные из модели со смешанными эффектами для повторных измерений с фиксированными категориальными эффектами группы лечения, страты рандомизации (высокоэффективный статин [Да/Нет] и статус HeFH [Да/Нет]), временной точки вплоть до недели 16, взаимосвязи лечение-временная точка и взаимосвязи страта-временная точка, так же как непрерывными фиксированными ковариациями исходных рассчитанных уровней LDL-C и взаимосвязи исходный уровень-временная точка. IV, внутривенный; QW, один раз в неделю; Q2W, один раз в каждые две недели; Q4W, один раз в каждые четыре недели; SC, подкожный.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

[0083] Перед описанием настоящего изобретения, следует понимать, что настоящее изобретение не является ограниченным описанными конкретными способами и условиями экспериментов, поскольку такие способы и условия можно изменять. Следует понимать также, что терминология, используемая в настоящем описании, предназначена только для целей описания конкретных вариантов осуществления, и не предназначена для ограничения, поскольку объем настоящего изобретения ограничен только прилагаемой формулой изобретения.

[0084] Если не определено иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем описании, имеют такое же значение, которое является общепринятым для специалиста в области, к которой относится настоящее изобретение. В рамках изобретения, термин «приблизительно», при использовании со ссылкой на конкретное упомянутое числовое значение, означает, что значение может отличаться от упомянутого значения не более чем на 1%. Например, в рамках изобретения, выражение «приблизительно 100» включает 99 и 101, и все значения между ними (например, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4 и т.д.).

[0085] Хотя любые способы и материалы, сходные или эквивалентные с описанными в настоящем описании, можно использовать в практическом осуществлении настоящего изобретения, в настоящее время описаны предпочтительные способы и материалы. Полное содержание всех публикаций, упомянутых в настоящем описании, приведено в настоящем описании в качестве ссылки.

Способы лечения гиперлипидемий

[0086] Настоящее изобретение относится, главным образом, к способам и композициям для уменьшения уровней липопротеинов у пациентов, страдающих семейной гиперхолестеринемией, посредством введения комбинации (a) статина; (b) первого липидоснижающего терапевтического средства, отличного от статина; и (c) ингибитора ANGPTL3. В конкретных вариантах осуществления, комбинация включает второе липидоснижающее средство, отличное от статина. В конкретных вариантах осуществления, первое липидоснижающее средство, отличное от статина, представляет

собой средство, ингибирующее абсорбцию холестерина, такое как эзетимиб (ЗЕТИЯ®). В конкретных вариантах осуществления, второе липидоснижающее средство, отличное от статины, представляет собой средство, ингибирующее микросомальный белок переноса триглицеридов, такое как ломитапид (ЮКСТАПИД®). В одном варианте осуществления, ингибитор ANGPTL3 представляет собой антитело, которое специфически связывается с ANGPTL3, такое как эвинакумаб. В конкретных вариантах осуществления изобретения, лечение с использованием комбинации ингибитора ANGPTL3 (например, эвинакумаб) с другими терапевтическими средствами, отмеченными выше (статином, эзетимибом и ломитапидом), может служить для снижения уровней липопротеинов у этих пациентов до приемлемого диапазона, таким образом, снижения у них риска развития атеросклероза, инсульта и других сердечно-сосудистых заболеваний. В конкретных вариантах осуществления, описанные способы можно использовать для лечения пациентов, страдающих семейной гиперхолестеринемией, включая гетерозиготную семейную гиперхолестеринемию (HeFH) и/или гомозиготную семейную гиперхолестеринемию (HoFH). В конкретных вариантах осуществления, ингибитор PCSK9 можно также добавлять к комбинированным терапевтическим средствам, описанным выше, для дополнительного снижения уровня по меньшей мере одного параметра липида, описанного в настоящем описании. В родственных вариантах осуществления, комбинацию терапевтических средств, описанных выше, можно также использовать у пациентов, подвергаемых аферезу, для достижения нормализации по меньшей мере одного из описанных параметров липидов. Комбинация описанных видов терапии может исключать необходимость афереза, или может увеличивать временной интервал между необходимостью процедур афереза. Комбинация описанных терапевтических средств, при использовании отдельно или в комбинации с аферезом, может служить для снижения риска развития атеросклероза и коронарной болезни сердца (CHD) у этих пациентов.

[0087] В рамках изобретения, термин «липопротеин» обозначает биомолекулярную частицу, содержащую как белок, так и липид. Примеры липопротеинов включают, например, липопротеин низкой плотности (LDL), липопротеин высокой плотности (HDL), липопротеин очень низкой плотности (VLDL), липопротеин промежуточной плотности (IDL) и липопротеин (a) (Lp(a)).

[0088] Настоящее изобретение, в соответствии с конкретными вариантами осуществления, относится к способам лечения пациентов, которые являются неотвечающими, неадекватно контролируемыми или имеющими непереносимость, применительно к видам липидокорректирующей терапии, отличным от описанных и включенных в комбинацию, описанную в настоящем описании. В рамках изобретения, конкретного пациента, который является «неотвечающим, неадекватно контролируемым или имеющим непереносимость, применительно к липидокорректирующей терапии», определяет терапевт, фельдшер, диагност или другой медицинский работник на основании уровня одного или нескольких липопротеинов (например, LDL-C и/или не-HDL-C), измеренного или иным образом детектированного в сыворотке пациента после лечения с

использованием липидокорректирующего средства. Терапевт, фельдшер, диагност, или другой медицинский работник может также определять, имеет ли пациент непереносимость конкретных видов липидокорректирующей терапии, на основании профиля побочных эффектов видов липидокорректирующей терапии, которые может испытывать пациент, включая, но без ограничения, боли, болезненность или слабость в мышцах (миалгию), головную боль, покраснение кожи, расстройство сна, спазмы в животе, метеоризм, диарею, констипацию, сыпь, тошноту или рвоту. Пациент, который является неответчающим, неадекватно контролируемым или имеющим непереносимость, применительно к конкретной липидокорректирующей терапии, может также быть определен посредством или подвержен влиянию других факторов, таких как семейный анамнез, медицинский фон, текущий статус терапевтического лечения пациента, так же как общепринятые или преобладающие липопротеиновые мишени, принятые национальными медицинскими ассоциациями и терапевтическими группами. Например, в конкретных контекстах, если пациента подвергают терапии с использованием конкретного липидокорректирующего средства, и для него показан уровень LDL-C, больший или равный приблизительно 70 мг/дл, это указывает на то, что пациент является «неответчающим или неадекватно контролируемым, или имеющим непереносимость, применительно к этой липидокорректирующей терапии», и может получать преимущество посредством лечения с использованием видов терапии, описанных в настоящем описании. В других контекстах, если пациента подвергают терапии с использованием конкретного липидокорректирующего средства, и для него показан уровень LDL-C, больший или равный приблизительно 100 мг/дл, это указывает на то, что пациент является «неответчающим, неадекватно контролируемым или имеющим непереносимость, применительно к этой липидокорректирующей терапии», и может получать преимущество посредством лечения с использованием видов терапии, описанных в настоящем описании. В конкретных контекстах, если пациента подвергают терапии с использованием конкретного липидокорректирующего средства, и для него показан уровень LDL-C, больший или равный приблизительно 150 мг/дл, 200 мг/дл, 250 мг/дл, 300 мг/дл, 400 мг/дл или выше, это указывает на то, что пациент является «неответчающим, неадекватно контролируемым или имеющим непереносимость, применительно к конкретной липидокорректирующей терапии», и может получать преимущество посредством лечения с использованием видов терапии, описанных в настоящем описании. В других контекстах, то, достигнут или нет конкретный процент уменьшения уровня LDL-C или не-HDL-C, относительно уровня у пациента LDL-C или не-HDL-C в конкретной начальной точке («исходного»), можно использовать для определения того, ответил ли пациент на липидокорректирующую терапию, или нуждается ли этот пациент в дальнейшем лечении с использованием способов и средств по настоящему изобретению. Например, уменьшение уровня LDL-C или не-HDL-C на менее чем 50% (например, менее чем 40%, менее чем 35%, менее чем 30%, менее чем 25% и т.д.) от исходного может означать необходимость терапии с использованием способов и средств по настоящему изобретению.

[0089] Настоящее изобретение, соответственно, относится к способам лечения, включающим введение одной или нескольких доз ингибитора ANGPTL3 (например, эвинакумаба) и одной или нескольких доз комбинации статина, эзетимиба, ингибитора PCSK9, мипомерсена и/или ломитапида пациенту, которого подвергают воздействию других типов липидокорректирующей терапии (например, секвестрантов желчных кислот, ниацина, фенофибрата), но который является неответчающим на такую терапию, или является имеющим непереносимость такой терапии, где, после введения одной или нескольких доз комбинированного терапевтического средства, описанного в настоящем описании, пациент является способным к достижению нормальных уровней общего холестерина, LDL-C или не-HDL-C. В конкретных случаях, для пациента можно отменять другое липидокорректирующее терапевтическое средство, или другое липидокорректирующее терапевтическое средство можно продолжать, но можно вводить в более низких дозах и можно использовать в комбинации с ингибитором ANGPTL3 и статином плюс эзетимиб и ломитапид, и необязательно, ингибитор PCSK9 и/или мипомерсен, для достижения и/или поддержания конкретного целевого уровня липопротеина. Альтернативно, пациенту можно вводить другое липидокорректирующее терапевтическое средство в нормальной назначенной дозе, однако, частоту введения другого липидокорректирующего терапевтического средства можно уменьшать, если другое липидокорректирующее терапевтическое средство подлежит введению в сочетании с комбинацией, описанной в настоящем описании. В некоторых случаях, необходимость лечения пациента с использованием другого липидокорректирующего терапевтического средства для достижения и/или поддержания конкретного целевого уровня липопротеина может совсем прекратиться после введения одной или нескольких доз комбинированных терапевтических средств, описанных в настоящем описании.

[0090] В соответствии с конкретными вариантами осуществления, настоящее изобретение относится к способам уменьшения или исключения необходимости конкретной липидокорректирующей терапии, включающим выбор пациента с гиперлипидемией (например, гиперхолестеринемией), которого подвергали лечению с использованием конкретных видов липидокорректирующей терапии в пределах последнего месяца, последних 2 месяцев, последних 3 месяцев, последних 4 месяцев, последних 5 месяцев, последних 6 месяцев или в течение более длительного периода, и введение одной или нескольких доз ингибитора ANGPTL3 в комбинации с средствами, описанными в настоящем описании (эзетимибом, ломитапидом и статином), пациенту. Способы, в соответствии с этим аспектом изобретения, приводят к снижению уровня по меньшей мере одного липида или липопротеина в сыворотке пациента, и следовательно, позволяют уменьшение или исключение необходимости лечения с использованием другого липидокорректирующего терапевтического средства, на которое пациент не отвечал (например, секвестранта желчных кислот, ниацина или фенофибрата), или к которому у пациента показана непереносимость. Способы, описанные в настоящем описании, можно также использовать у пациентов, подвергаемых аферезу, и комбинирование

липидоснижающих средств, используемых в этой популяции пациентов, может приводить к исключению необходимости афереза, или может увеличивать временной интервал между процедурами афереза. Например, в конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения, после введения одной или нескольких доз ингибитора ANGPT3 в комбинации с статином, эзетимибом и/или ломитапидом, уровень в сыворотке LDL-C пациента уменьшается до менее, чем определенного уровня (например, менее чем 100 мг/дл или менее чем 70 мг/дл), или общий холестерин снижается до определенного уровня (например, менее чем 200 мг/дл, или менее чем 150 мг/дл, или для уровня в сыворотке LDL-C показано по меньшей мере 40% уменьшение, по сравнению с исходными уровнями до лечения с использованием комбинации, описанной в настоящем описании).

[0091] В соответствии с конкретными вариантами осуществления, пациент, которого можно лечить способами по настоящему изобретению, имеет гиперхолестеринемию (например, концентрацию в сыворотке LDL-C, большую или равную 70 мг/дл (например, если пациент имеет в анамнезе сердечно-сосудистое событие), или концентрацию в сыворотке LDL-C, большую или равную 100 мг/дл (например, если пациент не имеет в анамнезе сердечно-сосудистого события). В конкретных вариантах осуществления, гиперхолестеринемия у пациента является неадекватно контролируемой посредством конкретных стандартных липидокорректирующих терапевтических средств, таких как секвестранты желчных кислот, ниацин или фенофибраты. Настоящее изобретение также относится к способам уменьшения уровней общего холестерина, LDL-C, не-HDL-C, триглицеридов (TG), ApoB, ApoCIII и Lp(a) у пациента, который имеет семейную гиперхолестеринемию, включая HeFH и HoFH.

Пациенты, подходящие для лечения

[0092] Настоящее изобретение относится к способам и композициям, которые можно использовать для лечения пациентов, у которых диагностировано состояние или которые идентифицированы как подверженные риску развития состояния гиперхолестеринемии, например, такой как гетерозиготная семейная гиперхолестеринемия (HeFH) или гомозиготная семейная гиперхолестеринемия (HoFH), возникшая в результате мутаций в рецепторе липопротеинов низкой плотности (LDLR), аутосомно-доминантная гиперхолестеринемия (ADH, например, ADH, ассоциированная с одной или несколькими мутациями с приобретением функции в гене PCSK9), документированное присутствие гомозиготных или сочетание гетерозиготных мутаций в гене Apo B, аутосомно-рецессивная гиперхолестеринемия (ARH, например, ARH, ассоциированная с мутациями в LDLRAP1), так же как случаи гиперхолестеринемии, отличной от семейной гиперхолестеринемии (не-FH). Пациент, подходящий для лечения с использованием способов по настоящему изобретению, может также включать пациентов, имеющих мутации LDLR, попадающие в любой из следующих классов: класс I: нуль-мутации рецептора, из-за которых LDLR вообще не синтезируется; класс II: дефектные по транспорту аллели, из-за которых LDLR не транспортируется должным образом из

эндоплазматического ретикулула к аппарату Гольджи для экспрессии на клеточной поверхности (класс IIА (отсутствие транспорта рецептора) и класс IIВ (уменьшенный транспорт рецептора); класс III: дефектные по связыванию аллели, из-за которых LDLR не связывает должным образом LDL на клеточной поверхности из-за дефекта либо в аполипопротеине В100 (R3500Q), либо в LDL-R; класс IV: дефектные по интернализации аллели, из-за которых LDLR, связанный с LDL, не кластеризуется должным образом в окаймленных клатрином ямках для опосредованного рецептором эндоцитоза; класс V: дефектные по рециркуляции аллели, из-за которых LDLR не подвергается рециркуляции обратно к клеточной поверхности.

[0093] Диагноз семейная гиперхолестеринемия (например, heFH или hoFH) может быть поставлен по генотипированию и/или клиническим критериям. Для пациентов, которые не генотипированы, клинический диагноз может быть основан либо на критериях Симона-Брума с критериями для определенной FH, либо на критериях WHO/Голландской сети клиник по лечению липидных нарушений с баллом > 8 единиц.

[0094] В соответствии с конкретными вариантами осуществления, пациент может являться подходящим для лечения на основании наличия анамнеза коронарной болезни сердца (CHD). В рамках изобретения, «анамнез CHD» (или «документированный анамнез CHD») включает одно или несколько из: (i) острого инфаркта миокарда (MI); (ii) молчащего MI; (iii) нестабильной стенокардии; (iv) процедуры коронарной реваскуляризации (например, чрескожного вмешательства на коронарных сосудах [PCI] или шунтирования коронарных артерий [CABG]); и/или (v) клинически значимого CHD, диагностированного посредством инвазивного или неинвазивного тестирования (такого как коронарная ангиография, стресс-тест с использованием беговой дорожки, стресс-эхокардиография или ядерная визуализация).

[0095] В соответствии с конкретными вариантами осуществления, пациент может являться подходящим для лечения на основании наличия не относящегося к коронарной болезни сердца сердечно-сосудистого заболевания («не-CHD CVD»). В рамках изобретения, «не-CHD CVD» включает одно или несколько из: (i) документированного предшествующего ишемического инсульта с фокальным неврологическим дефицитом, персистирующего более чем 24 часов, как считают, имеющего атеротромботическое происхождение; (ii) заболевания периферических артерий; (iii) аневризмы брюшной аорты; (iv) атеросклеротического стеноза почечной артерии; и/или (v) заболевания сонной артерии (транзиторных ишемических атак или >50% обструкции сонной артерии).

[0096] В соответствии с конкретными вариантами осуществления, пациент может являться подходящим для лечения на основании наличия одного или нескольких дополнительных факторов риска, например, таких как, (i) документированная умеренная хроническая почечная недостаточность (CKD), как определено по $30 \leq eGFR < 60$ мл/мин/1,73 м² в течение 3 месяцев или более; (ii) сахарный диабет типа 1 или типа 2 в присутствии или в отсутствие поражения органа-мишени (например, ретинопатии, нефропатии, микроальбуминурии); (iii) расчетный 10-летний показатель риска летального

CVD по шкале SCORE $\geq 5\%$ (ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidemias, Conroy *et al.*, 2003, *Eur. Heart J.* 24:987-1003).

[0097] В соответствии с конкретными вариантами осуществления, пациент может являться подходящим для лечения на основании наличия одного или нескольких дополнительных факторов риска, выбранных из группы, состоящей из возраста (например, старше чем 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 или 80 лет), расы, национального происхождения, пола (мужского или женского), особенностей физических нагрузок (например, регулярно занимается физическими упражнениями, не занимается физическими упражнениями), других предсуществующих медицинских состояний (например, диабета типа-II, высокого кровяного давления и т.д.) и текущего статуса приема лекарственных средств (например, текущего приема бета-блокаторов, ниацина, эзетимиба, фибратов, омега-3-жирных кислот, связывающих желчные кислоты смол и т.д.).

[0098] В соответствии с конкретными вариантами осуществления настоящего изобретения, субъект, который является подходящим для лечения способами по настоящему изобретению, может иметь повышенный уровень одного или нескольких маркеров воспаления. Любой маркер системного воспаления можно использовать для целей по настоящему изобретению. Пригодные маркеры воспаления включают, без ограничения, С-реактивный белок, цитокины (например, IL-6, IL-8 и/или IL-17), и молекулы клеточной адгезии (например, ICAM-1, ICAM-3, VCAM-1, LFA-2, VCAM-1, NCAM и PECAM).

[0099] В соответствии с настоящим изобретением, пациенты могут являться подходящими для лечения на основании комбинации одного или нескольких из вышеуказанных критериев или терапевтических характеристик. Например, в соответствии с конкретными вариантами осуществления, пациент, подходящий для лечения способами по настоящему изобретению, может, кроме того, быть выбран на основании наличия HeFH или не-FH в комбинации с: (i) анамнезом документированной CHD, (ii) не-CHD CVD, и/или (iii) сахарным диабетом с поражением органа-мишени; такие пациенты могут также быть выбраны на основании наличия концентрации в сыворотке LDL-C, большей или равной 70 мг/дл.

[00100] В соответствии с другими конкретными вариантами осуществления, пациент, подходящий для лечения способами по настоящему изобретению, в дополнение к наличию гиперхолестеринемии, неадекватно контролируемой посредством режима ежедневной умеренной дозы терапевтического статина, может, кроме того, быть выбран на основании наличия HeFH или не-FH без CHD, или не-CHD CVD, однако, наличия либо (i) расчетного 10-летнего показателя риска летального CVD по шкале SCORE $\geq 5\%$; либо (ii) сахарного диабета без поражения органа-мишени; такие пациенты могут также быть выбраны на основании наличия концентрации в сыворотке LDL-C, большей или равной 100 мг/дл.

[00101] В соответствии с конкретными вариантами осуществления настоящего изобретения, субъект, которого можно лечить способами по настоящему изобретению,

представляет собой субъекта, который имеет синдром семейной хиломикронемии (FCS; также известный как недостаточность липопротеинлипазы).

[00102] В соответствии с конкретными вариантами осуществления настоящего изобретения, субъект, которого можно лечить способами по настоящему изобретению, представляет собой субъекта, которого подвергают, или недавно подвергали, аферезу липопротеинов (например, в пределах последних шести месяцев, в пределах последних 12 недель, в пределах последних 8 недель, в пределах последних 6 недель, в пределах последних 4 недель, в пределах последних 2 недель и т.д.).

Введение ингибитора ANGPTL3 в качестве дополнительной терапии

[00103] Настоящее изобретение относится к способам лечения, где пациенту, которого подвергают, или недавно подвергали, стандартной липидокорректирующей терапии (например, статином), вводят ингибитор ANGPTL3, в соответствии с конкретными уровнем и частотой дозирования, и где ингибитор ANGPTL3 вводят в качестве дополнения к предшествующей липидокорректирующей терапии пациента (если применимо), например, дополнения к предшествующему у пациента режиму ежедневного терапевтического статина, или другому режиму, например, ниацина. Способы также включают использование ингибитора ANGPTL3 (например, эвинакумаба) в качестве дополнительной терапии с липидокорректирующими терапевтическими средствами, в дополнение к статинам, включая использование с эзетимибом и ломитапидом для достижения максимальных липидоснижающих эффектов. Дополнительные липидоснижающие средства, подлежащие использованию в способах по настоящему изобретению, включают ингибиторы PCSK9 или мипомерсен. Комбинацию средств можно также использовать у пациентов, подвергаемых аферезу, для достижения приемлемых уровни липидов.

[00104] Например, способы по настоящему изобретению включают дополнительные терапевтические режимы, где ингибитор ANGPTL3 вводят в качестве дополнительной терапии к такому же стабильному режиму ежедневного терапевтического статина (т.е., такому же уровню статина), какой был у пациента до введения ингибитора ANGPTL3. В дополнение к терапии статином плюс антитело против ANGPTL3, добавление эзетимиба либо отдельно, либо в комбинации с ломитапидом, приводит к значимо более низким уровням в сыворотке липидов или липопротеинов, когда вводят комбинацию. В других вариантах осуществления, ингибиторы ANGPTL3 вводят в качестве дополнительной терапии к режиму терапевтического статина, содержащему статин в количестве, которое является большим или меньшим, чем доза статина, какая была у пациента до введения ингибитора ANGPTL3 или комбинированного терапевтического средства, описанного в настоящем описании. Например, после начала терапевтического режима, содержащего ингибитор ANGPTL3, вводимый с конкретными частотами и количествами дозирования, в дополнение к эзетимибу и ломитапиду, ежедневную дозу статина, вводимую или прописанную пациенту, можно (a) оставлять такой же, (b) увеличивать или (c) уменьшать (например, титровать вверх или титровать

вниз), по сравнению с ежедневной дозой статина, которую вводили пациенту до начала терапевтического режима ингибитора ANGPTL3, эзетимиба и/или ломитапида, в зависимости от терапевтических потребностей пациента.

Терапевтическая эффективность

[00105] Способы по настоящему изобретению могут приводить к уменьшению уровней в сыворотке одного или нескольких липидных компонентов, выбранных из группы, состоящей из общего холестерина, LDL-C, IDL, не-HDL-C, ApoB 100, ApoB 48, Apo A-1, Apo CIII, VLDL-C, триглицеридов, Lp(a), хиломикронов, остатков хиломикронов и остатков холестерина. Например, в соответствии с конкретными вариантами осуществления настоящего изобретения, введение ингибитора ANGPTL3 в комбинации с статином, эзетимибом и/или ломитапидом подходящему субъекту может приводить к среднему проценту уменьшения от исходного уровня в сыворотке холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) по меньшей мере приблизительно 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, или более; среднему проценту уменьшения от исходного уровня ApoB по меньшей мере приблизительно 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, или более; среднему проценту уменьшения от исходного уровня не-HDL-C по меньшей мере приблизительно 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, или более; среднему проценту уменьшения от исходного уровня общего холестерина по меньшей мере приблизительно 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, или более; среднему проценту уменьшения от исходного уровня VLDL-C по меньшей мере приблизительно 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, или более; среднему проценту уменьшения от исходного уровня триглицеридов по меньшей мере приблизительно 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35% или более; и/или среднему проценту уменьшения от исходного уровня Lp(a) по меньшей мере приблизительно 5%, 10%, 15%, 20%, 25% или более.

Ингибиторы ANGPTL3

[00106] Способы по настоящему изобретению включают введение пациенту терапевтической композиции, содержащей ингибитор ANGPTL3 (например, антитело против ANGPTL3, такое как эвинакумаб) в комбинации с статином, ингибитором абсорбции холестерина (например, эзетимибом) и средством, ингибирующим микросомальный белок переноса триглицеридов (например, ломитапидом).

[00107] В рамках изобретения, «ингибитор ANGPTL3» представляет собой любое средство, которое связывается или взаимодействует с ANGPTL3 человека и ингибирует нормальную биологическую функцию ANGPTL3 *in vitro* или *in vivo*. Неограничивающие примеры категорий ингибиторов ANGPTL3 включают низкомолекулярные антагонисты ANGPTL3, ингибиторы экспрессии или активности ANGPTL3 на основе нуклеиновой кислоты (например, мРНК или антисмысловой), молекулы на основе пептидов, которые специфически взаимодействуют с ANGPTL3 (например, пептидные антитела), рецепторные молекулы, которые специфически взаимодействуют с ANGPTL3, связывающие ANGPTL3 каркасные молекулы (например, дарпины, белки с повтором HEAT, белки с повтором ARM, белки с тетратрикопептидным повтором, каркасные

конструкции на основе фибронектина и другие каркасы на основе белков с природными повторами и т.д., [см., например, Boersma and Pluckthun, 2011, *Curr. Opin. Biotechnol.* 22:849-857, и процитированные в этом документе ссылки]) и аптамеры против ANGPTL3 или их части. В соответствии с конкретными вариантами осуществления, ингибиторы ANGPTL3, которые можно использовать в контексте настоящего изобретения, представляют собой антитела против ANGPTL3 или антигенсвязывающие фрагменты антител, которые специфически связывают ANGPTL3 человека.

[00108] Термин «подобный ангиопоэтину белок-3 человека» или «ANGPTL3 человека», или «hANGPTL3», в рамках изобретения, относится к ANGPTL3, имеющему аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 9 (см. также номер доступа в NCBI NP_055310), или его биологически активному фрагменту.

[00109] Термин «антитело», в рамках изобретения, предназначен для обозначения молекул иммуноглобулинов, содержащих четыре полипептидные цепи, две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, соединенные между собой дисульфидными связями, так же как их мультимеров (например, IgM). Каждая тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи (сокращенно обозначенную в настоящем описании как HCVR или VH) и константную область тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи содержит три домена, CH1, CH2 и CH3. Каждая легкая цепь содержит переменную область легкой цепи (сокращенно обозначенную в настоящем описании как LCVR или VL) и константную область легкой цепи. Константная область легкой цепи содержит один домен (CL1). Области VH и VL могут быть далее подразделены на области гипервариабельности, называемые определяющими комплементарность областями (CDR), перемежающиеся более консервативными областями, называемыми каркасными областями (FR). Каждая из VH и VL состоит из трех CDR и четырех FR, аранжированных от amino-конца до карбокси-конца в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. В различных вариантах осуществления изобретения, FR антитела против ANGPTL3 (или его антигенсвязывающей части) могут являться идентичными последовательностям зародышевой линии человека, или могут являться естественным или искусственным образом модифицированными. Аминокислотную консенсусную последовательность можно определять на основании анализа расположенных параллельно двух или более CDR.

[00110] Термин «антитело», в рамках изобретения, также включает антигенсвязывающие фрагменты полноразмерных молекул антител. Термины «антигенсвязывающая часть» антитела, «антигенсвязывающий фрагмент» антитела, и т.п., в рамках изобретения, включают любой встречающийся в природе, получаемый ферментным способом, синтетический или полученный посредством генной инженерии полипептид или гликопротеин, который специфически связывает антиген с формированием комплекса. Антигенсвязывающие фрагменты антитела могут быть получены, например, из полноразмерных молекул антител с использованием любых подходящих стандартных способов, таких как протеолитическое расщепление или

рекомбинантные способы генной инженерии, включающие манипуляцию с ДНК, кодирующей переменные и, необязательно, константные домены антитела, и ее экспрессию. Такая ДНК является известной и/или легко доступной, например, из коммерческих источников, библиотек ДНК (включая, например, фаговые библиотеки антител), или может быть синтезирована. ДНК можно секвенировать и подвергать манипуляциям химически или посредством использования способов молекулярной биологии, например, для аранжировки одного или нескольких переменных и/или константных доменов в подходящей конфигурации, или для введения кодонов, создания остатков цистеина, модификации, добавления или делеции аминокислот и т.д.

[00111] Неограничивающие примеры антигенсвязывающих фрагментов включают: (i) фрагменты Fab; (ii) фрагменты F(ab')₂; (iii) фрагменты Fd; (iv) фрагменты Fv; (v) одноцепочечные молекулы Fv (scFv); (vi) фрагменты dAb; и (vii) минимальные узнающие единицы, состоящие из аминокислотных остатков, имитирующих гиперпеременную область антитела (например, выделенную определяющую комплементарность область (CDR), такую как пептид CDR3), или пептид с ограниченной конформацией FR3-CDR3-FR4. Другие сконструированные молекулы, такие как домен-специфические антитела, однодоменные антитела, антитела с делетированным доменом, химерные антитела, CDR-привитые антитела, диатела, триатела, тетраатела, миниантитела, наноантитела (например, моновалентные наноантитела, бивалентные наноантитела и т.д.), иммунофармацевтические средства на основе модульных белков малого размера (SMIP) и переменные домены IgNAR, также включены в выражение «антигенсвязывающий фрагмент», в рамках изобретения.

[00112] Антигенсвязывающий фрагмент антитела может, как правило, содержать по меньшей мере один переменный домен. Переменный домен может быть любого размера или аминокислотного состава и может, как правило, содержать по меньшей мере одну CDR, которая является соседней с или находится в рамке считывания с одной или несколькими каркасными последовательностями. В антигенсвязывающих фрагментах, имеющих домен VH, ассоциированный с доменом VL, домены VH и VL могут располагаться друг относительно друга в любом подходящем порядке. Например, переменная область может являться димерной и содержать димеры VH-VH, VH-VL или VL-VL. Альтернативно, антигенсвязывающий фрагмент антитела может содержать мономерный домен VH или VL.

[00113] В конкретных вариантах осуществления, антигенсвязывающий фрагмент антитела может содержать по меньшей мере один переменный домен, ковалентно связанный по меньшей мере с одним константным доменом. Неограничивающие иллюстративные конфигурации переменных и константных доменов, которые можно обнаружить в антигенсвязывающем фрагменте антитела по настоящему изобретению, включают: (i) VH-CH1; (ii) VH-CH2; (iii) VH-CH3; (iv) VH-CH1-CH2; (v) VH-CH1-CH2-CH3; (vi) VH-CH2-CH3; (vii) VH-CL; (viii) VL-CH1; (ix) VL-CH2; (x) VL-CH3; (xi) VL-CH1-CH2; (xii) VL-CH1-CH2-CH3; (xiii) VL-CH2-CH3; и (xiv) VL-CL. В любой

конфигурации переменных и константных доменов, включая любую из иллюстративных конфигураций, перечисленных выше, переменные и константные домены либо могут быть непосредственно связаны друг с другом, либо могут быть связаны посредством полной или частичной шарнирной или линкерной области. Шарнирная область может состоять по меньшей мере из 2 (например, 5, 10, 15, 20, 40, 60 или более) аминокислот, которые приводят к образованию гибкой или полугибкой связи между соседними переменными и/или константными доменами в одной молекуле полипептида. Кроме того, антигенсвязывающий фрагмент антитела по настоящему изобретению может содержать гомодимер или гетеродимер (или другой мультимер) любой из конфигураций переменных и константных доменов, перечисленных выше, в нековалентной ассоциации друг с другом и/или с одним или несколькими мономерными доменами VH или VL (например, посредством дисульфидной связи(ей)).

[00114] Как и в случае полноразмерных молекул антител, антигенсвязывающие фрагменты могут являться моноспецифическими или мультиспецифическими (например, биспецифическими). Мультиспецифический антигенсвязывающий фрагмент антитела может, как правило, содержать по меньшей мере два различных переменных домена, где каждый переменный домен является способным к специфическому связыванию с отдельным антигеном или с другим эпитопом того же самого антигена. Любой формат мультиспецифического антитела, включая иллюстративные форматы биспецифических антител, описанные в настоящем описании, можно адаптировать для применения в контексте антигенсвязывающего фрагмента антитела по настоящему изобретению с использованием общепринятых способов, доступных в данной области.

[00115] Константная область антитела является важной для способности антитела связывать комплемент и опосредовать клеточнозависимую цитотоксичность. Таким образом, изотип антитела может быть выбран на основании того, является ли желательным для антитела опосредовать цитотоксичность.

[00116] Термин «человеческое антитело», в рамках изобретения, предназначен для включения антител, имеющих переменные и константные области, происходящие из последовательностей иммуноглобулинов зародышевой линии человека. Человеческие антитела по настоящему изобретению могут, тем не менее, включать аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулинов зародышевой линии человека (например, мутации, введенные посредством случайного или сайт-специфического мутагенеза *in vitro* или посредством соматической мутации *in vivo*), например, в CDR и в частности, CDR3. Однако, термин «человеческое антитело», в рамках изобретения, не предназначен для включения антител, в которых последовательности CDR, происходящие из зародышевой линии другого вида млекопитающего, такого как мышь, привиты в человеческие каркасные последовательности. Термин включает антитела, продуцированные рекомбинантным способом в не относящемся к человеку млекопитающем, или в клетках не относящегося к человеку млекопитающего. Термин не

предназначен для включения антител, выделенных из или образованных у субъекта-человека.

[00117] Термин «рекомбинантное человеческое антитело», в рамках изобретения, предназначено для включения всех человеческих антител, которые получены, экспрессированы, созданы или выделены посредством рекомбинантных способов, таких как антитела, экспрессированные с использованием рекомбинантного экспрессирующего вектора, трансфицированного в клетку-хозяина (дополнительно описанные ниже), антитела, выделенные из рекомбинантной, комбинаторной библиотеки человеческих антител (дополнительно описанные ниже), антитела, выделенные из животного (например, мыши), которое является трансгенным по генам иммуноглобулинов человека (см., например, Taylor *et al.*, (1992) *Nucl. Acids Res.* 20:6287-6295), или антитела, полученные, экспрессированные, созданные или выделенные любыми другими способами, которые включают соединение последовательностей генов человеческих иммуноглобулинов с другими последовательностями ДНК. Такие рекомбинантные человеческие антитела имеют переменные и константные области, происходящие из последовательностей иммуноглобулинов зародышевой линии человека. В конкретных вариантах осуществления, однако, такие рекомбинантные человеческие антитела подвергают мутагенезу *in vitro* (или, когда используют животное, трансгенное по последовательностям человеческого Ig, соматическому мутагенезу *in vivo*), и таким образом, аминокислотные последовательности областей VH и VL рекомбинантных антител представляют собой последовательности, которые, в то время как происходят из последовательностей VH и VL зародышевой линии человека и являются родственными им, могут не встречаться в природе в репертуаре антител зародышевой линии человека *in vivo*.

[00118] Человеческие антитела могут существовать в двух формах, что связано с гетерогенностью шарнира. В одной форме, молекула иммуноглобулина содержит стабильную четырехцепочечную конструкцию массой приблизительно 150-160 кДа, в которой димеры удерживаются вместе посредством межцепевой дисульфидной связи тяжелых цепей. Во второй форме, димеры не связаны посредством межцепевых дисульфидных связей, и образуется молекула массой приблизительно 75-80 кДа, состоящая из ковалентно связанных легкой и тяжелой цепи (полуантитело). Эти формы крайне сложно разделить даже после аффинной очистки.

[00119] Частота появления второй формы в различных изотипах интактных IgG обусловлена, но без ограничения, структурными различиями, ассоциированными с изотипом шарнирной области антитела. Одиночная аминокислотная замена в шарнирной области шарнира IgG4 человека может значительно уменьшать появление второй формы (Angal *et al.*, (1993) *Molecular Immunology* 30:105), до уровней, как правило, наблюдаемых при использовании шарнира IgG1 человека. Настоящее изобретение охватывает антитела, имеющие одну или несколько мутаций в области шарнира, CH2 или CH3, которые могут являться желательными, например, при продукции, для улучшения выхода желательной формы антитела.

[00120] «Выделенное антитело», в рамках изобретения, означает антитело, которое было идентифицировано и отделено и/или выделено из по меньшей мере одного компонента его естественного окружения. Например, антитело, которое было отделено или извлечено из по меньшей мере одного компонента организма, или из ткани или клетки, в которых антитело существует в природе или продуцируется естественным путем, представляет собой «выделенное антитело», для целей настоящего изобретения. Выделенное антитело также включает антитело *in situ* в рекомбинантной клетке. Выделенные антитела представляют собой антитела, которые были подвергнуты по меньшей мере одной стадии очистки или выделения. В соответствии с конкретными вариантами осуществления, выделенное антитело может являться в основном свободным от другого клеточного материала и/или химических соединений.

[00121] Термин «специфически связывает», или т.п., означает, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент формирует комплекс с антигеном, который является сравнительно устойчивым в физиологических условиях. Способы определения того, связывается ли антитело специфически с антигеном, хорошо известны в данной области и включают, например, равновесный диализ, поверхностный плазмонный резонанс, и т.п.. Например, антитело, которое «специфически связывает» ANGPTL3, как использовано в контексте настоящего изобретения, включает антитела, которые связывают ANGPTL3 или его часть с KD менее чем приблизительно 1000 нМ, менее чем приблизительно 500 нМ, менее чем приблизительно 300 нМ, менее чем приблизительно 200 нМ, менее чем приблизительно 100 нМ, менее чем приблизительно 90 нМ, менее чем приблизительно 80 нМ, менее чем приблизительно 70 нМ, менее чем приблизительно 60 нМ, менее чем приблизительно 50 нМ, менее чем приблизительно 40 нМ, менее чем приблизительно 30 нМ, менее чем приблизительно 20 нМ, менее чем приблизительно 10 нМ, менее чем приблизительно 5 нМ, менее чем приблизительно 4 нМ, менее чем приблизительно 3 нМ, менее чем приблизительно 2 нМ, менее чем приблизительно 1 нМ или менее чем приблизительно 0,5 нМ, как измерено в анализе поверхностного плазмонного резонанса. Выделенное антитело, которое специфически связывает ANGPTL3 человека, однако, имеет перекрестную реакционную способность по отношению к другим антигенам, таким как молекулы ANGPTL3 из других (не относящихся к человеку) видов.

[00122] Антитела против ANGPTL3, которые можно использовать для способов по настоящему изобретению, могут содержать одну или несколько аминокислотных замен, вставок и/или делеций в каркасных областях и/или областях CDR переменных доменов тяжелой и легкой цепей, по сравнению с соответствующими последовательностями зародышевой линии, из которых происходят антитела. Такие мутации можно легко определять посредством сравнения аминокислотных последовательностей, описанных в настоящем описании, с последовательностями зародышевой линии, доступными, например, из публичных баз данных последовательностей антител. Настоящее изобретение относится к способам, включающим использование антител и их антигенсвязывающих фрагментов, происходящих из любой из аминокислотных

последовательностей, описанных в настоящем описании, где одна или несколько аминокислот в одной или нескольких каркасных областях и/или областях CDR подвергнуты мутагенезу до соответствующего остатка(ов) последовательности зародышевой линии, из которой происходило антитело, или до соответствующего остатка(ов) из последовательности другой зародышевой линии человека, или до консервативной аминокислотной замены соответствующего остатка(ов) зародышевой линии (такие изменения последовательностей в совокупности обозначены в настоящем описании как «мутации зародышевой линии»). Специалист в данной области, начиная с последовательностей переменных областей тяжелой и легкой цепей, описанных в настоящем описании, может легко получать многочисленные антитела и антигенсвязывающие фрагменты, которые содержат одну или несколько индивидуальных мутаций зародышевой линии, или их комбинаций. В конкретных вариантах осуществления, все из остатков каркаса и/или CDR в доменах VH и/или VL подвергнуты обратному мутагенезу до остатков, обнаруженных в исходной последовательности зародышевой линии, из которой произошло антитело. В других вариантах осуществления, только конкретные остатки подвергнуты обратному мутагенезу до исходной последовательности зародышевой линии, например, только мутантные остатки, обнаруженные в пределах первых 8 аминокислот FR1 или в пределах последних 8 аминокислот FR4, или только мутантные остатки, обнаруженные в пределах CDR1, CDR2 или CDR3. В других вариантах осуществления, один или несколько остаток(ов) каркаса и/или CDR подвергнуты мутагенезу до соответствующего остатка(ов) последовательности другой зародышевой линии (т.е., последовательности зародышевой линии, которая отличается от последовательности зародышевой линии, из которой исходно произошло антитело). Кроме того, антитела по настоящему изобретению могут содержать любую комбинацию из двух или более мутаций зародышевой линии в пределах каркасных областей и/или областей CDR, например, где конкретные индивидуальные остатки подвергнуты мутагенезу до соответствующего остатка последовательности конкретной зародышевой линии, в то время как другие конкретные остатки, которые отличаются от последовательности исходной зародышевой линии, сохранены или подвергнуты мутагенезу до соответствующего остатка последовательности отличной зародышевой линии. После получения, антитела и антигенсвязывающие фрагменты, содержащие одну или несколько мутаций зародышевой линии, можно легко тестировать по одному или нескольким желательным свойствам, таким как улучшенная специфичность связывания, увеличенная аффинность связывания, улучшенные или усиленные антагонистические или агонистические биологические свойства (в зависимости от обстоятельств), уменьшенная иммуногенность и т.д. Применение антител и антигенсвязывающих фрагментов, полученных этим общим способом, охвачено настоящим изобретением.

[00123] Настоящее изобретение также относится к способам, включающим использование антител против ANGPTL3, содержащих варианты любых из аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR, и/или CDR, описанных в настоящем

описании, имеющие одну или несколько консервативных замен. Например, настоящее изобретение относится к применению антител против ANGPTL3, имеющих аминокислотные последовательности HCVR, LCVR и/или CDR, например, с 10 или менее, 8 или менее, 6 или менее, 4 или менее и т.д. консервативными аминокислотными заменами, относительно любой из аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, описанных в настоящем описании.

[00124] Термин «поверхностный плазмонный резонанс», в рамках изобретения, относится к оптическому феномену, который обеспечивает возможность анализа взаимодействий в реальном времени посредством выявления изменений концентраций белков в биосенсорной матрице, например, с использованием системы BIAcore™ (отдел Biacore Life Sciences в GE Healthcare, Piscataway, NJ).

[00125] Термин «KD», в рамках изобретения, предназначен для обозначения равновесной константы диссоциации для конкретного взаимодействия антитело-антиген.

[00126] Термин «эпитоп» относится к антигенной детерминанте, которая взаимодействует со специфическим антигенсвязывающим участком в вариабельной области молекулы антитела, известной как паратоп. Один антиген может иметь более одного эпитопа. Таким образом, различные антитела могут связываться с различными областями на антигене и могут иметь различные биологические эффекты. Эпитопы могут являться либо конформационными, либо линейными. Конформационный эпитоп образован пространственно сближенными аминокислотами из различных фрагментов линейной полипептидной цепи. Линейный эпитоп представляет собой эпитоп, образованный смежными аминокислотными остатками в полипептидной цепи. В определенных условиях, эпитоп может включать группы сахаридов, фосфорильные группы или сульфонильные группы на антигене.

[00127] В соответствии с конкретными вариантами осуществления, антитела против ANGPTL3, используемые в способах по настоящему изобретению, представляют собой антитела с зависимыми от pH характеристиками связывания. В рамках изобретения, выражение «зависимое от pH связывание» означает, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент имеет «уменьшенное связывание с ANGPTL3 при кислом pH, по сравнению с нейтральным pH» (для целей по настоящему изобретению, оба выражения можно использовать взаимозаменяемо). Например, антитела «с зависимыми от pH характеристиками связывания» включают антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, которые связывают ANGPTL3 с более высокой аффинностью при нейтральном pH, чем при кислом pH. В конкретных вариантах осуществления, антитела и антигенсвязывающие фрагменты по настоящему изобретению связывают ANGPTL3 с по меньшей мере в 3, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100 раз или более высокой аффинностью при нейтральном pH, чем при кислом pH.

[00128] В соответствии с этим аспектом изобретения, антитела против ANGPTL3 с зависимыми от pH характеристиками связывания могут иметь одну или несколько аминокислотных замен, относительно исходного антитела против ANGPTL3. Например,

антитело против ANGPTL3 с зависимыми от pH характеристиками связывания может содержать одну или несколько гистидиновых замен или вставок, например, в одной или нескольких CDR исходного антитела против ANGPTL3. Таким образом, в соответствии с конкретными вариантами осуществления настоящего изобретения, представлены способы, включающие введение антитела против ANGPTL3, содержащего аминокислотные последовательности CDR (например, CDR тяжелой и легкой цепи), которые являются идентичными аминокислотным последовательностям CDR исходного антитела против ANGPTL3, за исключением замены одной или нескольких аминокислот в одной или нескольких CDR исходного антитела на остаток гистидина. Антитела против ANGPTL3 с зависимым от pH связыванием могут иметь, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или более гистидиновых замен, либо в пределах одной CDR исходного антитела, либо распределенных среди множества (например, 2, 3, 4, 5 или 6) CDR исходного антитела против ANGPTL3. Например, настоящее изобретение относится к применению антител против ANGPTL3 с зависимым от pH связыванием, содержащих одну или несколько гистидиновых замен в HCDR1, одну или несколько гистидиновых замен в HCDR2, одну или несколько гистидиновых замен в HCDR3, одну или несколько гистидиновых замен в LCDR1, одну или несколько гистидиновых замен в LCDR2, и/или одну или несколько гистидиновых замен в LCDR3 исходного антитела против ANGPTL3.

[00129] В рамках изобретения, выражение «кислый pH» означает pH 6,0 или менее (например, менее чем приблизительно 6,0, менее чем приблизительно 5,5, менее чем приблизительно 5,0 и т.д.). Выражение «кислый pH» включает значения pH приблизительно 6,0, 5,95, 5,90, 5,85, 5,8, 5,75, 5,7, 5,65, 5,6, 5,55, 5,5, 5,45, 5,4, 5,35, 5,3, 5,25, 5,2, 5,15, 5,1, 5,05, 5,0 или менее. В рамках изобретения, выражение «нейтральный pH» означает pH от приблизительно 7,0 до приблизительно 7,4. Выражение «нейтральный pH» включает значения pH приблизительно 7,0, 7,05, 7,1, 7,15, 7,2, 7,25, 7,3, 7,35 и 7,4.

[00130] Неограничивающий пример антитела против ANGPTL3, которое можно использовать в контексте настоящего изобретения, включает эвинакумаб.

Получение человеческих антител

[00131] Антитела против ANGPTL3 можно получать в соответствии с любым способом получения/выделения антител, известным в данной области. Например, антитела для использования в способах по настоящему изобретению можно получать посредством технологий гибридомы, посредством фагового дисплея, посредством дрожжевого дисплея и т.д. Антитела для использования в способах по настоящему изобретению могут представлять собой, например, химерные антитела, гуманизированные антитела или полностью человеческие антитела.

[00132] Способы получения человеческих антител в трансгенных мышах известны в данной области. Любые такие известные способы можно использовать в контексте настоящего изобретения для получения человеческих антител, которые специфически связывают ANGPTL3.

[00133] Например, с использованием технологии VELOCIMMUNE™ (см., например, US 6596541, Regeneron Pharmaceuticals) или любого другого известного способа получения моноклональных антител, сначала выделяют высокоаффинные химерные антитела против ANGPTL3, имеющие человеческую переменную область и мышиную константную область. Технология VELOCIMMUNE® включает получение трансгенной мыши, имеющей геном, содержащий человеческие переменные области тяжелой и легкой цепей, функционально связанные с эндогенными мышинными локусами константной области, таким образом, что мышь продуцирует антитело, содержащее человеческую переменную область и мышиную константную область, в ответ на антигенную стимуляцию. ДНК, кодирующую переменные области тяжелой и легкой цепей антитела, выделяют и функционально связывают с ДНК, кодирующей человеческие константные области тяжелой и легкой цепей. Затем ДНК экспрессируют в клетке, способной экспрессировать полностью человеческое антитело.

[00134] Как правило, мышь VELOCIMMUNE® подвергают воздействию представляющего интерес антигена, и лимфатические клетки (такие как В-клетки) выделяют от мышей, которые экспрессируют антитела. Лимфатические клетки можно сливать с линией клеток миеломы для получения immortalized линий клеток гибридомы, и такие линии клеток гибридомы подвергают скринингу и отбору для идентификации линий клеток гибридомы, которые продуцируют антитела, специфические для представляющего интерес антигена. ДНК, кодирующую переменные области тяжелой цепи и легкой цепи, можно выделять и связывать с константными областями тяжелой цепи и легкой цепи желательных изотипов. Такой белок антитела можно продуцировать в клетке, такой как клетка СНО. Альтернативно, ДНК, кодирующую антигенспецифические химерные антитела или переменные домены легкой и тяжелой цепей, можно выделить непосредственно из антигенспецифических лимфоцитов.

[00135] Первоначально, выделяют высокоаффинные химерные антитела, имеющие человеческую переменную область и мышиную константную область. Антитела характеризуют и отбирают по желательным характеристикам, включая аффинность, избирательность, эпитоп и т.д., с использованием стандартных способов, известных специалисту в данной области. Мышинные константные области заменяют желательной человеческой константной областью для получения полностью человеческого антитела по настоящему изобретению, например, относящегося к дикому типу или модифицированного IgG1 или IgG4. В то время как выбранную константную область можно менять в соответствии с конкретным применением, характеристики высокоаффинного связывания антигена и специфичности к мишени сохраняются в переменной области.

[00136] Как правило, антитела, которые можно использовать в способах по настоящему изобретению имеют высокую аффинность, как описано выше, при измерении посредством связывания с антигеном, либо иммобилизованным на твердой фазе, либо находящимся в фазе раствора. Мышинные константные области заменяют желательными

человеческими константными областями для получения полностью человеческих антител по настоящему изобретению. В то время как выбранную константную область можно менять, в соответствии с конкретным применением, характеристики высоко аффинного связывания антигена и специфичности к мишени сохраняются в вариабельной области.

[00137] Конкретные примеры человеческих антител или антигенсвязывающих фрагментов антител, специфически связывающих ANGPTL3, которые можно использовать в контексте способов по настоящему изобретению, включают антитела или антигенсвязывающие белки, содержащие шесть CDR (HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3) из аминокислотной последовательности пары вариабельных областей тяжелой и легкой цепей (HCVR/LCVR), содержащей SEQ ID NO: 1/5.

[00138] В конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения, антитело против ANGPTL3, или его антигенсвязывающий фрагмент, которые можно использовать в способах по настоящему изобретению, содержат определяющие комплементарность области тяжелой и легкой цепей (HCDR1-HCDR2-HCDR3/LCDR1-LCDR2-LCDR3), содержащие аминокислотные последовательности из SEQ ID NO:2, 3, 4, 6, 7 и 8.

[00139] В конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения, антитело против ANGPTL3, или его антигенсвязывающий фрагмент, которые можно использовать в способах по настоящему изобретению, содержат HCVR, имеющую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:1, и LCVR, имеющую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:5.

Фармацевтические композиции и способы введения

[00140] Настоящее изобретение относится к способам, включающим введение ингибитора ANGPTL3 пациенту в комбинации с статином, ингибитором абсорбции холестерина и ингибитором микросомального белка переноса триглицеридов, где ингибитор ANGPTL3 и дополнительные средства содержатся в одной и той же, или в различных фармацевтических композициях. Фармацевтические композиции по настоящему изобретению формулируют с подходящими носителями, наполнителями и другими средствами, обеспечивающими подходящие перенос, доставку, переносимость, и т.п.. Множество подходящих составов можно обнаружить в справочнике, известном всем специалистам в области фармацевтической химии: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA. Эти составы включают, например, порошки, пасты, мази, желе, воски, масла, липиды, содержащие липиды (катионные или анионные) везикулы (такие как LIPOFECTIN™), конъюгаты ДНК, безводные абсорбционные пасты, эмульсии масло в воде и вода в масле, эмульсии карбовакс (полиэтиленгликоли различной молекулярной массы), полутвердые гели и полутвердые смеси, содержащие карбовакс. См. также Powell et al., «Compendium of excipients for parenteral formulations» PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311.

[00141] Иллюстративные фармацевтические составы, содержащие антитела против ANGPTL3, которые можно использовать в контексте настоящего изобретения, включают любые из составов, как указано в US 8795669 (описывающей, среди прочего,

иллюстративные составы, содержащие алирокумаб), или в WO2013/166448 или WO2012/168491.

[00142] Различные системы доставки известны и могут быть использованы для введения фармацевтической композиции по настоящему изобретению, например, инкапсуляция в липосомы, микрочастицы, микрокапсулы, рекомбинантные клетки, способные экспрессировать мутантные вирусы, опосредованный рецепторами эндоцитоз (см., например, Wu et al., 1987, J. Biol. Chem. 262:4429-4432). Способы введения включают, но без ограничения, внутрикожный, внутримышечный, внутривенный, подкожный, интраназальный, эпидуральный и пероральный способы. Композицию можно вводить любым удобным способом, например, посредством инфузии или болюсной инъекции, посредством абсорбции через эпителиальные или слизистые оболочки (например, слизистую оболочку ротовой полости, слизистую оболочку прямой кишки и кишечника, и т.д.), и можно вводить совместно с другими биологически активными средствами.

[00143] фармацевтическую композицию по настоящему изобретению можно доставлять подкожно или внутривенно с использованием стандартной иглы и шприца. Кроме того, применительно к подкожной доставке, шприц-ручку легко можно использовать для доставки фармацевтической композиции по настоящему изобретению. Такая шприц-ручка может являться многоразовой или одноразовой. В многоразовой шприц-ручке, как правило, используют заменяемый картридж, содержащий фармацевтическую композицию. После введения всей фармацевтической композиции, содержащейся в картридже, и опустошения картриджа, пустой картридж легко можно выбросить и заменить на новый картридж, содержащий фармацевтическую композицию. Шприц-ручку затем можно использовать заново. В одноразовой шприц-ручке нет заменяемого картриджа. Вместо этого, одноразовую шприц-ручку поставляют предварительно заполненной фармацевтической композицией, содержащейся в резервуаре внутри устройства. После опустошения резервуара от фармацевтической композиции, целое устройство выбрасывают.

[00144] Многочисленные многоразовые шприц-ручки и автоинжекторы для доставки находят применение в подкожной доставке фармацевтической композиции по настоящему изобретению. Примеры включают, но без ограничения, AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK), шприц-ручку DISETRONIC™ (Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Switzerland), шприц-ручку HUMALOG MIX 75/25™, шприц-ручку HUMALOG™, шприц-ручку HUMALIN 70/30™ (Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN), NOVOPEN™ I, II и III (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), шприц-ручку BD™ (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™ и OPTICLIK™ (Sanofi-Aventis, Frankfurt, Germany), если назвать только некоторые из них. Примеры одноразовых шприц-ручек, находящих применение в подкожной доставке фармацевтической композиции по настоящему изобретению включают, но без ограничения, шприц-ручку SOLOSTAR™

(Sanofi-Aventis), FLEXPEN™ (Novo Nordisk) и KWIKPEN™ (Eli Lilly), автоинжектор SURECLICK™ (Amgen, Thousand Oaks, CA), PENLETT™ (Haselmeier, Stuttgart, Germany), EPIPEN (Dey, L.P.) и шприц-ручку HUMIRATM (Abbott Labs, Abbott Park IL), если назвать только некоторые из них.

[00145] В конкретных ситуациях, фармацевтическую композицию можно доставлять в системе с контролируемым высвобождением. В одном варианте осуществления, можно использовать насос (см. Langer, выше; Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201). В другом варианте осуществления, можно использовать полимерные материалы; см., Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), 1974, CRC Pres., Boca Raton, Florida. В другом варианте осуществления, систему с контролируемым высвобождением можно помещать вблизи мишени для композиции, что, таким образом, требует только части системной дозы (см., например, Goodson, 1984, in Medical Applications of Controlled Release, выше, vol. 2, pp. 115-138). Другие системы с контролируемым высвобождением обсуждают в обзоре Langer, 1990, Science 249:1527-1533.

[00146] Пригодные для инъекции препараты могут включать лекарственные формы для внутривенных, подкожных, внутрикожных и внутримышечных инъекций, капельных инфузий и т.д. Эти пригодные для инъекции препараты можно получать известными способами. Например, пригодные для инъекции препараты можно получать, например, посредством растворения, суспендирования или эмульгации антитела или его соли, описанных выше, в стерильной водной среде или масляной среде, общепринятых для инъекций. В качестве водной среды для инъекций, присутствуют, например, физиологический солевой раствор, изотонический раствор, содержащий глюкозу и другие вспомогательные средства и т.д., которые можно использовать в комбинации с подходящим солюбилизующим средством, таким как спирт (например, этанол), полиспирт (например, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль), неионное поверхностно-активное вещество [например, полисорбат 80, HCO-50 (полиоксиэтиленовый (50 моль) аддукт гидрогенизированного касторового масла)] и т.д. В качестве масляной среды используют, например, кунжутное масло, соевое масло и т.д., которые можно использовать в комбинации с солюбилизующим средством, таким как бензилбензоат, бензиловый спирт и т.д. Полученным таким образом средством для инъекции, предпочтительно, заполняют подходящую ампулу.

[00147] Преимущественно, фармацевтические композиции для перорального или парентерального использования, описанные выше, получают в лекарственных формах в единичной дозе, соответствующей дозе активных ингредиентов. Такие лекарственные формы в единичной дозе включают, например, таблетки, пилюли, капсулы, средства для инъекции (ампулы), суппозитории и т.д.

Дозировка

[00148] Количество ингибитора ANGPTL3 (например, антитела против ANGPTL3), вводимое субъекту, в соответствии со способами по настоящему изобретению, как

правило, представляет собой терапевтически эффективное количество. В рамках изобретения, фраза «терапевтически эффективное количество ингибитора ANGPTL3» означает дозу ингибитора ANGPTL3, которая, при введении в комбинации с статином, эзетимибом и ломитапидом, приводит к поддающемуся детекции уменьшению (по меньшей мере на приблизительно 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75% или более от исходного) одного или нескольких параметров, выбранных из группы, состоящей из общего холестерина, LDL-C, ApoB, ApoA-1, Apo CIII, не-HDL-C, VLDL-C, триглицеридов и Lp(a), или количество, которое уменьшает или исключает потребность пациента в других лекарственных средствах или вмешательствах, например, таких как аферез липопротеинов.

[00149] Количество ингибитора ANGPTL3 (например, антитела против ANGPTL3), вводимое субъекту, в соответствии со способами по настоящему изобретению, как правило, представляет собой терапевтически эффективное количество. В рамках изобретения, фраза «терапевтически эффективное количество ингибитора ANGPTL3» означает дозу ингибитора ANGPTL3, которая, при комбинировании с лекарственными средствами, описанными в настоящем описании, приводит к поддающемуся детекции уменьшению (по меньшей мере на приблизительно 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75% или более от исходного) одного или нескольких параметров, выбранных из группы, состоящей из общего холестерина, LDL-C, ApoB, ApoA-1, Apo CIII, не-HDL-C, VLDL-C, триглицеридов и Lp(a).

[00150] В случае антитела против ANGPTL3, терапевтически эффективное количество может составлять от приблизительно 0,05 мг до приблизительно 600 мг, например, приблизительно 0,05 мг, приблизительно 0,1 мг, приблизительно 1,0 мг, приблизительно 1,5 мг, приблизительно 2,0 мг, приблизительно 10 мг, приблизительно 20 мг, приблизительно 30 мг, приблизительно 40 мг, приблизительно 50 мг, приблизительно 60 мг, приблизительно 70 мг, приблизительно 80 мг, приблизительно 90 мг, приблизительно 100 мг, приблизительно 110 мг, приблизительно 120 мг, приблизительно 130 мг, приблизительно 140 мг, приблизительно 160 мг, приблизительно 170 мг, приблизительно 180 мг, приблизительно 190 мг, приблизительно 200 мг, приблизительно 210 мг, приблизительно 220 мг, приблизительно 230 мг, приблизительно 240 мг, приблизительно 250 мг, приблизительно 260 мг, приблизительно 270 мг, приблизительно 280 мг, приблизительно 290 мг, приблизительно 300 мг, приблизительно 310 мг, приблизительно 320 мг, приблизительно 330 мг, приблизительно 340 мг, приблизительно 350 мг, приблизительно 360 мг, приблизительно 370 мг, приблизительно 380 мг, приблизительно 390 мг, приблизительно 400 мг, приблизительно 410 мг, приблизительно 420 мг, приблизительно 430 мг, приблизительно 440 мг, приблизительно 450 мг, приблизительно 460 мг, приблизительно 470 мг, приблизительно 480 мг, приблизительно 490 мг, приблизительно 500 мг, приблизительно 510 мг, приблизительно 520 мг, приблизительно 530 мг, приблизительно 540 мг, приблизительно 550 мг, приблизительно 560 мг, приблизительно 570 мг, приблизительно 580 мг, приблизительно 590 мг или

приблизительно 600 мг, антитела против ANGPTL3. Другие уровни дозирования ингибиторов ANGPTL3 очевидны специалисту в данной области и предусмотрены в объеме настоящего изобретения.

[00151] Количество антитела против ANGPTL3, содержащееся в индивидуальных дозах, можно выражать в миллиграммах антитела на килограмм массы тела пациента (т.е., мг/кг). Например, антитело против ANGPTL3 можно вводить пациенту в дозе от приблизительно 0,0001 до приблизительно 20 мг/кг массы тела пациента.

Виды комбинированной терапии

[00152] Способы по настоящему изобретению могут также включать введение ингибитора ANGPTL3 в комбинации с статином, эзетимибом и ломитапидом пациенту, который является неотвечающим, неадекватно контролируемым или имеющим непереносимость, применительно к другим видам стандартной липидоснижающей терапии. В конкретных вариантах осуществления, необходимость в дальнейшем введении стандартного липидоснижающего терапевтического средства может совсем прекратиться. В конкретных вариантах осуществления, комбинированное применение ингибитора ANGPTL3 с другими средствами, описанными в настоящем описании, можно использовать в комбинации с («наряду с») прописанной пациенту ранее липидоснижающей терапией. Например, в контексте снижения по меньшей мере одного параметра липида/липопротеина у пациента, страдающего гиперлипидемией (например, гиперхолестеринемией), где пациент является неотвечающим, неадекватно контролируемым или имеющим непереносимость, применительно к стандартной липидоснижающей терапии, комбинацию ингибитора ANGPTL3 с эзетимибом и ломитапидом можно вводить пациенту в комбинации со стабильным режимом ежедневного терапевтического статина. Иллюстративные режимы ежедневного терапевтического статина, которые можно использовать в контексте настоящего изобретения, включают, например, аторвастатин (10, 20, 40 или 80 мг ежедневно), (аторвастатин/эзетимиб 10/10 или 40/10 мг ежедневно), розувастатин (5, 10 или 20 мг ежедневно), цериастатин (0,4 или 0,8 мг ежедневно), питаваастатин (1, 2 или 4 мг ежедневно), флувастатин (20, 40 или 80 мг ежедневно), симвастатин (5, 10, 20, 40 или 80 мг ежедневно), симвастатин/эзетимиб (10/10, 20/10, 40/10 или 80/10 мг ежедневно), ловастатин (10, 20, 40 или 80 мг ежедневно), правастатин (10, 20, 40 или 80 мг ежедневно) и их комбинации. Другие липидокорректирующие терапевтические средства, в комбинации с которыми ингибитор ANGPTL3 можно вводить в контексте настоящего изобретения, включают, например, (1) средство, увеличивающее катаболизм липопротеинов (такое как ниацин); и/или (2) активаторы фактора транскрипции LXR, который играет роль в выведении холестерина, такие как 22-гидроксихолестерин.

[00153] Неограничивающий пример антитела против ANGPTL3, подлежащего использованию в контексте настоящего изобретения, включает эвинакумаб.

Режимы введения

[00154] В соответствии с конкретными вариантами осуществления настоящего изобретения, множественные дозы ингибитора ANGPTL3 (т.е., фармацевтической композиции, содержащей ингибитор ANGPTL3), можно вводить субъекту в течение определенного периода времени (например, наряду с режимом ежедневного терапевтического статина или другой фоновой липидокорректирующей терапии), в дополнение к введению эзетимиба и ломитапида. Способы в соответствии с этим аспектом изобретения включают последовательное введение субъекту множественных доз ингибитора ANGPTL3. В рамках изобретения, «последовательное введение» означает, что каждую дозу ингибитора ANGPTL3 вводят субъекту в различные временные точки, например, на различные сутки, разделенные предварительно определенным интервалом (например, несколько часов, суток, недель или месяцев). Настоящее изобретение относится к способам, включающим последовательное введение пациенту одной начальной дозы ингибитора ANGPTL3, с последующими одной или несколькими вторичными дозами ингибитора ANGPTL3, и необязательно, с последующими одной или несколькими третичными дозами ингибитора ANGPTL3.

[00155] Термины «начальная доза», «вторичные дозы» и «третичные дозы», относятся к временной последовательности введения индивидуальных доз фармацевтической композиции, содержащей ингибитор ANGPTL3. Таким образом, «начальная доза» представляет собой дозу, которую вводят в начале режима лечения (также обозначено как «исходная доза»); «вторичные дозы» представляют собой дозы, которые вводят после начальной дозы; и «третичные дозы» представляют собой дозы, которые вводят после вторичных доз. Все из начальной, вторичных и третичных доз могут содержать одинаковое количество ингибитора ANGPTL3, но, как правило, они могут отличаться друг от друга в отношении частоты введения. В конкретных вариантах осуществления, однако, количества ингибитора ANGPTL3, содержащиеся в начальной, вторичных и/или третичных дозах, отличаются друг от друга (например, скорректированы в сторону повышения или понижения, при необходимости) в ходе курса лечения. В конкретных вариантах осуществления, две или более (например, 2, 3, 4 или 5) доз вводят в начале режима лечения в качестве «нагрузочных доз», за которыми следуют последующие дозы, которые вводят с меньшей частотой (например, «поддерживающие дозы»).

[00156] В соответствии с иллюстративными вариантами осуществления настоящего изобретения, каждую вторичную и/или третичную дозу вводят через 1-26 (например, 1, 1½, 2, 2½, 3, 3½, 4, 4½, 5, 5½, 6, 6½, 7, 7½, 8, 8½, 9, 9½, 10, 10½, 11, 11½, 12, 12½, 13, 13½, 14, 14½, 15, 15½, 16, 16½, 17, 17½, 18, 18½, 19, 19½, 20, 20½, 21, 21½, 22, 22½, 23, 23½, 24, 24½, 25, 25½, 26, 26½ или более) недель после непосредственно предшествующей дозы. Фраза «непосредственно предшествующая доза», в рамках изобретения, означает, в последовательности из множества введений, дозу антигенсвязывающей молекулы, которую вводят пациенту до введения ближайшей следующей дозы в последовательности, без промежуточных доз.

[00157] Способы в соответствии с этим аспектом изобретения могут включать введение пациенту любого количества вторичных и/или третичных доз ингибитора ANGPTL3. Например, в конкретных вариантах осуществления, только одну вторичную дозу вводят пациенту. В других вариантах осуществления, две или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или более) вторичных доз вводят пациенту. Подобным образом, в конкретных вариантах осуществления, только одну третичную дозу вводят пациенту. В других вариантах осуществления, две или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, или более) третичных доз вводят пациенту.

[00158] В вариантах осуществления, включающих множественные вторичные дозы, каждую вторичную дозу можно вводить с той же самой частотой, что и другие вторичные дозы. Например, каждую вторичную дозу можно вводить пациенту через 1-2, 4, 6, 8 или более недель после непосредственно предшествующей дозы. Подобным образом, в вариантах осуществления, включающих множественные третичные дозы, каждую третичную дозу можно вводить с той же частотой, что и другие третичные дозы. Например, каждую третичную дозу можно вводить пациенту через 1-2, 4, 6, 8 или более недель после непосредственно предшествующей дозы. Альтернативно, частоту, с которой вторичные и/или третичные дозы вводят пациенту, можно менять в ходе режима лечения. Частоту введения может также корректировать терапевт в ходе курса лечения, в зависимости от потребностей индивидуального пациента, после клинического обследования. Подобным образом, дозы сопутствующих терапевтических средств, например, статина, эзетимиба и ломитапида, может корректировать терапевт в ходе курса лечения, в соответствии с нормализацией уровней липидов, наблюдаемой в ходе курса лечения.

ПРИМЕРЫ

[00159] Следующие примеры приведены, чтобы обеспечить специалиста в данной области полным раскрытием и описанием того, как осуществлять и применять способы и композиции по настоящему изобретению, и не предназначены для ограничения объема того, что авторы настоящего изобретения рассматривают в качестве своего изобретения. Были приложены усилия для обеспечения точности в отношении используемых чисел (например, количеств, температуры и т.д.), однако, необходимо учитывать некоторые экспериментальные ошибки и отклонения. Если не указано иное, части представляют собой массовые части, молекулярная масса представляет собой среднюю молекулярную массу, температура приведена в градусах Цельсия, и давление является равным или близким к атмосферному.

Пример 1. Получение человеческих антител против ANGPTL3 человека

[00160] Иллюстративное антитело против ANGPTL3, используемое в следующем примере, представляет собой человеческое антитело против ANGPTL3, известное как «эвинакумаб». Эвинакумаб имеет следующие характеристики аминокислотной последовательности: переменная область тяжелой цепи (HCVR), содержащая SEQ ID NO:1, и переменный домен легкой цепи (LCVR), содержащий SEQ ID NO:5;

определяющая комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), содержащая SEQ ID NO:2, HCDR2, содержащая SEQ ID NO:3, HCDR3, содержащая SEQ ID NO:4, определяющая комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), содержащая SEQ ID NO:6, LCDR2, содержащая SEQ ID NO:7, и LCDR3, содержащая SEQ ID NO:8.

Пример 2: Безопасность и эффективность эвинакумаба, моноклонального антитела против ANGPTL3, у пациентов с гомозиготной семейной гиперхолестеринемией, подвергаемых сопутствующей липидоснижающей терапии

[00161] Гомозиготная семейная гиперхолестеринемия (HoFH) включает выраженные генетические дефекты в пути рецептора липопротеинов низкой плотности (LDL), приводящие к катастрофически повышенному уровню LDL-холестерина (LDL-C) и тяжелому преждевременному атеросклерозу; ответы на статины и антитела против PCSK9 являются ограниченными. Доклинические исследования и генетические анализы для человека позволяют предполагать, что ингибирование подобного ангиопоэтина белка (ANGPTL3) снижает уровни LDL-C и обеспечивает преимущество для сердечно-сосудистой системы, независимо от рецептора LDL. Эвинакумаб, человеческое антитело против ANGPTL3, вводили девяти взрослым с HoFH (трем нуль-гомозиготам), уже подвергаемым введению максимально переносимых доз общепринятых терапевтических средств. Уровень LDL-C уменьшался на 49% (диапазон -25% - -90%) на неделе 4 (первичная конечная точка). Общее среднее пиковое уменьшение уровня LDL-C составляло $-58 \pm 18\%$ (-90% - -33%) между неделями 4 и 12, что показывает, что ингибирование ANGPTL3 посредством эвинакумаба значительно уменьшает уровень LDL-C у пациентов с HoFH.

[00162] Липопротеины низкой плотности (LDL) играют главную роль в возникновении и прогрессировании атеросклероза и в риске развития сердечно-сосудистого заболевания. Семейная гиперхолестеринемия (FH) представляет собой, как правило, нарушение, возникающее из-за мутаций в генах, кодирующих белки, регулирующие выведение LDL. Они включают гены рецептора липопротеинов низкой плотности (LDLR), аполипопротеина В (APOB), пробелковой конвертазы субтилизин/кексинового типа 9 (PCSK9) и адаптерного белка 1 рецептора липопротеинов низкой плотности (LDLRAP1) (Cuchel, et al., 2014 Eur Heart J 35:2146-57). Пациенты с гетерозиготной FH обычно имеют без лечения уровни в плазме LDL-холестерина (LDL-C), лежащие в диапазоне от 350 до 550 мг на децилитр, и, как правило, отвечают на липидоснижающую терапию, включая дозы, от умеренных до высоких, высокоактивных статинов, эзетимиба и антител против PCSK9 (Goldberg, et al., 2011 J Clin Lipidol 2011;5:S1-8; Kastelein, et al., 2014 Cardiovasc Drugs Ther 28:281-9). Гомозиготная FH (HoFH) представляет собой редкое заболевание, поражающее 1 на 160000-300000 человек. Пациенты с HoFH несут две вызывающие FH мутации (гомозиготные или сочетание гетерозиготных), имеют без лечения намного более высокие уровни LDL-C, как правило, лежащие в диапазоне от 500 до 1000 мг на децилитр (Kolansky, et al., 2008 The American Journal of Cardiology 102:1438-43), и являются значительно менее отвечающими или

неотвечающими на стандартную липидоснижающую терапию. У большинства индивидуумов с HoFH развиваются тяжелый ксантоматоз, коронарная болезнь сердца и атеросклероз периферических сосудов в раннем возрасте, и они могут умереть до возраста 30 лет, если оставлены без лечения (Nordestgaard, et al., 2013 Eur Heart J 34:3478-90a).

[00163] Генетическая и фенотипическая гетерогенность HoFH может переходить в широкую изменчивость проявлений сердечно-сосудистого заболевания и ответа на липидоснижающую терапию. Некоторые вызывающие FH мутации приводят к образованию дефектных рецепторов LDL с остаточной активностью, в то время как другие не имеют активности и таким образом, не отвечают на общепринятые липидоснижающие лекарственные средства, такие как статины и антитела против PCSK9, которые в основном нацелены на процесс экспрессии LDL-рецептора (Santos PC, Pereira AC. 2015 Pharmacogenomics 16:1743-50; Rader DJ, Kastelein JJ. 2014 Circulation 129:1022-32). Лекарственные средства с механизмами действия, не связанными с рецептором LDL, такие как ломитапид и мипомерсен, недавно были одобрены для лечения HoFH, но их использованию могут препятствовать проблемы с переносимостью и безопасностью.

[00164] Подобный ангиопоэтину белок 3 (ANGPTL3) представляет собой секретируемый белок, экспрессируемый в печени. Он действует для увеличения уровней в плазме триглицеридов, LDL-C и холестерина липопротеинов высокой плотности (HDL-C) посредством ингибирования активности липопротеинлипазы и эндотелиальной липазы или посредством модуляции выведения богатых триглицеридами липопротеинов выше продукции LDL (Wang, et al., 2015 J Lipid Res 56:1296-307; Musunuru, et al. 2010 N Engl J Med 363:2220-7). Доклинические исследования показали, что нокаут ANGPTL3 или его блокирование посредством антитела, могут снижать уровни триглицеридов и LDL-C независимо от LDL-R, и обеспечивают преимущество в моделях атеросклероза (Ando, et al., 2003 J Lipid Res 44:1216-23; Dewey, et al., 2017 New Engl J Med; in press). В соответствии с этим, крупномасштабные генетические исследования для человека показали, что мутации с потерей функции в ANGPTL3 приводят к уменьшенным уровням в плазме триглицеридов, LDL-C и HDL-C (Robciuc, et al., 2013 Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology 33:1706-13; Pisciotta, et al., 2012 Circ Cardiovasc Genet 5:42-50; Minicocci, et al., 2013 J Lipid Res 54:3481-90; Wang, et al., 2015 Proc Natl Acad Sci U S A 112:11630-5; Noto, et al., 2012 Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology 32:805-9; Martin-Campos, et al. 2012 Clinica chimica acta; International journal of clinical chemistry 413:552-5), и что даже более важно, что эти изменения липидов, ассоциированные с мутациями ANGPTL3, также являются ассоциированными с защитой от сердечно-сосудистого заболевания (Stitzel, et al., 2017 Journal of the American College of Cardiology). В совокупности, доклинические исследования, так же как генетические анализы у людей, позволяют предполагать, что ингибирующие ANGPTL3 виды терапии могут уменьшать уровни LDL-C и обеспечивать преимущество у пациентов с FH, включая пациентов, страдающих выраженным гомозиготным заболеванием, эвинакумаб представляет собой полностью человеческое моноклональное антитело, которое специфически блокирует

ANGPTL3 (Gusarova, et al., 2015 J Lipid Res 56:1308-17). У нормальных здоровых добровольцев, эвинакумаб являлся хорошо переносимым и уменьшал уровни трех главных фракций липидов. Проводили исследование фазы 2 для определения того, уменьшал ли эвинакумаб уровни LDL-C у девяти пациентов с генетически и фенотипически подтвержденной HoFH, включая пациентов, гомозиготных по нуль-мутациям, полностью лишенных активности LDLR.

Способы

[00165] Пациенты: Девять пациентов (5 мужчин, 4 женщины) были выбраны на основании их генотипов и фенотипов. У всех присутствовали в анамнезе LDL-C >500 мг на децилитр или >400 мг на децилитр после портокавального шунтирования, преждевременный атеросклероз (8 из 9 с предшествующим анамнезом сердечно-сосудистых событий) и тяжелый ксантоматоз, и они имели гомозиготные или сочетание гетерозиготных известных вызывающих FH мутаций LDLR (Hobbs, et al., 1992 Hum Mutat 1:445-66). Три пациента являлись нуль-гомозиготами. Всех пациентов подвергали лечению максимально переносимыми дозами липидоснижающих терапевтических средств.

[00166] Исследуемое лечение: От пациентов требовали поддержания их обычных липидоснижающей терапии и диеты, и режимов физических упражнений на протяжении исследования. Всем пациентам вводили однократную немаскированную дозу эвинакумаба 250 мг подкожно в область живота во время исходного осмотра и однократную внутривенную дозу 15 мг на килограмм эвинакумаба через 2 недели. Стерильный, лиофилизированный продукт лекарственного средства эвинакумаба поставляли в 5-мл одноразовом стеклянном флаконе для разведения до концентрации 100 мг на миллилитр для подкожных доз и 50 мг на миллилитр для внутривенных доз. Пациентов отслеживали в течение периода вплоть до 24 недель после внутривенной дозы, чтобы позволить вымывание эвинакумаба, и предлагали им регистрацию в расширенном исследовании.

[00167] Фармакодинамическая оценка: Образцы крови натошак собирали до введения исследуемого лекарственного средства, в исходной точке и с регулярными интервалами на протяжении периода незамаскированного лечения и периода отслеживания безопасности, для измерения уровней LDL-C, не-HDL-C, общего холестерина, HDL-C, аполипопротеина В, липопротеина (а), триглицеридов, аполипопротеина А-1 и других параметров. Первичная конечная точка представляла собой средний±стандартное отклонение (SD) процент изменения LDL-C от исходного до недели 4.

Результаты

[00168] Даже несмотря на то, что большинству пациентов вводили максимально переносимые дозы терапевтических средств, средний±SD исходный уровень LDL-C составлял 376,0±240,9 миллиграмм на децилитр (мг/дл); один пациент, претерпевший неудачу терапии статинами и отмену еженедельного афереза, имел исходный уровень LDL-C 756 мг/дл. Все девять пациентов сообщали о возникновении по меньшей мере

одного неблагоприятного события, но ни одно не привело к прекращению лечения. Одно событие (болезнь коронарных артерий из-за основного заболевания) являлось серьезным, но его не рассматривали как связанное с исследуемым лекарственным средством. Шесть событий рассматривали как связанные с исследуемым лекарственным средством, два из которых представляли собой реакции в участке инъекции мягкой тяжести, одно представляло собой миалгию умеренной тяжести, и одно представляло собой носовое кровотечение высокой тяжести.

[00169] Ответ на лекарственное средство: Средний $\pm$ SD процент изменения уровня LDL-C от исходного до недели 4 (предварительно заданная первичная конечная точка) после введения эвинакумаба составлял $-49\pm 23\%$ (диапазон: -90% - -25%), с абсолютным изменением от исходного -157 ± 90 (диапазон: -323 - -71) мг на децилитр (таблица 1, ниже). достигнутое среднее $\pm$ SD значение LDL-C на неделе 4 составляло 219 ± 191 мг на децилитр. На протяжении того же периода, процент изменения аполипопротеина В уменьшался на $46\pm 18\%$ (таблица 2, ниже), не-HDL-C на $49\pm 22\%$ (таблица 3, ниже), триглицеридов на 47% (медиана, межквартильный диапазон -57% - -38%) и HDL-C на $36\pm 16\%$. Общее среднее $\pm$ SD пиковое уменьшение уровня LDL-C, возникающее между неделями 4 и 12, составляло $-58\pm 18\%$ (диапазон -90% - -33%), с абсолютным пиковым уменьшением LDL-C 202 мг/дл. На неделе 4 (через 2 недели после внутривенной дозы), один пациент достиг уменьшения уровня LDL-C более чем на 80% . У 3 нуль-гомозиготных пациентов, среднее $\pm$ SD пиковое уменьшение LDL-C до недели 12 составляло $-48\pm 13\%$ (диапазон -60% - -33%).

Таблица 1: Эффект ингибирования AngPTL3 на концентрации в плазме LDL-C

LDL-C	
Осмотр	Средний процент изменения от исходного $\pm$ SE (%)
BL (нед. 0)	0
Сутки 4	$-12,8\pm 3,7$
Неделя 1	$-24\pm 7,0$
Неделя 2	$-30,2\pm 8,1$
Неделя 3	$-41,4\pm 8,3$
Неделя 4	$-49,2\pm 7,7$
Неделя 5	$-46,8\pm 5,1$
Неделя 6	$-52,1\pm 4,9$
Неделя 8	$-51,6\pm 6,0$
Неделя 10	$-45,6\pm 4,6$
Неделя 12	$-36,6\pm 6,4$

Таблица 2: Эффект ингибирования AngPTL3 на концентрации аполипопротеина В

Аполипопротеин В

Осмотр	Средний процент изменения от исходного $\pm$ SE (%)
BL (нед. 0)	0
Неделя 2	-24,2 $\pm$ 7
Неделя 3	-38,6 $\pm$ 7,3
Неделя 4	-45,9 $\pm$ 6,1
Неделя 5	-42,3 $\pm$ 4,7
Неделя 6	-43,1 $\pm$ 4,9
Неделя 8	-42,7 $\pm$ 4,8
Неделя 12	-29,5 $\pm$ 7,2

Таблица 3: Эффект ингибирования AngPTL3 на концентрации не-HDL-C

He-HDL-C	
Осмотр	Средний процент изменения от исходного $\pm$ SE (%)
BL (нед. 0)	0
Сутки 4	-13,6 $\pm$ 3,6
Неделя 1	-24,1 $\pm$ 6,7
Неделя 2	-29,6 $\pm$ 7,8
Неделя 3	-41,6 $\pm$ 8
Неделя 4	-48,9 $\pm$ 7,4
Неделя 5	-46,6 $\pm$ 5,0
Неделя 6	-51,5 $\pm$ 4,8
Неделя 8	-50,6 $\pm$ 5,7
Неделя 10	-44,8 $\pm$ 4,4
Неделя 12	-36,4 $\pm$ 6,2

[00170] Введение полностью человеческого моноклонального блокирующего ANGPTL3 антитела эвинакумаба у девяти взрослых с HoFH, включая три нulloгомозиготы, приводило к значительным уменьшениям уровней LDL-C. Важно, что эти уменьшения присутствовали наряду с исходными уровнями, уже достигнутыми посредством стабильной, максимально переносимой липидоснижающей терапии в присутствии или в отсутствие ломитапида, моноклональных антител против PCSK9 или портокавального шунтирования. Эти результаты обеспечивают подтверждение концепции значительного дополнительного уменьшения уровней LDL-C посредством эвинакумаба, наряду со стандартом лечения, при лечении HoFH, с потенциалом к нормализации уровней LDL-C у некоторых пациентов, проявляющих необычайно высокие уровни LDL-C. Эвинакумаб, вводимый в форме 250-мг подкожной инъекции в исходной точке и в форме внутривенной инфузии 15 мг на килограмм на неделю 2, являлся хорошо переносимым. В недавно опубликованном впервые проведенном для человека

исследовании здоровых добровольцев-людей, показано, что эвинакумаб также уменьшал уровни LDL-C и также являлся хорошо переносимым у большего количества пациентов (Dewey, et al., 2017 *New Engl J Med*; in press). Для всех девяти пациентов, включая трех нуль-гомозиготных пациентов, лишенных активности LDLR, показаны клинически значимые уменьшения уровней LDL-C от исходных. В совокупности с недавними доклиническими исследованиями и генетическими анализами для человека, результаты позволяют предполагать, что ингибирование Angptl3 может не только снижать уровни LDL-C и триглицеридов, но также обеспечивать защиту от сердечно-сосудистого заболевания. Эти исследования дают реальную надежду на хорошо переносимое и действенное лечение для пациентов, страдающих выраженной семейной гиперхолестеринемией. На основании анализов Сотрудничества исследователей лечения нарушений холестерина (CTTC) (Cholesterol Treatment Trialists (CTT) Collaboration 2010 *Lancet* 376:1670-81), абсолютное уменьшение на 39 мг/дл уровня LDL-C соответствует уменьшению на 22% относительного риска на протяжении 4-5 лет лечения статинами; недавние данные исходов при использовании антитела против PCSK9 поддерживают сходные уменьшения риска на единицу уменьшения уровня LDL-C, при учете более короткой длительности лечения (Sabatine, et al., 2017 *N Engl J Med* e-publication 3-17-17; in press). В совокупности с генетическими данными о защитных эффектах мутаций ANGPTL3 на риск сердечно-сосудистых заболеваний (Stitzel, et al., 2017 *Journal of the American College of Cardiology* 69(16):2054-2063), абсолютные уменьшения на 150-200 мг/дл, достигнутые с использованием эвинакумаба у пациентов с HoFH, могут обеспечивать беспрецедентное преимущество для этих подверженных очень высокому риску пациентов.

[00171] Механизм, приводящий к таким большим уменьшениям уровня LDL-C, в настоящее время подвергают исследованию. Эвинакумаб смягчает нормальное ингибирование, посредством ANGPTL3, как липопротеинлипазы (главного регулятора триглицеридов), так и эндотелиальной липазы (регулятора HDL-C) (Shimamura, et al., 2007 *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 27:366-72); таким образом, с снижением уровней как триглицеридов, так и HDL-C посредством эвинакумаба. Результаты текущего исследования, в комбинации с результатами недавнего исследования *in vivo* (Wang, et al., 2015 *J Lipid Res* 56:1296-307), позволяют предполагать, что эффекты эвинакумаба на LDL-C включают комбинацию канонических и неканонических механизмов, действующих выше формирования LDL-частиц. В модели на мышах, инактивация ANGPTL3 с использованием эвинакумаба не влияла на количества VLDL, секретированные печенью, но качественно изменяла образованные частицы VLDL. После секреции, VLDL подвергаются быстрому гидролизу с формированием более бедных триглицеридами остатков VLDL, из-за индуцированной эвинакумабом повышающей регуляции липопротеинлипазы, что может увеличивать их выведение посредством рецепторов, отличных от рецепторов LDL. В отношении умеренных уменьшений, наблюдаемых для HDL-C, обширные предшествующие генетические анализы, включающие эндотелиальную

липазу (Voight, et al., 2012 Lancet 380:572-80), так же как недавние генетические обнаружения с использованием защиты ANGPTL3 (Dewey 2017, Stitzel 2017), согласуются с появившимся мнением, что уровни HDL-C не влияют напрямую на риск сердечно-сосудистых заболеваний (Ko, et al., 2016 Journal of the American College of Cardiology 68:2073-83).

[00172] Пациентам С и G одновременно вводили ломитапид - ингибитор микросомального белка переноса триглицеридов - на протяжении исследования. Для этих пациентов показано уменьшение на 90% и 44% уровней LDL-C, соответственно, через 2 недели после внутривенного введения эвинакумаба, приводящее к появлению гипотезы умножающего синергизма между ломитапидом (который влияет на продукцию VLDL) и эвинакумабом (который влияет на характеристики секретированного VLDL). Однако, пациенту D не вводили ломитапид, и для него показано - 77% уменьшение уровней LDL-C на неделе 4.

[00173] Результаты, опубликованные в настоящем описании, предоставляют подтверждение концепции, что ингибирование ANGPTL3 с использованием эвинакумаба приводит к значительному дополнительному уменьшению уровня LDL-C у пациентов с HoFH при стабильной липидоснижающей терапии, включая пациентов, имеющих нуль/нуль мутации. Дополнительная терапия эвинакумабом позволяла нормализацию концентраций LDL-C у четырех участников с HoFH в этом исследовании. Например, пациент С, женщина в возрасте 47, проявляла уровни LDL-C выше 800 мг на децилитр в возрасте 26 лет. Ее липидный профиль постепенно улучшился (достигая 150-170 мг на децилитр) с использованием последовательного введения высокой дозы статинов, эзетимиба и ломитапида. Уровень LDL-C достиг 15 мг на децилитр на неделе 4, через 2 недели после внутривенного введения эвинакумаба.

Пример 3: Ингибирование ANGPTL3 посредством эвинакумаба уменьшало уровни триглицеридов (TG) и LDL-C у субъектов, проявляющих умеренные увеличения уровней TG и/или LDL-C

[00174] Увеличения уровней LDL-C и TG связаны с увеличенным риском CHD. Недавние открытия показали центральную роль подобного ангиопоэтина белка-3 (ANGPTL3) в метаболизме липидов. Потеря функции (LoF) ANGPTL3 у человека была ассоциирована с уменьшениями уровней TG, LDL-C, и HDL-C. Эвинакумаб представляет собой человеческое моноклональное антитело, специфическое для ANGPTL3, которое было разработано для лечения дислипидемии, включая гипертриглицеридемию и гиперхолестеринемию.

Способы

[00175] Настоящее исследование представляло собой впервые проведенное для человека двойное слепое исследование фазы 1, с контролем плацебо (PBO), с повышением однократной дозы эвинакумаба, вводимой подкожно (SC) или внутривенно (IV), у субъектов с повышениями уровней TG ($150 \leq TG \leq 450$ мг/дл) и/или LDL C (≥ 100 мг/дл). Восемьдесят три субъекта рандомизированы в исследовании (9 для PBO SC; 12 для PBO

IV; 11 для 75 мг SC; 12 для 150 мг SC, 9 для 250 мг SC, 10 для 5 мг/кг IV, 9 для 10 мг/кг IV и 11 для 20 мг/кг IV).

Результаты

[00176] Показано, что эвинакумаб являлся хорошо переносимым в этом исследовании. Сорок один (41) субъект сообщал о по меньшей мере одном вызванном лечением неблагоприятном событии (TEAE): $32[\pm 51,6\%]$ в группе эвинакумаба, против $9[\pm 42,9\%]$ в группе PBO. Ни одно не было серьезным, и ни один субъект не прекратил лечение из-за TEAE. Наиболее частыми TEAE являлись головная боль (7 [11,3%] против 0 [0%]) и увеличения уровней ALT/AST [$>2X$ ULN] (5 подвергнутых лечению субъектов против 1 субъекта с PBO). Не присутствовало связанных с дозой тенденций, применительно к безопасности. Максимальные уменьшения уровней TG наблюдали на сутки 4, с медианным % изменения от исходного -1,0% - -75,0% среди доз эвинакумаба и +25,3% для PBO. Средние % изменения уровней LDL-C от исходного на сутки 11 составляли -3,4% - -25,5% среди доз эвинакумаба и +10,2 для PBO. Длительность уменьшения уровней TG и LDL являлась зависимой от дозы и продолжалась до суток 64 и 43, соответственно, после введения эвинакумаба 20 мг/кг IV. Зависимые от дозы уменьшения уровней HDL-C, VLDL-C, общего холестерина, не-HDL-C, ApoA1 и ApoB также наблюдали, но не присутствовало очевидных эффектов на Lp(a).

[00177] Введение эвинакумаба у здоровых субъектов с умеренно повышенными уровнями TG и/или LDL-C являлось, как правило, хорошо переносимым. Кроме того, эвинакумаб индуцировал быстрые и значительные уменьшения уровней TG, так же как уменьшения уровней LDL-C и HDL-C, воспроизводящие гиполипотеинемия, наблюдаемую у индивидуумов, гомозиготных по мутациям LOF ANGPTL3.

Пример 4: Эффективность и безопасность эвинакумаба у пациентов с невосприимчивой гиперхолестеринемией

[00178] Для уменьшения риска атеросклеротического сердечно-сосудистого заболевания, пациентов, имеющих гетерозиготную семейную гиперхолестеринемия, как правило, подвергают лечению с использованием видов липидснижающей терапии, которые могут, например, включать статины и ингибитор PCSK9. Несмотря на то, что каждая являющаяся стандартом лечения терапия вносит вклад в общее снижение уровня холестерина LDL, остается неудовлетворенная потребность среди пациентов, имеющих высокий исходный уровень холестерина LDL (van Delden, et al. 2018 *Atherosclerosis* 277:327-333; Rallidis, et al. 2020 *Atherosclerosis* 309:67-69). Это является особенно важным в контексте недавних руководств ESC-EAS по управлению уровнями липидов, в которых указан целевой уровень холестерина LDL для пациентов с риском атеросклеротического сердечно-сосудистого заболевания. Кроме того, некоторые пациенты с гетерозиготной семейной гиперхолестеринемией могут иметь неблагоприятные события, ассоциированные с являющимися стандартом лечения видами липидснижающей терапии, что ограничивает оптимизацию режимов лечения.

[00179] Оценивали эффективность и безопасность внутривенного (IV) и подкожного (SC) эвинакумаба (ингибитора подобного ангиопоэтину белка 3) у пациентов с невосприимчивой гиперхолестеринемией, несмотря на лечение максимально переносимыми дозами липидоснижающих терапевтических средств, включая ингибиторы PCSK9.

Способы

[00180] В двойное слепое исследование фазы 2 (NCT03175367) регистрировали пациентов с гетерозиготной семейной гиперхолестеринемией (HeFH)/не-HeFH с уровнями при скрининге LDL-C ≥ 70 мг/дл с ASCVD или ≥ 100 мг/дл без ASCVD. Пациентов рандомизировали в группы подкожного (SC) или внутривенного (IV) лечения. Группы IV содержали 106 пациентов (HeFH, 81,1%; не-HeFH, 18,9%), которым вводили эвинакумаб (EVIN) 15 мг/кг (n=38), EVIN 5 мг/кг (n=35) или плацебо (PBO; n=33) каждые 4 недели (Q4W). Группы SC содержали 160 пациентов (HeFH, 71,9%; не-HeFH, 28,1%), которым вводили EVIN 450 мг один раз в неделю (QW; n=40), EVIN 300 мг QW (n=42), EVIN 300 мг каждые 2 недели (Q2W; n=39) или PBO QW (n=39). Первичная конечная точка представляла собой % уменьшения уровня LDL-C посредством EVIN на неделе (W) 16 против PBO.

Результаты

[00181] Для групп IV лечения, средние (SD) исходные уровни LDL-C являлись сходными для EVIN 15 мг/кг (143,1 [54,4] мг/дл), EVIN 5 мг/кг (146,0 [61,0] мг/дл) и PBO (144,5 [46,6] мг/дл). На W16, EVIN 15 мг/кг и 5 мг/кг изменяли уровни LDL-C от исходного на -49,9% и -23,5%, соответственно, против изменения +0,6% с использованием PBO, со скорректированным относительно исходного уровня LS средним (SE) различием -50,5 (9,0)% (P<0,0001) и -24,2 (9,3)% (P<0,0109) в группах EVIN 15 мг/кг и 5 мг/кг, соответственно (фигура 1).

[00182] Для групп SC лечения, средние (SD) исходные уровни LDL-C составляли: 146,3 (84,6) мг/дл, EVIN 450 мг QW; 159,1 (73,0) мг/дл, EVIN 300 мг QW; 136,2 (70,2) мг/дл, EVIN 300 мг Q2W; и 157,8 (92,4) мг/дл, PBO. На W16, EVIN 450 мг QW, 300 мг QW, 300 мг Q2W изменяли LDL-C от исходного на -47,2%, -44,0% и -29,7%, соответственно против увеличения на 8,8% с использованием PBO, со скорректированным относительно исходного уровня LS средним (SE) различием -56,0 (9,0)%, -52,9 (9,0)% и -38,5 (9,1)% (все P<0,0001) для EVIN 450 мг QW, 300 мг QW и 300 мг Q2W, соответственно (фигура 1).

[00183] Для групп SC лечения, данные для вторичных конечных точек показали следующее: i) % изменения от исходного уровня Apo B на нед. 16: плацебо (LS средний: 6,7%), EVIN 300 мг Q2W (LS средний: -19,9%), EVIN 300 мг QW (LS средний: -35,2%) и EVIN 450 мг QW (LS средний: -38,8%); ii) % изменения от исходного уровня не-HDL-C на нед. 16: плацебо (LS средний: 8,0%), EVIN 300 мг Q2W (LS средний: -31,3%), EVIN 300 мг QW (LS средний: -45,8%) и EVIN 450 мг QW (LS средний: -50,6%); iii) % изменения от исходного уровня TC на нед. 16: плацебо (LS средний: 6,1%), EVIN 300 мг Q2W (LS

средний: -31,0%), EVIN 300 мг QW (LS средний: -40,3%) и EVIN 450 мг QW (LS средний: -45,4%); iv) пациенты $\geq 30\%$ уменьшением уровня LDL-C на нед. 16: плацебо (11,3%), EVIN 300 мг Q2W (68,1%), EVIN 300 мг QW (73,9%) и EVIN 450 мг QW (71,4%); v) пациенты $\geq 50\%$ уменьшением уровня LDL-C на нед. 16: плацебо (5,2%), EVIN 300 мг Q2W (28,6%), EVIN 300 мг QW (53,7%) и EVIN 450 мг QW (60,6%); vi) % изменения от исходного уровня TG на нед. 16: плацебо (LS средний: 8,1%), EVIN 300 мг Q2W (LS средний: -38,0%), EVIN 300 мг QW (LS средний: -47,7%) и EVIN 450 мг QW (LS средний: -53,4%); и vii) пациенты с рассчитанным уровнем LDL-C < 50 мг/дл на нед. 16: плацебо (5,1%), EVIN 300 мг Q2W (22,8%), EVIN 300 мг QW (29,7%) и EVIN 450 мг QW (40,8%).

[00184] Результаты для вторичных конечных точек эффективности поддерживают результат первичного анализа эффективности. Для режимов SC дозирования эвинакумаба продолжали показывать преимущество, по сравнению с плацебо, среди всех вышеперечисленных вторичных показателей эффективности в группах эвинакумаба 300 мг SC Q2W и в группах 450 мг SC QW, и рассчитанный уровень LDL-C < 50 мг/дл в группе эвинакумаба 300 мг SC Q2W. Как правило, зависимость ответа от дозы также наблюдали среди большинства конечных точек.

[00185] В группах IV лечения, неблагоприятные события (АЕ) возникали у 83,8% (EVIN 15 мг/кг), 75,0% (EVIN 5 мг/кг) и 69,9% (PBO) пациентов; одно серьезное АЕ (анафилаксия: разрешение на те же сутки), связанное с исследуемым лекарственным средством, возникло для EVIN 15 мг/кг. В группах SC лечения, АЕ возникали у 67,5% (EVIN 450 мг QW), 66,7% (EVIN 300 мг QW), 82,1% (EVIN 300 мг Q2W) и 53,8% (PBO) пациентов.

[00186] Таким образом, у пациентов с невосприимчивой гиперхолестеринемией, эвинакумаб (IV и SC) значительно уменьшал уровни LDL-C на 50,5-56,0% в максимальной дозе и, как правило, являлся хорошо переносимым. Использование эвинакумаба уменьшало уровни холестерина LDL и атерогенных липопротеинов у этих пациентов с невосприимчивой гиперхолестеринемией. Ответ на лечение, или уменьшение уровня холестерина LDL, с использованием подкожного и внутривенного эвинакумаба, наблюдали настолько рано, как при первой после исходной оценке уровня липидов (неделя 2), и он сохранялся до недели 16.

Пример 5: Эвинакумаб заметно уменьшает уровень холестерина липопротеинов низкой плотности у пациентов подросткового возраста с гомозиготной семейной гиперхолестеринемией

[00187] Гомозиготная семейная гиперхолестеринемия (HoFH) характеризуется чрезвычайно повышенными уровнями холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) и сердечно-сосудистым заболеванием в очень раннем возрасте, подчеркивая необходимость раннего и агрессивного лечения. Безопасность и эффективность эвинакумаба оценивали у пациентов подросткового возраста с HoFH.

Способы

[00188] Промежуточный анализ проводили в открытом исследовании эвинакумаба фазы 3 (NCT03409744) у пациентов подросткового возраста (возраста 12-<18 лет) с HoFH. Пациентам, которые участвовали в предшествующем исследовании эвинакумаба фазы 3 (NCT03399786), или которые являлись наивными в отношении эвинакумаба, вводили внутривенно эвинакумаб 15 мг/кг каждые 4 недели. Всех пациентов подвергали генотипированию.

Результаты

[00189] Всего, 13 пациентов подросткового возраста (8 мужчин; среднее [диапазон] возраста 14 [12-17] лет) подвергали лечению на протяжении средней (диапазона) длительности 34,5 (4-61) недели. В исходной точке, средний (стандартное отклонение [SD]) уровень LDL-C составлял 310,3 (97,3) мг/дл; 8 пациентов (61,5%) подвергали аферезу липопротеинов. Вызванные лечением неблагоприятные события (TEAE) возникали у 6 (46,2%) пациентов; ни одно TEAE не зарегистрировано у >1 пациента. Для одного пациента зарегистрировано два серьезных неблагоприятных события (псевдоаневризма сосуда, осложнение в участке артериовенозной фистулы; оба не связанные с исследуемым лекарственным средством). Данные LDL-C являлись доступными для 9 пациентов на неделе 24. В общем, эвинакумаб уменьшал средние уровни LDL-C от исходного до недели 24 на 52,4% (средний [SD], 183,4 [101,6] мг/дл). На неделе 24, эвинакумаб уменьшал средние уровни LDL-C от исходного на 67,2% и 40,6% у пациентов с вариантами LDL-рецептора нуль-нуль (n=4) и не-нуль-нуль (n=5), соответственно.

[00190] Таким образом, у пациентов подросткового возраста с HoFH, эвинакумаб, как правило, являлся хорошо переносимым и заметно уменьшал уровни LDL-C.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения пациента, страдающего невосприимчивой гиперхолестеринемией, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества комбинации (а) статина; (b) липидоснижающего средства, отличного от статина; и (с) ингибитора ANGPTL3.

2. Способ по п.1, дополнительно включающий введение терапевтически эффективного количества второго липидоснижающего средства, отличного от статина.

3. Способ по п.1 или 2, где статин выбран из группы, состоящей из аторвастатина (ЛИПИТОР®), питавастатина (ЛИВАЛО®), ловастатина (МЕВАКОР®), симвастатина (ЗОКОР®), правастатина (ПРАВАХОЛ®), флувастатина (ЛЕСКОЛ®) и розувастатина (КРЕСТОР®).

4. Способ по п.3, где статин представляет собой розувастатин (КРЕСТОР®), вводимый перорально один раз в сутки в дозе от приблизительно 5 мг до приблизительно 40 мг.

5. Способ по п.3, где статин представляет собой аторвастатин (ЛИПИТОР®), вводимый перорально один раз в сутки в дозе от приблизительно 10 мг до приблизительно 80 мг.

6. Способ по любому из пп. 1-5, где одно липидоснижающее средство, отличное от статина, представляет собой средство, ингибирующее абсорбцию холестерина.

7. Способ по п.6, где средство, ингибирующее абсорбцию холестерина, представляет собой эзетимиб (ЗЕТИЯ®).

8. Способ по п.7, где эзетимиб (ЗЕТИЯ®) вводят перорально один раз в сутки в дозе приблизительно 10 мг.

9. Способ по п.2, где второе липидоснижающее средство, отличное от статина, представляет собой средство, ингибирующее микросомальный белок переноса триглицеридов (МТТР).

10. Способ по п.9, где средство, ингибирующее МТТР, представляет собой ломитапид (ЮКСТАПИД®).

11. Способ по п.10, где ломитапид (ЮКСТАПИД®) вводят перорально один раз в сутки в дозе от приблизительно 5 мг до приблизительно 60 мг.

12. Способ по п.11, где ломитапид (ЮКСТАПИД®) вводят перорально один раз в сутки в дозе приблизительно 20 мг.

13. Способ по любому из пп. 1-12, где ингибитор ANGPTL3 представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с ANGPTL3.

14. Способ по п.13, где антитело против ANGPTL3 представляет собой эвинакумаб.

15. Способ по п.14, где эвинакумаб вводят до, во время или после лечения с использованием статина, эзетимиба или ломитапида.

16. Способ по п.14 или 15, где эвинакумаб вводят внутривенно в дозе, лежащей в диапазоне от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 20 мг/кг массы тела.

17. Способ по п.16, где эвинакумаб вводят внутривенно в дозе приблизительно 15 мг/кг массы тела.

18. Способ по п.14 и 15, где эвинакумаб вводят подкожно в дозе, лежащей в диапазоне от приблизительно 50 мг до приблизительно 750 мг.

19. Способ по п.18, где эвинакумаб вводят подкожно в дозе, лежащей в диапазоне от приблизительно 300 мг до приблизительно 450 мг.

20. Способ по любому из пп. 14-19, где эвинакумаб вводят каждую неделю, каждые две недели, каждые 3 недели, каждые 4 недели, каждые 2 месяца, каждые 3 месяца или каждые 4 месяца.

21. Способ улучшения одного или нескольких параметра(ов) липидов у пациента с диагнозом невосприимчивая гиперхолестеринемия, включающий введение одной или нескольких терапевтически эффективных доз ингибитора подобного ангиопоэтину белка 3 (ANGPTL3) в комбинации с одной или несколькими терапевтически эффективными дозами липидоснижающего средства, выбранного из группы, состоящей из статина, средства, ингибирующего абсорбцию холестерина, и средства, ингибирующего микросомальный белок переноса триглицеридов (МТТР), или их комбинации, где улучшение одного или нескольких параметра(ов) липидов представляет собой одно или несколько из следующего:

(a) уменьшение от исходного (неделя 0) уровня липопротеинов низкой плотности-С (LDL-C);

(b) уменьшение от исходного уровня аполипопротеина В (Аpo В);

(c) уменьшение от исходного уровня липопротеинов невысокой плотности-С (не-HDL-C);

(d) уменьшение от исходного уровня общего холестерина (общего-С); и/или

(e) уменьшение от исходного уровня триглицеридов (TG).

22. Способ по п.21, где улучшение одного или нескольких параметра(ов) липидов представляет собой одно или несколько из следующего:

(a) уменьшение от исходного (неделя 0) уровня липопротеинов низкой плотности-С (LDL-C) на $\geq 23\%$;

(b) уменьшение от исходного уровня аполипопротеина В (Аpo В) на $\geq$ приблизительно 20%;

(c) уменьшение от исходного уровня липопротеинов невысокой плотности-С (не-HDL-C) на $\geq 30\%$;

(d) уменьшение от исходного уровня общего холестерина (общего-С) на $\geq$ приблизительно 30%; и/или

(e) уменьшение от исходного уровня триглицеридов (TG) на $\geq 35\%$.

23. Способ по п.21 или 22, где ингибитор ANGPTL3 представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с ANGPTL3.

24. Способ по п.23, где антитело против ANGPTL3 представляет собой эвинакумаб.

25. Способ по п.24, где эвинакумаб вводят до, во время или после лечения с использованием статина, эзетимиба или ломитапида.

26. Способ по любому из пп. 21-25, где статин выбран из группы, состоящей из аторвастатина (ЛИПИТОР®), питевастатина (ЛИВАЛО®), ловастатина (МЕВАКОР®), симвастатина (ЗОКОР®), правастатина (ПРАВАХОЛ®), флувастатина (ЛЕСКОЛ®) и розувастатина (КРЕСТОР®).

27. Способ по п.26, где статин представляет собой розувастатин (КРЕСТОР®), вводимый перорально один раз в сутки в дозе от приблизительно 5 мг до приблизительно 40 мг.

28. Способ по п.26, где статин представляет собой аторвастатин (ЛИПИТОР®), вводимый перорально один раз в сутки в дозе от приблизительно 10 мг до приблизительно 80 мг.

29. Способ по п.21, где средство, ингибирующее абсорбцию холестерина, представляет собой эзетимиб (ЗЕТИЯ®).

30. Способ по п.29, где эзетимиб (ЗЕТИЯ®) вводят перорально один раз в сутки в дозе приблизительно 10 мг.

31. Способ по п.21, где средство, ингибирующее МТТР, представляет собой ломитапид (ЮКСТАПИД®).

32. Способ по п.30, где ломитапид (ЮКСТАПИД®) вводят перорально один раз в сутки в дозе от приблизительно 5 мг до приблизительно 60 мг.

33. Способ по п.31, где ломитапид (ЮКСТАПИД®) вводят перорально один раз в сутки в дозе приблизительно 20 мг.

34. Способ по п.24 или 25, где эвинакумаб вводят внутривенно в дозе, лежащей в диапазоне от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 20 мг/кг массы тела.

35. Способ по п.34, где эвинакумаб вводят внутривенно в дозе приблизительно 15 мг/кг массы тела.

36. Способ по п.24 и 25, где эвинакумаб вводят подкожно в дозе, лежащей в диапазоне от приблизительно 50 мг до приблизительно 750 мг.

37. Способ по п.36, где эвинакумаб вводят подкожно в дозе, лежащей в диапазоне от приблизительно 300 мг до приблизительно 450 мг.

38. Способ по любому из пп. 34-37, где эвинакумаб вводят каждую неделю, каждые две недели, каждые 3 недели, каждые 4 недели, каждые 2 месяца, каждые 3 месяца, или каждые 4 месяца.

39. Способ по п.13 или 23, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с ANGPTL3, содержат определяющие комплементарность области (CDR) варибельной области тяжелой цепи (HCVR), имеющей аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 1, и CDR варибельной области легкой цепи (LCVR) из SEQ ID NO: 5.

40. Способ по любому из пп. 13, 23, и 39, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с ANGTL3, содержат

CDR1 тяжелой цепи (HCDR1), имеющую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 2, HCDR2, имеющую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 3, HCDR3, имеющую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 4, CDR1 легкой цепи (LCDR1), имеющую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 6, LCDR2, имеющую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 7, и LCDR3, имеющую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 8.

41. Способ по любому из пп. 13, 23, 39 и 40, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с ANGPTL3, содержат HCVR, имеющую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 1 и LCVR, имеющую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 5.

42. Применение комбинации статина, одного липидоснижающего средства, отличного от статина, и ингибитора подобного ангиопоэтину белка 3 (ANGPTL3) в лечении пациента, страдающего невосприимчивой гиперхолестеринемией.

43. Применение комбинации статина, одного липидоснижающего средства, отличного от статина, и ингибитора подобного ангиопоэтину белка 3 (ANGPTL3) в изготовлении лекарственного средства для лечения пациента, страдающего невосприимчивой гиперхолестеринемией.

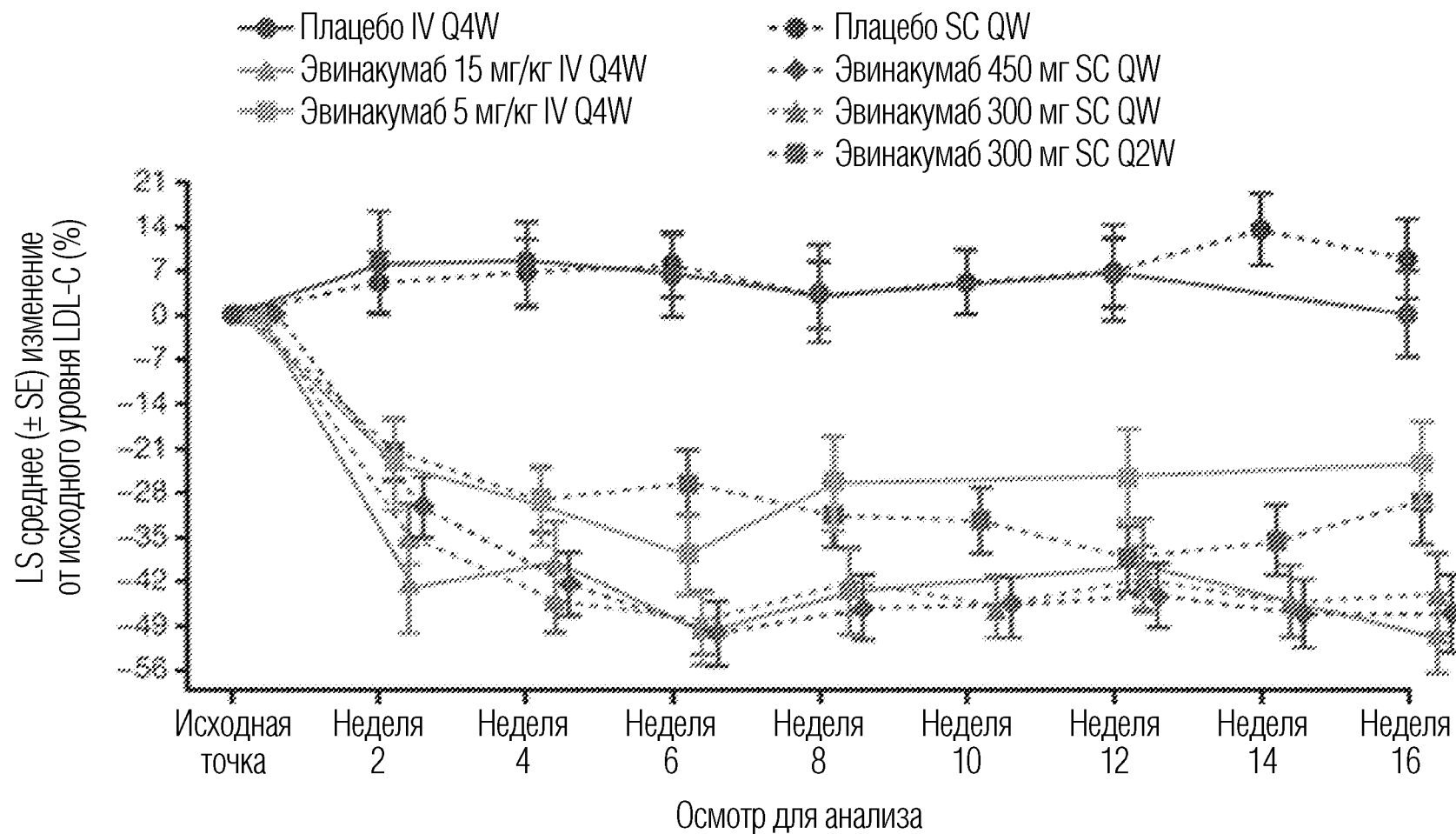
44. Фармацевтическая композиция для лечения пациента, страдающего невосприимчивой гиперхолестеринемией, где композиция содержит терапевтически эффективное количество комбинации статина, одного липидоснижающего средства, отличного от статина, и ингибитора подобного ангиопоэтину белка 3 (ANGPTL3).

45. Применение ингибитора подобного ангиопоэтину белка 3 (ANGPTL3) в комбинации с липидоснижающим средством, выбранным из группы, состоящей из статина, средства, ингибирующего абсорбцию холестерина, и средства, ингибирующего микросомальный белок переноса триглицеридов (МТТР), или их комбинации, в улучшении одного или нескольких параметра(ов) липидов у пациента с диагнозом невосприимчивая гиперхолестеринемия.

46. Применение ингибитора подобного ангиопоэтину белка 3 (ANGPTL3) в комбинации с липидоснижающим средством, выбранным из группы, состоящей из статина, средства, ингибирующего абсорбцию холестерина, и средства, ингибирующего микросомальный белок переноса триглицеридов (МТТР), или их комбинации, в изготовлении лекарственного средства для улучшения одного или нескольких параметра(ов) липидов у пациента с диагнозом невосприимчивая гиперхолестеринемия.

47. Фармацевтическая композиция для улучшения одного или нескольких параметра(ов) липидов у пациента с диагнозом невосприимчивая гиперхолестеринемия, где композиция содержит терапевтически эффективное количество ингибитора подобного ангиопоэтину белка 3 (ANGPTL3) в комбинации с липидоснижающим средством, выбранным из группы, состоящей из статина, средства, ингибирующего абсорбцию холестерина, и средства, ингибирующего микросомальный белок переноса триглицеридов (МТТР), или их комбинации.

Рассчитанный LS средний ($\pm$ SE) процент изменения от исходного уровня LDL-C с течением времени



ФИГ. 1