

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **042876**(13) **B1**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

**(45)** Дата публикации и выдачи патента  
**2023.03.30**

**(21)** Номер заявки  
**201892444**

**(22)** Дата подачи заявки  
**2017.04.27**

**(51)** Int. Cl. **A61K 39/395** (2006.01)  
**A61K 31/22** (2006.01)  
**A61K 31/40** (2006.01)  
**A61K 31/4468** (2006.01)  
**A61K 31/397** (2006.01)  
**A61P 9/10** (2006.01)

**(54) СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С СЕМЕЙНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИЕЙ**

**(31)** **62/328,823; 62/348,001; 62/451,310**

**(32)** **2016.04.28; 2016.06.09; 2017.01.27**

**(33)** **US**

**(43)** **2019.03.29**

**(86)** **PCT/US2017/029782**

**(87)** **WO 2017/189813 2017.11.02**

**(71)(73)** Заявитель и патентовладелец:  
**РИДЖЕНЕРОН  
ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК. (US)**

**(72)** Изобретатель:  
**Порди Роберт С., Сасьела Уилльям  
Дж., Швеммер-Джайп Дэниел А. (US)**

**(74)** Представитель:  
**Медведев В.Н. (RU)**

**(56)** WO-A1-2012174178  
Antibodies against ANGPTL3, alone or in combination with other agents, or mixture of other agents which include statins, and their use for treating hypercholesterolemia, including familial hypercholesterolemia and for improving other lipid parameters: see claims, paragraphs 1, and in particular the paragraphs 30, 97 and claim 28, disclosing combinations of antibodies against ANGPTL3 in combination with statins or fixed combinations of statins and other agents and see 34 "familial hypercholesterolemia", hypertriglyceridemia, LDL deficiency on par. 34

WO-A1-2015100394

US-A1-2013064834

Antibodies comprising the same CDR sequence N. 2 indicated in claim 38 (see sequence N.580) and another sequence nearly identical to sequence N.5 (see sequence ID.360) and the use of such antibodies for treating familial hypercholesterolemia, wherein the treatment involves optionally the concomitant administration of a statin in a

combination with another agent reducing cholesterol statins e.g. a simvastatin/ezetimibe, combination: see par.136, claims 1, 13-14, 15, examples 18, 19

GAUDET DANIEL ET AL.: "Safety and efficacy of evinacumab, a monoclonal antibody to ANGPTL3, in patients with homozygous familial hypercholesterolemia receiving concomitant lipid-lowering therapies", JOURNAL OF CLINICAL LIPIDOLOGY, vol. 10, no. 3, 17 May 2016 (2016-05-17), - 17 May 2016 (2016-05-17), page 715, XP029538107, ISSN: 1933-2874, DOI: 10.1016/J.JACL.2016.03.091 The ANGPTL3 antibody evinacumab, for treating familial hypercholesterolemia in patients subjected to other lipid lowering therapies including statin/ezetimibe or statin/ezetimibe/lomitapide: see abstract

YAN WANG ET AL.: "Inactivation of ANGPTL3 reduces hepatic VLDL-triglyceride secretion", JOURNAL OF LIPID RESEARCH, vol. 56, no. 7, 1 July 2015 (2015-07-01), pages 1296-1307, XP055385805, US ISSN: 0022-2275, DOI: 10.1194/jlr.M054882 Evinacumab (REGN 1500) reduced cholesterol and LDL levels in animals: see abstract, results and discussion

WO-A2-2011085271

WO-A2-2008073300

VIKTORIA GUSAROVA ET AL.: "ANGPTL3 blockade with a human monoclonal antibody reduces plasma lipids in dyslipidemic mice and monkeys", JOURNAL OF LIPID RESEARCH, vol. 56, no. 7, 29 July 2015 (2015-07-29), pages 1308-1317, XP55363055, US ISSN: 0022-2275, DOI: 10.1194/jlr.M054890 REGN1500 (Evinacumab), the preferred ANGPTL3 antibody of the present application reduces plasma lipids in dyslipidemic mouse and monkeys: see abstract, discussion and results

GAUDET DANIEL ET AL.: "Safety and Efficacy of Evinacumab, A Monoclonal Antibody to ANGPTL3, In Homozygous Familial Hypercholesterolemia", JOURNAL OF CLINICAL LIPIDOLOGY, vol. 11, no. 3, May 2017 (2017-05), - May 2017 (2017-05), pages 837-838, XP085021299, ISSN: 1933-2874, DOI: 10.1016/J.JACL.2017.04.106 The ANGPTL3 antibody evinacumab, for treating familial hypercholesterolemia in patients subjected to other lipid lowering therapies: see abstract

**(57)** Настоящее изобретение предусматривает способы лечения пациентов, страдающих семейной гиперхолестеринемией, в том числе и HeFH и HoFH. Способы по изобретению обеспечивают снижение по меньшей мере одного липидного параметра у пациента посредством введения терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связываются с ANGPTL3, в комбинации с терапевтически эффективным количеством статины, первого снижающего липиды средства, отличного от статинов, и второго снижающего липиды средства, отличного от статинов. Первое не статиновое снижающее липиды средство представляет собой средство, которое ингибирует захват холестерина (например,

**042876 B1**

**042876 B1**

эзетимиб), и второе не статиновое снижающее липиды средство представляет собой ингибитор микросомального белка-переносчика триглицеридов (например, ломитапид). Комбинированную терапию можно использовать при лечении гиперхолестеринемии, а также гиперлипидемии, гиперлипопротеинемии и дислипидемии, в том числе гипертриглицеридемии, хиломикронемии, и для предотвращения или лечения заболеваний или нарушений, для которых аномальный липидный метаболизм является фактором риска, таких как сердечно-сосудистые заболевания.

042876 B1

042876 B1

---

Данная заявка содержит список последовательностей, который подан в электронной форме в формате ASCII и включен, таким образом, посредством ссылки в полном объеме. Указанная ASCII копия, созданная 3 октября 2018 года, имеет название "Списки последовательностей.txt" и размер 8 КБ.

#### **Область изобретения**

Настоящее изобретение относится к области терапевтического лечения заболеваний и нарушений, которые связаны с повышенными уровнями липидов и липопротеинов. Более конкретно, изобретение относится к применению ингибитора ANGPTL3 с сопутствующей снижающей липиды терапией для того, чтобы лечить пациентов с семейной гиперхолестеринемией для того, чтобы достигать оптимальных уровней липидов и липопротеинов в сыворотке.

#### **Предпосылки**

Гиперлипидемия является общим термином, который охватывает заболевания и нарушения, отличающиеся или связанные с повышенными уровнями липидов и/или липопротеинов в крови. Гиперлипидемии включают гиперхолестеринемию, гипертриглицеридемию, комбинированную гиперлипидемию и повышенный липопротеин а (Lp(a)). Конкретной преобладающей формой гиперлипидемии во многих популяциях является гиперхолестеринемия.

Гиперхолестеринемия, в частности, повышение уровней холестерина (LDL-C) липопротеинов низкой плотности (LDL), составляет основной риск развития атеросклероза и коронарного заболевания сердца (CHD) (Sharrett et al., 2001, *Circulation* 104:1108-1113). Холестерин липопротеинов низкой плотности идентифицируют как основную мишень снижающей холестерин терапии и принимают в качестве валидной косвенной терапевтической конечной точки. Многие исследования показывают, что снижение уровней LDL-C снижает риск CHD при выраженной прямой зависимости между уровнями LDL-C и событиями CHD; при снижении LDL-C на каждый 1 ммоль/л (~40 мг/дл), смертность и распространенность болезни для сердечнососудистых заболеваний (CVD) снижается на 22%. Более выраженное снижение LDL-C вызывает более выраженное уменьшение событий, и сравнительные данные для интенсивного и стандартного лечения статинами показывают, что чем ниже уровень LDL-C, тем выше эффект у пациентов с очень высоким сердечнососудистым (CV) риском.

Семейная гиперхолестеринемия (FH) представляет собой наследственное нарушение липидного метаболизма, которое предрасполагает человека к преждевременному тяжелому сердечнососудистому заболеванию (CVD) (Kolansky et al., (2008), *Am J Cardiology*, 102(11):1438-1443). FH может быть аутосомно-доминантным или аутосомно-рецессивным заболеванием, которое является результатом мутаций в рецепторе липопротеинов низкой плотности (LDLR) или по меньшей мере в 3 различных генах, которые кодируют белки, участвующие в печеночном клиренсе LDL-C, которые могут вызывать FH. Примеры таких дефектов включают мутации в гене, кодирующем рецептор LDL (LDLR), который удаляет LDL-C из циркуляции, и в гене аполипопротеина (Apo) B, который является основным белком частицы LDL. Во всех случаях FH отличается накоплением LDL-C в плазме с рождения и последующим развитием сухожильных ксантом, ксантелазм, атером и CVD. FH можно классифицировать как гетерозиготную FH (heFH) или гомозиготную FH (hoFH) в зависимости от того, имеет ли индивидуум генетический дефект в одной (гетерозиготный) или обеих (гомозиготный) копиях участвующего гена.

Существующее снижающее LDL-C лекарственное лечение включает статины, ингибиторы абсорбции холестерина, фибраты, ниацин, секвестранты желчных кислот и ингибиторы пропротеинконвертазы субтилизин/кексин типа 9 (PCSK9). Статины представляют собой обычно назначаемое лечение для снижения LDL-C. Однако, несмотря на доступность такой снижающей липиды терапии, многие пациенты с высоким риском не способны достигать своего нормативного целевого уровня LDL-C (Gitt et al., 2010, *Clin Res Cardiol* 99(11):723-733). Пациентам, которые остаются неспособными достигать нормативного целевого уровня LDL-C, несмотря на доступную модифицирующую липиды терапию (LMT), иногда назначают механическое удаление LDL-C посредством афереза липопротеинов (например, афереза LDL).

Однако пациенты, которые не достигли цели по LDL-C, несмотря на прием оптимизированной схемы LMT, будут получать значительный эффект от альтернативной снижающей LDL-C терапии или через использование комбинации терапевтических средств, таких как средства и схемы, описанные в настоящем описании.

#### **Краткое изложение сущности изобретения**

В своем самом широком аспекте изобретение относится к способам лечения пациентов, которые страдают семейной гиперхолестеринемией, посредством введения ингибитора ANGPTL3 в комбинации с другой модифицирующей липиды терапией, чтобы достигать оптимальных уровней липидов и липопротеинов в сыворотке.

В одном из вариантов осуществления способ включает введение пациенту, страдающему семейной гиперхолестеринемией, терапевтически эффективного количества комбинации (a) статина; (b) одного снижающего липиды средства, отличного от статинов, и (c) ингибитора ANGPTL3.

В одном из вариантов осуществления пациенту вводят (a) статин; (b) одно снижающее липиды средство, отличное от статина; (c) ингибитор ANGPTL3 и (d) второе снижающее липиды средство, отличное от статина.

В одном из вариантов осуществления семейную гиперхолестеринемию выбирают из группы, со-

стоящей из гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии (HeFH) и гомозиготной семейной гиперхолестеринемии (HoFH).

В одном из вариантов осуществления статин выбирают из группы, состоящей из аторвастатина (LIPITOR®), питавастатина (LIVALO®), ловастатина (MEVACOR®), симвастатина (ZOCOR®), правастатина (PRAVACHOL®), флувастатина (LESCOL®) и розувастатина (CRESTOR®).

В одном из вариантов осуществления статин представляет собой розувастатин (CRESTOR®), который вводят перорально раз в сутки в дозе приблизительно от 5 мг приблизительно до 40 мг. В другом варианте осуществления статин представляет собой розувастатин (CRESTOR®), который вводят перорально раз в сутки в дозе 5-40 мг.

В одном из вариантов осуществления статин представляет собой аторвастатин (LIPITOR®), который вводят перорально раз в сутки в дозе приблизительно от 10 мг приблизительно до 80 мг. В другом варианте осуществления статин представляет собой аторвастатин (LIPITOR®), который вводят перорально раз в сутки в дозе 10-80 мг.

В одном из вариантов осуществления одно снижающее липиды средство, отличное от статина, представляет собой средство, которое ингибирует абсорбцию холестерина.

В одном из вариантов осуществления средство, которое ингибирует абсорбцию холестерина, представляет собой эзетимиб (ZETIA®).

В одном из вариантов осуществления эзетимиб (ZETIA®) вводят перорально раз в сутки в дозе приблизительно 10 мг. В другом варианте осуществления эзетимиб (ZETIA®) вводят перорально раз в сутки в дозе 10 мг.

В одном из вариантов осуществления второе снижающее липиды средство, отличное от статина, представляет собой средство, которое ингибирует микросомальный белок-переносчик триглицеридов (MTPP).

В одном из вариантов осуществления средство, которое ингибирует микросомальный белок-переносчик триглицеридов, представляет собой ломитапид (JUXTAPID®).

В одном из вариантов осуществления ломитапид (JUXTAPID®) вводят перорально раз в сутки в дозе приблизительно от 5 мг приблизительно до 60 мг. В другом варианте осуществления ломитапид (JUXTAPID®) вводят перорально раз в сутки в дозе 5-60 мг.

В одном из вариантов осуществления ломитапид (JUXTAPID®) вводят перорально раз в сутки в дозе приблизительно 20 мг. В другом варианте осуществления ломитапид (JUXTAPID®) вводят перорально раз в сутки в дозе 20 мг.

В одном из вариантов осуществления второе снижающее липиды средство, отличное от статина, представляет собой средство, которое ингибирует PCSK9. В одном из вариантов осуществления ингибитором PCSK9 является алирокумаб (PRALUENT®).

В одном из вариантов осуществления второе снижающее липиды средство, отличное от статина, представляет собой средство, которое снижает образование apoB-содержащих липопротеинов. В одном из вариантов осуществления средство, которое снижает образование apoB-содержащих липопротеинов, представляет собой мипомерсен.

Также предусмотрено, что дополнительными средствами, которые действуют для того, чтобы снизить липиды, можно замещать первое и второе снижающие липиды средства, описанные в настоящем описании, или их альтернативно можно комбинировать с первым и вторым снижающими липиды средствами, плюс эвинакумаб для того, чтобы достигать нормализации по меньшей мере одного липидного параметра, описанного в настоящем описании.

В определенных вариантах осуществления снижающую липиды терапию, описанную в настоящем описании, можно так комбинировать для применения в лечении пациентов, проходящих аферез, что нормализуют уровень одного или нескольких липидных параметров, описанных в настоящем описании.

В одном из вариантов осуществления ингибитор ANGPTL3 выбирают из группы, состоящей из низкомолекулярного ингибитора, нуклеиновой кислоты (например, миРНК) и антитела, которое специфически связывается с ANGPTL3.

В одном из вариантов осуществления антитело к ANGPTL3 представляет собой эвинакумаб.

В одном из вариантов осуществления эвинакумаб вводят до, во время или после лечения с применением статина, эзетимиба, ломитапида, мипомерсена, ингибитора PCSK9 или любого другого снижающего липиды средства, для которого установлена эффективность для достижения нормализации по меньшей мере одного липидного параметра, описанного в настоящем описании.

В одном из вариантов осуществления эвинакумаб вводят внутривенно в дозе в диапазоне от приблизительно от 1 мг/кг приблизительно до 20 мг/кг массы тела.

В одном из вариантов 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.

В одном из вариантов осуществления эвинакумаб вводят подкожно в дозе в диапазоне от приблизительно от 50 мг приблизительно до 750 мг.

В одном из вариантов осуществления эвинакумаб вводят подкожно в дозе в диапазоне от приблизительно 250 мг приблизительно до 450 мг.

В одном из вариантов осуществления эвинакумаб вводят каждую неделю, каждые две недели, каждые 3 недели, каждые 4 недели, каждые 2 месяца, каждые 3 месяца или каждые 4 месяца.

Во втором аспекте изобретение относится к способу усовершенствования одного или нескольких липидных параметров у пациента с диагнозом семейной гиперхолестеринемии, способ включает введение одной или нескольких терапевтически эффективных доз ингибитора ANGPTL3 в комбинации с одной или несколькими терапевтически эффективными дозами снижающего липиды средства, выбранного из группы, состоящей из статина, средства, которое ингибирует абсорбцию холестерина, средства, которое ингибирует микросомальный белок-переносчик триглицеридов (МТТР), или их сочетания, где усовершенствование одного или нескольких липидных параметров представляет собой одно или несколько из следующего:

(a) снижение холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) относительно базового уровня (неделя 0);

(b) снижение аполипопротеина В (Аро В) относительно базового уровня;

(c) снижение не высокого холестерина липопротеинов высокой плотности (не HDL-C) относительно базового уровня;

(d) снижение общего холестерина (общий С) относительно базового уровня;

(e) снижение липопротеина (а) (Lp(a) относительно базового уровня; и/или

(f) снижение триглицеридов (TG) относительно базового уровня.

В одном из вариантов осуществления семейную гиперхолестеринемия выбирают из группы, состоящей из гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии (HeFH) и гомозиготной семейной гиперхолестеринемии (HoFH).

В одном из вариантов осуществления ингибитор ANGPTL3 выбирают из группы, состоящей из низкомолекулярного ингибитора, нуклеиновой кислоты (например, миРНК) и антитела, которое специфически связывается с ANGPTL3.

В одном из вариантов осуществления антитело, которое специфически связывается с ANGPTL3, представляет собой эвинакумаб.

В одном из вариантов осуществления статин выбирают из группы, состоящей из аторвастатина (LIPITOR®), питавастатина (LIVALO®), ловастатина (MEVACOR®), симвастатина (ZOCOR®), правастатина (PRAVACHOL®) флувастатина (LESCOL®) и розувастатина (CRESTOR®).

В одном из вариантов осуществления статин представляет собой розувастатин (CRESTOR®), и его вводят перорально раз в сутки в дозе приблизительно от 5 мг приблизительно до 40 мг. В другом варианте осуществления статин представляет собой розувастатин (CRESTOR®), и его вводят перорально раз в сутки в дозе 5-40 мг.

В одном из вариантов осуществления статин представляет собой аторвастатин (LIPITOR®), и его вводят перорально раз в сутки в дозе приблизительно от 10 мг приблизительно до 80 мг. В другом варианте осуществления статин представляет собой аторвастатин (LIPITOR®), и его вводят перорально раз в сутки в дозе 10-80 мг.

В одном из вариантов осуществления средством, которое ингибирует абсорбцию холестерина, является эзетимиб (ZETIA®).

В одном из вариантов осуществления эзетимиб (ZETIA®) вводят перорально раз в сутки в дозе приблизительно 10 мг. В другом варианте осуществления эзетимиб (ZETIA®) вводят перорально раз в сутки в дозе 10 мг.

В одном из вариантов осуществления средством, которое ингибирует микросомальный белок-переносчик триглицеридов, является ломитапид (JUXTAPID®).

В одном из вариантов осуществления ломитапид (JUXTAPID®) вводят перорально раз в сутки в дозе приблизительно от 5 мг приблизительно до 60 мг. В другом варианте осуществления ломитапид (JUXTAPID®) вводят перорально раз в сутки в дозе 5-60 мг.

В одном из вариантов осуществления ломитапид (JUXTAPID®) вводят перорально раз в сутки в дозе приблизительно 20 мг. В другом варианте осуществления ломитапид (JUXTAPID®) вводят перорально раз в сутки в дозе 20 мг.

В одном из вариантов осуществления другие снижающие липиды средства можно комбинировать со средствами, отмеченными выше, чтобы достигать приемлемого уровня по меньшей мере одного из липидных параметров, описанных выше. Другие средства включают, но не ограничиваясь этим, ингибиторы PCSK9. В одном из вариантов осуществления ингибитор PCSK9 представляет собой антитело, которое специфически связывается с PCSK9. В одном из вариантов осуществления антителом, которое специфически связывается с PCSK9, является алирокумаб (PRALUENT®).

В одном из вариантов осуществления дополнительное снижающее липиды средство, которое можно комбинировать с терапией, описанной выше, включает средство, которое снижает образование ароВ-содержащих липопротеинов. В одном из вариантов осуществления средством, которое снижает образо-

вание ароВ-содержащих липопротеинов, является мипомерсен.

Также предусмотрено, что дополнительными средствами, которые действуют для того, чтобы снизить липиды, можно замещать первое и второе снижающие липиды средства, описанные в настоящем описании, или альтернативно их можно комбинировать с первым и вторым снижающими липиды средствами, плюс эвинакумаб для того, чтобы достигать нормальных уровней по меньшей мере одного липидного параметра, описанного в настоящем описании.

В определенных вариантах осуществления снижающую липиды терапию, описанную в настоящем описании, можно комбинировать для применения в лечении пациентов, проходящих аферез, цель состоит в снижении уровня по меньшей мере одного или нескольких липидных параметров, описанных выше, до приемлемого диапазона. В связанном варианте осуществления применение комбинации терапии, описанной в настоящем описании, может устранять необходимость афереза или может помогать увеличивать временной интервал между процедурами афереза.

В одном из вариантов осуществления лечение ведет к по меньшей мере 40% снижению по меньшей мере одного липидного параметра относительно базового уровня.

В одном из вариантов осуществления лечение ведет к по меньшей мере 75% снижению по меньшей мере одного липидного параметра относительно базового уровня.

В одном из вариантов осуществления лечение ведет к по меньшей мере 40% снижению уровня LDL-C относительно базового уровня.

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

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

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

В дополнительных аспектах изобретение относится к применению фармацевтических композиций, содержащих комбинацию статина, по меньшей мере одного снижающего липиды средства, отличного от статинов, и ингибитора ангиопоэтинподобного белка 3 (ANGPTL3) в лечении пациента, страдающего семейной гиперхолестеринемией. В других дополнительных аспектах изобретение относится к применению фармацевтических композиций, содержащих ингибитор ангиопоэтинподобного белка 3 (ANGPTL3) в комбинации со снижающим липиды средством, выбранным из группы, состоящей из статина, средства, которое ингибирует абсорбцию холестерина, и средства, которое ингибирует микросомальный белок-переносчик триглицеридов (МТТР), или их сочетания, в усовершенствовании одного или нескольких липидных параметров у пациента с диагнозом семейной гиперхолестеринемии.

Другие варианты осуществления настоящего изобретения станут видны при рассмотрении следующего подробного описания.

#### **Подробное описание**

В преддверии описания настоящего изобретения следует понимать, что это изобретение не ограничено конкретными описанными способами и экспериментальными условиями, поскольку такие способы и условия могут меняться. Также следует понимать, что терминология, используемая в настоящем описании, служит лишь цели описания конкретных вариантов осуществления и не предназначена в качестве ограничения, поскольку объем настоящего изобретения ограничен только приложенной формулой изобретения.

Пока не определено иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем описании, имеют то же значение, в каком их обычно понимает специалист в области, к которой относится это изобретение. Как используют в настоящем описании, термин "приблизительно", когда используют по отношению к конкретному изложенному числовому значению, обозначает, что значение может варьировать относительно изложенного значения не больше чем на 1%. Например, как используют в настоящем описании, выражение "приблизительно 100" включает 99 и 101 и все значения между (например, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4 и т.д.).

Несмотря на то, что любые способы и материалы, подобные или эквивалентные тем, что описаны в настоящем описании, можно использовать при практической реализации настоящего изобретения, предпочтительные способы и материалы описаны далее. Все публикации, указанные в настоящем описании, включены в настоящее описание посредством ссылки для того, чтобы описывать их в полном объеме.

## Способы лечения гиперлипидемий

Настоящее изобретение в целом относится к способам и композициям для снижения уровней липопротеинов у пациентов, страдающих семейной гиперхолестеринемией, посредством введения комбинации (a) статина; (b) первой снижающей липиды терапии, отличной от статина; и (c) ингибитора ANGPTL3. В определенных вариантах осуществления комбинация содержит второе снижающее липиды средство, отличное от статина. В определенных вариантах осуществления первое снижающее липиды средство, которое не является статином, представляет собой средство, которое ингибирует абсорбцию холестерина, такое как эзетимиб (ZETIA®). В определенных вариантах осуществления второе снижающее липиды средство, которое не является статином, представляет собой средство, которое ингибирует микросомальный белок-переносчик триглицеридов, такое как ломитапид (JUSTAPID®). В одном из вариантов осуществления ингибитор ANGPTL3 представляет собой антитело, которое специфически связывается с ANGPTL3, такое как эвинакумаб. В определенных вариантах осуществления лечение комбинацией ингибитора ANGPTL3 (например, эвинакумаб) с другой терапией, отмеченной выше (статины, эзетимиб и ломитапид), может служить для снижения уровней липопротеинов у этих пациентов до приемлемого диапазона, тем самым снижая их риск развития атеросклероза, инсульта и других сердечнососудистых заболеваний. В определенных вариантах осуществления описанные способы можно использовать для лечения пациентов, страдающих семейной гиперхолестеринемией, в том числе гетерозиготной семейной гиперхолестеринемией (HeFH) и/или гомозиготной семейной гиперхолестеринемией (HoFH). В определенных вариантах осуществления ингибитор PCSK9 также можно добавлять к комбинированной терапии, описанной выше, чтобы дополнительно снижать уровень по меньшей мере одного липидного параметра, описанного в настоящем описании. В связанном варианте осуществления комбинация терапий, описанных выше, также можно использовать у пациентов, которые проходят аферез для того, чтобы достигать нормализации по меньшей мере одного из описанных липидных параметров. Комбинация описанных терапий позволяет устранять необходимость афереза или может увеличивать временной интервал между необходимыми процедурами афереза. Комбинация описанных терапий, когда используют отдельно или в комбинации с аферезом, может служить для снижения риска развития атеросклероза и коронарного заболевания сердца (CHD) у этих пациентов.

Как используют в настоящем описании, термин "липопротеин" обозначает биомолекулярную частицу, содержащую белок и липид. Примеры липопротеинов включают, например, липопротеин низкой плотности (LDL), липопротеин высокой плотности (HDL), липопротеин очень низкой плотности (VLDL), липопротеин средней плотности (IDL) и липопротеин (a) (Lp(a)).

Настоящее изобретение, в соответствии с определенными вариантами осуществления, включает способы лечения пациентов, которые не отвечают, в недостаточной мере поддаются контролю или не переносят модифицирующую липиды терапию, отличную от того, что описано и включено в комбинацию, описанную в настоящем описании. Как используют в настоящем описании, конкретного пациента, который "не отвечает, в недостаточной мере поддается контролю или не переносит модифицирующую липиды терапию", определяет врач, ассистент врача, диагност или другой профессиональный медик на основании уровня одного или нескольких липопротеинов (например, LDL-C и/или не HDL-C), измеряемого или иным образом обнаруживаемого в сыворотке пациента после лечения модифицирующим липиды средством. Врач, ассистент врача, диагност или другой профессиональный медик также может определять, если пациент не переносит определенную модифицирующую липиды терапию, на основании профиля побочных эффектов модифицирующей липиды терапии, которые пациент может переносить, включая в качестве неограничивающих примеров мышечные боли, болезненность или слабость (миалгию), головную боль, покраснение кожи, проблемы со сном, спазмы в животе, метеоризм, диарею, констипацию, сыпь, тошноту или рвоту. Пациент, который не отвечает, в недостаточной мере поддается контролю или не переносит определенную модифицирующую липиды терапию, также может быть определен по другим факторам, таким как семейный анамнез пациента, медицинский фон, текущий статус терапевтического лечения, а также общепринятые или преобладающие липопротеиновые мишени, принятые национальными медицинскими ассоциациями и группами врачей, или находиться под их воздействием. Например, в определенном контексте, если пациент проходит терапию определенным модифицирующим липиды средством и демонстрирует уровень LDL-C больше чем или равный приблизительно 70 мг/дл, это указывает на то, что пациент "не отвечает или в недостаточной мере поддается контролю или не переносит эту модифицирующую липиды терапию" и может выиграть от лечения с применением терапии, описанной в настоящем описании. В другом контексте, если пациент проходит терапию определенным модифицирующим липиды средством и демонстрирует уровень LDL-C больше чем или равный приблизительно 100 мг/дл, это указывает на то, что пациент "не отвечает, в недостаточной мере поддается контролю или не переносит эту модифицирующую липиды терапию" и может выиграть от лечения с применением терапии, описанной в настоящем описании. В определенном контексте, если пациент проходит терапию определенным модифицирующим липиды средством и демонстрирует уровень LDL-C больше чем 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 "не отвечает, в недостаточной мере поддается контролю или не

переносит определенную модифицирующую липиды терапию" и может выиграть от лечения с применением терапии, описанной в настоящем описании. В другом контексте, то, отвечает ли конкретному процентному снижению уровня LDL-C или не HDL-C или нет, относительно уровня LDL-C или не HDL-C пациента в конкретной начальной точке ("базовый уровень"), можно использовать для того, чтобы определять, отвечает ли пациент на модифицирующую липиды терапию или нуждается ли этот пациент в дополнительном лечении с применением способов и средств по настоящему изобретению. Например, снижение LDL-C или не HDL-C меньше чем 50% (например, меньше чем 40%, меньше чем 35%, меньше чем 30%, меньше чем 25% и т.д.) относительно базового уровня может обозначать необходимость терапии с применением способов и средств по изобретению.

Настоящее изобретение, соответственно, включает способы лечения, включающие введение одной или нескольких доз ингибитора ANGPTL3 (например, эвинакумаба) и одной или нескольких доз комбинации статина, эзетимиба, ингибитора PCSK9, мипомерсена и/или ломитапида пациенту, который проходит модифицирующую липиды терапию других типов (например, секвестранты желчных кислот, ниацин, фенофибрат), но не отвечает на такую терапию или не переносит такую терапию, где, после приема одной или нескольких доз комбинированной терапии, описанной в настоящем описании, пациент способен достигать нормальных уровней общего холестерина, LDL-C или не HDL-C. В определенных случаях у пациента можно отменять другую модифицирующую липиды терапию или другую модифицирующую липиды терапию можно продолжать, но можно вводить в более низких дозах и можно применять в комбинации с ингибитором ANGPTL3 и статином плюс эзетимиб и ломитапид и необязательно, ингибитор PCSK9 и/или мипомерсен для того, чтобы достигать и/или поддерживать конкретный целевой уровень липопротеинов. Альтернативно, пациенту можно вводить другую модифицирующую липиды терапию в нормальной прописанной дозе, но частоту введения другой модифицирующей липиды терапии можно снижать, если другая модифицирующая липиды терапия подлежит введению в сочетании с комбинацией, описанной в настоящем описании. В некоторых случаях, необходимость лечения пациента другой модифицирующей липиды терапией для того, чтобы достигать и/или поддерживать конкретный целевой уровень липопротеинов, можно устранять совсем после введения одной или нескольких доз комбинированной терапии, описанной в настоящем описании.

В соответствии с определенными вариантами осуществления, настоящее изобретение включает способы снижения или устранения необходимости в определенной модифицирующей липиды терапии, где способы включают выбор пациента с гиперлипидемией (например, гиперхолестеринемией), которого лечили определенной модифицирующей липиды терапией 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 со средствами, описанными в настоящем описании (эзетимиб, ломитапид и статин), пациенту. Способы в соответствии с этим аспектом изобретения ведут к снижению уровня по меньшей мере одного липида или липопротеина в сыворотке пациента и, следовательно, делают возможным снижение или устранение необходимости лечения с применением другой модифицирующей липиды терапии, на которую пациент не отвечал (например, секвестрант желчных кислот, ниацин или фенофибрат) или к которой пациент демонстрировал непереносимость. Способы, описанные в настоящем описании, также можно применять у пациентов, проходящих аферез, и комбинация снижающих липиды средств, используемая у этой популяции пациентов, может вести к устранению необходимости афереза или может увеличивать временной интервал между процедурами афереза. Например, в определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, после введения одной или нескольких доз ингибитора ANGPTL3 в комбинации со статином, эзетимибом и/или ломитапидом, уровень LDL-C в сыворотке пациента снижают до меньше чем определенного уровня (например, меньше чем 100 мг/дл или меньше чем 70 мг/дл), или общий холестерин снижают до определенного уровня (например, меньше чем 200 мг/дл или меньше чем 150 мг/дл) или уровень LDL-C в сыворотке демонстрирует по меньшей мере 40% снижение по сравнению с базовыми уровнями перед лечением с применением комбинации, описанной в настоящем описании.

В соответствии с определенными вариантами осуществления, пациент, которого можно лечить способами по настоящему изобретению, имеет гиперхолестеринемия (например, концентрация LDL-C в сыворотке больше чем или равна 70 мг/дл (например, если пациент имеет сердечнососудистое событие в анамнезе) или концентрация LDL-C в сыворотке больше чем или равна 100 мг/дл (например, если пациент не имеет сердечнососудистого события в анамнезе)). В определенных вариантах осуществления гиперхолестеринемия пациента в недостаточной мере контролируют посредством определенной стандартной модифицирующей липиды терапии, такой как секвестранты желчных кислот, ниацин или фенофибраты. Настоящее изобретение также относится к способам снижения общего холестерина, LDL-C, не HDL-C, триглицеридов (TG), ApoB, ApoCIII и Lp(a) у пациента, который имеет семейную гиперхолестеринемия, в том числе HeFH и HoFH.

#### Пациенты, подходящие для лечения

Настоящее изобретение включает способы и композиции, пригодные для лечения пациентов, у которых диагностирован или идентифицирован риск развития состояния гиперхолестеринемии, например, такого как гетерозиготная семейная гиперхолестеринемия (HeFH) или гомозиготная семейная гиперхо-

лестеринемия (HoFH) в результате мутаций в рецепторе липопротеинов низкой плотности (LDLR), ауто-сомно-доминантная гиперхолестеринемия (ADH, например, ADH, связанная с одной или несколькими мутациями с приобретением функции в гене PCSK9), документированное присутствие гомозиготных или сочетанных гетерозиготных мутаций в гене Apo B, ауто-сомно-рецессивная гиперхолестеринемия (ARH, например, ARH, связанная с мутациями в LDLRAP1), а также заболеваемость гиперхолестеринемией, которая отличается от семейной гиперхолестеринемии (не FH). Пациент, который подходит для лечения с применением способов по изобретению, также может включать пациентов, которые проявляют мутации LDLR, которые попадают в любой из следующих классов: класс I: нулевые мутации рецептора, в соответствии с чем LDLR не синтезируется вовсе; класс II: аллели с дефектами транспорта, в соответствии с чем LDLR не транспортируется должным образом из эндоплазматического ретикулума в аппарат Гольджи для экспрессии на клеточной поверхности (класс IIa (отсутствие транспорта рецептора) и класс IIb (ослабленный транспорт рецептора)); класс III: аллели с дефектами связывания, в соответствии с чем LDLR должным образом не связывает LDL на клеточной поверхности по причине дефекта в аполипопротеине B100 (R3500Q) или в LDL-R; класс IV: аллели с дефектами интернализации, в соответствии с чем LDLR, связанный с LDL, должным образом не кластеризуется в окаймленных клатрином ямках для рецептор-опосредованного эндоцитоза; класс V: аллели с дефектами кругооборота, в соответствии с чем LDLR не возвращается на клеточную поверхность.

Диагностику семейной гиперхолестеринемии (например, heFH или hoFH) можно выполнять с помощью генотипирования и/или клинических критериев. Для пациентов, которых не генотипировали, клинический диагноз может быть основан на критериях Саймона Брума с применением критериев для точной FH или критериев WHO/Dutch Lipid Network с оценкой >8 очков.

В соответствии с определенными вариантами осуществления, пациент может подходить для лечения на основании наличия коронарного заболевания сердца (CHD) в анамнезе. Как используют в настоящем описании, "CHD в анамнезе" (или "CHD в документированном анамнезе") включает одно или несколько из: (i) острого инфаркта миокарда (MI); (ii) бессимптомного MI; (iii) нестабильной стенокардии; (iv) процедуры коронарной реваскуляризации (например, чрескожного коронарного вмешательства [PCI] или операции по шунтированию коронарных артерий [CABG]); и/или (v) клинически значимого CHD, диагностированного с помощью инвазивного или неинвазивного исследования (такого как коронарная ангиография, стрессовый тест с физической нагрузкой, стрессовая эхокардиография или радионуклидная визуализация).

В соответствии с определенными вариантами осуществления, пациент может подходить для лечения на основании наличия сердечно-сосудистого заболевания помимо коронарного заболевания сердца ("CVD помимо CHD"). Как используют в настоящем описании, "CVD помимо CHD" включает одно или несколько из: (i) документированного предыдущего ишемического инсульта с очаговой ишемической неврологической недостаточностью, сохраняющейся больше 24 часов, которую рассматривают в качестве имеющей атеротромботическое происхождение; (ii) заболевания периферических артерий; (iii) аневризмы абдоминальной аорты; (iv) атеросклеротического стеноза почечной артерии; и/или (v) заболевания сонной артерии (транзиторные ишемические атаки или обструкция сонной артерии >50%).

В соответствии с определенными вариантами осуществления, пациент может подходить для лечения на основании наличия одного или нескольких дополнительных факторов риска, например, таких как (i) документированная умеренная хроническая почечная недостаточность (CKD), которую определяют как  $30 \leq eGFR < 60$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> в течение 3 месяцев или больше; (ii) сахарный диабет 1-го типа или 2-го типа с поражением органов-мишеней или без него (например, ретинопатия, нефропатия, микроальбуминурия); (iii) вычисляемая оценка 10-летнего риска фатального CVD  $\geq 5\%$  (ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidemias, Conroy et al., 2003, Eur. Heart J. 24:987-1003).

В соответствии с определенными вариантами осуществления, пациент может подходить для лечения на основании наличия одного или нескольких дополнительных факторов риска, выбранных из группы, состоящей из возраста (например, старше 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 или 80 лет), расы, национального происхождения, пола (мужской или женский), привычки к физическим упражнениям (например, регулярные физические упражнения, не занимается), другие предшествующие медицинские состояния (например, диабет II типа, высокое кровяное давление и т.д.) и текущий лекарственный статус (например, в настоящее время прием  $\beta$ -блокаторов, ниацина, эзетимиба, фибратов, омега-3 жирных кислот, смол желчных кислот и т.д.).

В соответствии с определенными вариантами осуществления настоящего изобретения, субъект, которого можно лечить способами по изобретению, может демонстрировать повышенный уровень одного или нескольких воспалительных маркеров. Любой маркер системного воспаления можно использовать для целей настоящего изобретения. Подходящие воспалительные маркеры 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).

В соответствии с настоящим изобретением, пациенты могут подходить для лечения на основании комбинации из одного или нескольких вышеуказанных критериев или терапевтических характеристик.

Например, в соответствии с определенными вариантами осуществления, пациента, подходящего для лечения способами по настоящему изобретению, дополнительно можно выбирать на основании наличия HeFH или не FH в комбинации с: (i) документированным CHD в анамнезе, (ii) CVD помимо CHD и/или (iii) сахарным диабетом с поражением органов-мишеней; таких пациентов также можно выбирать на основании наличия концентрации LDL-C в сыворотке больше чем или равной 70 мг/дл.

В соответствии с определенными другими вариантами осуществления пациента, подходящего для лечения способами по настоящему изобретению, в дополнение к наличию гиперхолестеринемии, которая в недостаточной мере поддается контролю с помощью терапевтической схемы ежедневных умеренных доз статинов, дополнительно можно выбирать на основании наличия HeFH или не FH без CHD или CVD помимо CHD, но наличия или (i) вычисляемой оценки 10-летнего фатального риска  $CVD \geq 5\%$ ; или (ii) сахарного диабета без поражения органов-мишеней; таких пациентов также можно выбирать на основании наличия концентрации LDL-C в сыворотке больше чем или равной 100 мг/дл.

В соответствии с определенными вариантами осуществления настоящего изобретения, субъект, которого можно лечить способами по изобретению, представляет собой субъекта, который имеет синдром семейной хиломикронемии (FCS; также известный как дефицит липопротеинлипазы).

В соответствии с определенными вариантами осуществления настоящего изобретения, субъект, которого можно лечить способами по изобретению, представляет собой субъекта, который проходит или в последнее время проходил аферез липопротеинов (например, в последние 6 месяцев, в последние 12 недель, в последние 8 недель, в последние 6 недель, в последние 4 недели, в последние 2 недели и т.д.)•

Введение ингибитора ANGPTL3 в качестве дополнительной терапии

Настоящее изобретение включает способы лечения, в которых пациенту, который проходит или в последнее время проходил стандартную модифицирующую липиды терапию (например, статин), вводят ингибитор ANGPTL3 в соответствии с конкретными количеством и частотой дозирования, и в которых ингибитор ANGPTL3 вводят в качестве дополнения к предшествующей модифицирующей липиды терапии пациента (если применимо), такого как дополнение к предшествующей ежедневной терапевтической схеме пациента со статинами или другой схеме, например, с ниацином. Способы также включают применение ингибитора ANGPTL3 (например, эвинакумаба) в качестве дополнительной терапии с модифицирующей липиды терапией в дополнение к статинам, в том числе применение с эзетимибом и ломитапидом для того, чтобы достигать максимальных эффектов снижения липидов. Дополнительные снижающие липиды средства, подлежащие применению в способах по изобретению, включают ингибиторы PCSK9 или мипомерсен. Комбинацию средств также можно использовать у пациентов, проходящих аферез, чтобы достигать приемлемых уровней липидов.

Например, способы по настоящему изобретению включают дополнительные терапевтические схемы, в которых ингибитор ANGPTL3 вводят в качестве дополнительной терапии к той же стабильной ежедневной терапевтической схеме со статинами (т. е. то же количество дозирования статина), на которой пациент был перед приемом ингибитора ANGPTL3. В дополнение к терапии статином плюс антитело к ANGPTL3, добавление или эзетимиба отдельно или в комбинации с ломитапидом ведет к значительно более низким уровням липидов или липопротеинов в сыворотке, когда вводят комбинацию. В других вариантах осуществления ингибиторы ANGPTL3 вводят в качестве дополнительной терапии для терапевтической схемы со статинами, содержащей статин в количестве, которое больше или меньше дозы статина, на которой пациент был перед приемом ингибитора ANGPTL3, или комбинированной терапии, описанной в настоящем описании. Например, после начала терапевтической схемы, содержащей ингибитор ANGPTL3, вводимый при конкретных частотах и количествах дозирования, в дополнение к эзетимибу и ломитапиду, суточную дозу статина, вводимую или прописанную пациенту, можно (a) оставлять той же, (b) увеличивать или (c) уменьшать (например, титровать в сторону увеличения или уменьшения) в сравнении с суточной дозой статина, которую пациент принимал перед началом терапевтической схемы с ингибитором ANGPTL3, эзетимибом и/или ломитапидом, в зависимости от терапевтических нужд пациента.

#### Терапевтический эффект

Способы по настоящему изобретению могут вести к снижению сывороточных уровней 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 определенными вариантами осуществления настоящего изобретения, введение ингибитора ANGPTL3 в комбинации со статином, эзетимибом и/или ломитапидом подходящему субъекту ведет к среднему процентному снижению холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) сыворотки относительно базового уровня по меньшей мере приблизительно на 25%, 30%, 40%, 50%, 60% или более; среднему процентному снижению ApoB относительно базового уровня по меньшей мере приблизительно на 25%, 30%, 40%, 50%, 60% или более; среднему процентному снижению не HDL-C относительно базового уровня по меньшей мере приблизительно на 25%, 30%, 40%, 50%, 60% или более; среднему процентному снижению общего холестерина относительно базового уровня по меньшей мере приблизительно на 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35% или более; среднему процентному снижению VLDL-C относительно базового уровня по меньшей мере при-

близительно на 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30% или более; среднему процентному снижению триглицеридов относительно базового уровня по меньшей мере приблизительно на 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35% или более; и/или среднему процентному снижению Lp(a) относительно базового уровня по меньшей мере приблизительно на 5%, 10%, 15%, 20%, 25% или более.

#### Ингибиторы ANGPTL3

Способы по настоящему изобретению включают введение пациенту терапевтической композиции, содержащей ингибитор ANGPTL3 (например, антитело к ANGPTL3, такое как эвинакумаб) в комбинации со статином, ингибитором абсорбции холестерина (например, эзетимибом) и средством, которое ингибирует микросомальный белок-переносчик триглицеридов (например, ломитапидом).

Как используют в настоящем описании, "ингибитор ANGPTL3" представляет собой любое средство, которое связывается с 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 нуклеиновых кислот (например, миРНК или антисмысловых), пептидные молекулы, которые специфически взаимодействуют с ANGPTL3 (например, пептидные антитела), рецепторные молекулы, которые специфически взаимодействуют с ANGPTL3, ANGPTL3-связывающие каркасные молекулы (например, DARPin, белки с повторами HEAT, белки с повторами ARM, белки с тетраатрикопептидными повторами, каркасные конструкции на основе фибронектина и другие каркасы на основе белков со встречаемыми в природе повторами и т.д. [см., например, Voersma and Pluckthun, 2011, Curr. Opin. Biotechnol. 22:849-857, и цитируемые в них ссылки]), и аптамеры против ANGPTL3 или их части. В соответствии с определенными 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.

Термин "ангиопоэтинподобный белок-3 человека" или "ANGPTL3 человека" или "hANGPTL3", как используют в настоящем описании, относится к ANGPTL3, имеющему аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9 (см. также по номеру доступа NCBI NP 055310), или его биологически активному фрагменту.

Термин "антитело", как используют в настоящем описании, предназначен для обозначения иммуноглобулиновых молекул, содержащих четыре полипептидные цепи, две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, соединенные дисульфидными связями, а также их мультимеров (например, IgM). Каждая тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи (сокращенно обозначаемую 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 обозначаемую в настоящем описании как LCVR или VL) и константную область легкой цепи. Константная область легкой цепи содержит один домен (CL1). Области VH и VL дополнительно можно подразделять на области гипервариабельности, называемые определяющими комплементарность областями (CDR), которые чередуются с областями, которые более консервативны и которые называют каркасными областями (FR). Каждая VH и VL состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от аминоконца к карбоксиконцу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. В различных вариантах осуществления изобретения, FR антитела против ANGPTL3 (или его антигенсвязывающей части) может быть идентична последовательностям зародышевой линии человека или может быть естественно или искусственно модифицированной. Аминокислотную консенсусную последовательность можно определять на основании параллельного анализа двух или больше CDR.

Термин "антитело", как используют в настоящем описании, также включает антигенсвязывающие фрагменты целых антительных молекул. Термины "антигенсвязывающая часть" антитела, "антигенсвязывающий фрагмент" антитела и т. п., как используют в настоящем описании, включают любой встречаемый в природе, получаемый ферментативно, синтетический или генетически сконструированный полипептид или гликопротеин, который специфически связывает антиген с образованием комплекса. Антигенсвязывающие фрагменты антитела можно извлекать, например, из целых антительных молекул с применением любых подходящих стандартных способов, таких как протеолитическое расщепление или рекомбинантные способы генетической инженерии, включающие манипуляции и экспрессию ДНК, кодирующей переменные и необязательно константные домены антитела. Такая ДНК известна и/или легко доступна, например, в коммерческих источниках, библиотеках ДНК (включая, например, фаговые библиотеки антител), или ее можно синтезировать. ДНК можно секвенировать и манипулировать ею химически или с применением способов молекулярной биологии, например, чтобы располагать один или несколько переменных и/или константных доменов в подходящей конфигурации или вводить кодоны, создавать цистеиновые остатки, модифицировать, добавлять или удалять аминокислоты и т.д.

Неограничивающие примеры антигенсвязывающих фрагментов включают: (i) фрагменты Fab; (ii) фрагменты F(ab')<sub>2</sub>; (iii) фрагменты Fd; (iv) фрагменты Fv; (v) молекулы одноцепочечных Fv (scFv); (vi) фрагменты dAb; и (vii) минимальные распознающие единицы, состоящие из аминокислотных остатков, которые имитируют гипервариабельную область антитела (например, выделенная определяющая комплементарность область (CDR), такая как пептид CDR3) или ограниченный пептид FR3-CDR3-FR4. Дру-

гие сконструированные молекулы, такие как домен-специфические антитела, однодоменные антитела, антитела с удаленными доменами, химерные антитела, антитела с пересаженными CDR, диатела, триатела, тетратела, миниантитела, нанотела (например, одновалентные нанотела, двухвалентные нанотела и т.д.), малые модульные иммунофармацевтические средства (SMIP) и переменные домены IgNAR акулы, также охвачены выражением "антигенсвязывающий фрагмент", как используют в настоящем описании.

Антигенсвязывающий фрагмент антитела обычно содержит по меньшей мере один переменный домен. Переменный домен может быть любого размера или аминокислотного состава и в целом содержит по меньшей мере одну CDR, которая находится смежно или в рамке с одной или несколькими каркасными последовательностями. В антигенсвязывающих фрагментах, имеющих домен VH, связанный с доменом VL, домены VH и VL можно располагать друг относительно друга в любой подходящей компоновке. Например, переменная область может быть димерной и включать димеры VH-VH, VH-VL или VL-VL. Альтернативно, антигенсвязывающий фрагмент антитела может содержать мономерный домен VH или VL.

В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент антитела может содержать по меньшей мере один переменный домен, ковалентно связанный по меньшей мере с одним константным доменом. Неограничивающие образцовые конфигурации переменных и константных доменов, которые можно найти 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, в том числе любой из образцовых конфигураций, перечисленных выше, переменные и константные домены можно соединять непосредственно друг с другом или можно соединять с помощью целой или частичной шарнирной или линкерной области. Шарнирная область может состоять из по меньшей мере 2 (например, 5, 10, 15, 20, 40, 60 или больше) аминокислот, что дает гибкую или полугибкую связь между смежными переменными и/или константными доменами в одной полипептидной молекуле. Кроме того, антигенсвязывающий фрагмент антитела по настоящему изобретению может содержать гомодимер или гетеродимер (или другой мультимер) в любой из конфигураций переменных и константных доменов, перечисленных выше, в нековалентной связи друг с другом и/или с одним или несколькими мономерными доменами VH или VL (например, с помощью дисульфидной связи(ей)). Как и в случае целых молекул антител, антигенсвязывающие фрагменты могут быть моноспецифическими или полиспецифическими (например, биспецифическими). Полиспецифический антигенсвязывающий фрагмент антитела обычно содержит по меньшей мере два различных переменных домена, где каждый переменный домен способен специфически связываться с отдельным антигеном или с другим эпитопом на том же антигене. Любой формат полиспецифического антитела, в том числе образцовые форматы биспецифических антител, раскрытые в настоящем описании, можно адаптировать для использования в контексте антигенсвязывающего фрагмента антитела по настоящему изобретению, используя обычные способы, доступные в данной области.

Константная область антитела важна для способности антитела фиксировать комплемент и опосредовать клеточноопосредованную цитотоксичность. Таким образом, изотип антитела можно выбирать на основании того, желательна ли, чтобы антитело опосредовало цитотоксичность.

Термин "антитело человека", как используют в настоящем описании, предназначен включать антитела, имеющие переменные и константные области, полученные из последовательностей иммуноглобулина человека эмбрионального типа. Антитела человека по изобретению тем не менее могут содержать аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулинов человека эмбрионального типа (например, мутации, вводимые посредством случайного или сайт-специфического мутагенеза *in vitro* или посредством соматической мутации *in vivo*), например, в CDR и, в частности, CDR3. Однако, термин "антитело человека", как используют в настоящем описании, не предназначен включать антитела, в которые последовательности CDR, полученные из зародышевой линии других видов млекопитающих, таких как мышь, пересажены в каркасные последовательности человека. Термин включает антитела, получаемые рекомбинантно у млекопитающих, не относящихся к человеку, или в клетках млекопитающих, не относящихся к человеку. Термин не предназначен включать антитела, выделенные или созданные у человеческого субъекта.

Термин "рекомбинантное антитело человека", как используют в настоящем описании, предназначен включать все антитела человека, которые получают, экспрессируют, создают или выделяют с помощью рекомбинантных средств, такие как антитела, экспрессируемые с применением рекомбинантного экспрессирующего вектора, которым трансфицируют клетку-хозяина (дополнительно описано далее), антитела, выделенные из библиотеки рекомбинантных комбинаторных антител человека (дополнительно описано далее), антитела, выделенные у животного (например, мыши), которое является трансгенным по генам иммуноглобулина человека (см., например, Taylor et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295) или антитела, получаемые, экспрессируемые, создаваемые или выделяемые с помощью любых других средств, что включает сплайсинг последовательностей генов иммуноглобулинов человека с другими последовательностями ДНК. Такие рекомбинантные антитела человека имеют переменные и константные

области, получаемые из последовательностей иммуноглобулинов человека эмбрионального типа. Однако в определенных вариантах осуществления такие рекомбинантные антитела человека подвергают мутагенезу *in vitro* (или, когда используют животное, трансгенное по последовательностям Ig человека, соматическому мутагенезу *in vivo*), и, таким образом, аминокислотные последовательности областей VH и VL рекомбинантных антител представляют собой последовательности, которые, хотя и получены из последовательностей VH и VL зародышевой линии человека и родственны им, в природе могут не существовать в репертуаре антител зародышевой линии человека *in vivo*.

Антитела человека могут существовать в двух формах, которые связаны с гетерогенностью шарнира. В одной форме молекула иммуноглобулина содержит стабильную конструкцию из четырех цепей приблизительно в 150-160 кДа, в которой димеры удерживаются вместе с помощью дисульфидной связи между тяжелыми цепями. Во второй форме димеры не связаны межцепными дисульфидными связями, и происходит образование молекулы приблизительно в 75-80 кДа, состоящей из ковалентно связанных легкой и тяжелой цепей (полуантитело). Эти формы чрезвычайно сложно разделять, даже после аффинной очистки.

Частота возникновения второй формы в различных интактных изоформах IgG обусловлена, но не ограничиваясь этим, структурными различиями, связанными с изоформой шарнирной области антитела. Одна замена аминокислоты в шарнирной области шарнира IgG4 человека может значительно снижать возникновение второй формы (Angal et al. (1993) *Molecular Immunology* 30:105) до уровней, обычно наблюдаемых при использовании шарнира IgG1 человека. Настоящее изобретение охватывает антитела, имеющие одну или несколько мутаций в шарнирной области, CH2 или CH3, которые могут быть желательны, например, при получении, чтобы усовершенствовать выход желаемой формы антитела.

"Выделенное антитело", как используют в настоящем описании, обозначает антитело, которые идентифицировали и выделяли и/или извлекали из по меньшей мере одного компонента его природного окружения. Например, антитело, которое выделяли или удаляли из по меньшей мере одного компонента организма или из ткани или клетки, в которой антитело существует или образуется в природе, представляет собой "выделенное антитело" для целей настоящего изобретения. Выделенное антитело также включает антитело *in situ* в рекомбинантной клетке. Выделенные антитела представляют собой антитела, которые подвергали по меньшей мере одной стадии очистки или выделения. В соответствии с определенными вариантами осуществления, выделенное антитело может по существу не содержать другой клеточный материал и/или химические соединения.

Термин "специфически связывает" или тому подобное обозначает, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент образует комплекс с антигеном, который относительно стабилен при физиологических условиях. Способы определения того, специфически ли связывается антитело 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 используют в контексте настоящего изобретения, включает антитела, которые связывают ANGPTL3, или их часть с  $K_D$  приблизительно меньше чем 1000 нМ, приблизительно меньше чем 500 нМ, приблизительно меньше чем 300 нМ, приблизительно меньше чем 200 нМ, приблизительно меньше чем 100 нМ, приблизительно меньше чем 90 нМ, приблизительно меньше чем 80 нМ, приблизительно меньше чем 70 нМ, приблизительно меньше чем 60 нМ, приблизительно меньше чем 50 нМ, приблизительно меньше чем 40 нМ, приблизительно меньше чем 30 нМ, приблизительно меньше чем 20 нМ, приблизительно меньше чем 10 нМ, приблизительно меньше чем 5 нМ, приблизительно меньше чем 4 нМ, приблизительно меньше чем 3 нМ, приблизительно меньше чем 2 нМ, приблизительно меньше чем 1 нМ или приблизительно меньше чем 0,5 нМ, как измеряют в анализе поверхностного плазмонного резонанса. Однако выделенное антитело, которое специфически связывает ANGPTL3 человека, обладает перекрестной реактивностью с другими антигенами, такими как молекулы ANGPTL3 от других видов (не относящихся к человеку).

Антитела против ANGPTL3, пригодные для способов по настоящему изобретению, могут содержать одну или несколько замен, инсерций и/или делеций аминокислот в каркасных и/или CDR областях переменных доменов тяжелых и легких цепей по сравнению с соответствующими последовательностями зародышевой линии, из которых произошли антитела. Такие мутации можно легко определять посредством сравнения аминокислотных последовательностей, раскрытых в настоящем описании, с последовательностями зародышевой линии, доступными, например, в публичных базах данных последовательностей антител. Настоящее изобретение включает способы с применением антител и их антигенсвязывающих фрагментов, которые получают из любых аминокислотных последовательностей, раскрытых в настоящем описании, где одну или несколько аминокислот в одной или нескольких каркасных и/или CDR областях мутируют в соответствующий остаток(и) последовательности зародышевой линии, из которой произошло антитело, или в соответствующий остаток(и) другой последовательности зародышевой линии человека или в консервативную аминокислотную замену соответствующего остатка(ов) зародышевой линии (такие изменения последовательности обозначают как в настоящем описании в совокупности как "генеративные мутации"). Специалист в данной области, начиная с последовательностей переменных областей тяжелой и легкой цепи, раскрытых в настоящем описании, может легко получать множество антител и антигенсвязывающих фрагментов, которые содержат одну или несколько индивиду-

альных генеративных мутаций или их сочетаний. В определенных вариантах осуществления все остатки каркаса и/или CDR в доменах VH и/или VL мутируют обратно в остатки, встречающиеся в исходной последовательности зародышевой линии, из которой произошло антитело. В других вариантах осуществления только определенные остатки мутируют обратно в исходную последовательность зародышевой линии, например, только мутантные остатки, найденные в пределах первых 8 аминокислот FR1 или в пределах последних 8 аминокислот FR4, или только мутантные остатки, найденные в пределах CDR1, CDR2 или CDR3. В других вариантах осуществления один или несколько остатков каркаса и/или CDR мутируют в соответствующий остаток(ки) другой последовательности зародышевой линии (т. е. последовательности зародышевой линии, которая отличается от последовательности зародышевой линии, из которой антитело исходно произошло). Кроме того, антитела по настоящему изобретению могут содержать любую комбинацию из двух или больше генеративных мутаций в каркасных и/или CDR областях, например, где определенные индивидуальные остатки мутируют в соответствующий остаток конкретной последовательности зародышевой линии, тогда как определенные другие остатки, которые отличаются от исходной последовательности зародышевой линии, сохраняют или мутируют в соответствующий остаток другой последовательности зародышевой линии. Когда получены, антитела и антигенсвязывающие фрагменты, которые содержат одну или несколько генеративных мутаций, можно легко тестировать на одно или несколько желаемых свойств, таких как усовершенствованная специфичность связывания, увеличенная аффинность связывания, усовершенствованные или усиленные антагонистические или агонистические биологические свойства (в зависимости от случая), сниженная иммуногенность и т.д. Использование антител и антигенсвязывающих фрагментов, полученных этим общим образом, включено в настоящее изобретение.

Настоящее изобретение также относится к способам с применением антител против ANGPTL3, содержащих варианты любых из аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, раскрытых в настоящем описании, которые имеют одну или несколько консервативных замен. Например, настоящее изобретение включает использование антител против ANGPTL3, имеющих аминокислотные последовательности HCVR, LCVR и/или CDR, например, с 10 или меньше, 8 или меньше, 6 или меньше, 4 или меньше и т.д. консервативными аминокислотными заменами относительно любых из аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, раскрытых в настоящем описании.

Термин "поверхностный плазмонный резонанс", как используют в настоящем описании, относится к оптическому феномену, который делает возможным анализ взаимодействий в реальном времени посредством обнаружения изменений концентраций белка в матрице биологического датчика, например, с применением системы BiAcore™ (Biacore Life Sciences division of GE Healthcare, Piscataway, NJ).

Термин "K<sub>D</sub>", как используют в настоящем описании, предназначен для обозначения равновесной константы диссоциации для конкретного взаимодействия антитело-антиген.

Термин "эпитоп" относится к антигенной детерминанте, которая взаимодействует с конкретным антигенсвязывающим участком в варибельной области молекулы антитела, известной как паратом. Один антиген может иметь больше чем один эпитоп. Таким образом, различные антитела могут связываться с различными участками на антигене и могут вызывать различные биологические эффекты. Эпитопы могут быть конформационными или линейными. Конформационный эпитоп получают посредством пространственного сближения аминокислот из различных сегментов линейной полипептидной цепи. Линейный эпитоп представляет собой тот, который образуют смежные аминокислотные остатки в полипептидной цепи. В определенных обстоятельствах эпитоп может содержать фрагменты сахаридов, фосфорильные группы или сульфонильные группы на антигене.

В соответствии с определенными вариантами осуществления, антитела против ANGPTL3, используемые в способах по настоящему изобретению, представляют собой антитела с характеристиками pH-зависимого связывания. Как используют в настоящем описании, выражение "pH-зависимое связывание" обозначает, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент демонстрирует "сниженное связывание с ANGPTL3 при кислом pH по сравнению с нейтральным pH" (для целей настоящего раскрытия оба выражения можно использовать взаимозаменяемо). Например, антитела "с характеристиками pH-зависимого связывания" включают антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, которые связываются с ANGPTL3 с более высокой аффинностью при нейтральном pH, чем при кислом pH. В определенных вариантах осуществления антитела и антигенсвязывающие фрагменты по настоящему изобретению связывают ANGPTL3 с аффинностью, которая 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 или более раз выше при нейтральном pH, чем при кислом pH.

В соответствии с этим аспектом изобретения, антитела против ANGPTL3 с характеристиками pH-зависимого связывания могут иметь одну или несколько аминокислотных вариаций относительно родительского антитела против ANGPTL3. Например, антитело против ANGPTL3 с характеристиками pH-зависимого связывания может содержать одну или несколько гистидиновых замен или инсерций, например, в одной или нескольких CDR родительского антитела против ANGPTL3. Таким образом, в соответствии с определенными вариантами осуществления настоящего изобретения, предоставлены способы, которые включают введение антитела против ANGPTL3, которое содержит аминокислотные последовательности CDR (например, CDR тяжелых и легких цепей), которые идентичны аминокислотным после-

довательностям CDR родительского антитела к ANGPTL3, за исключением замены одной или нескольких аминокислот в одной или нескольких CDR родительского антитела остатком гистидина. Антитела против ANGPTL3 с pH-зависимым связыванием могут иметь, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или больше гистидиновых замен, или в одной CDR родительского антитела или распределенные на всем протяжении нескольких (например, 2, 3, 4, 5 или 6) CDR родительского антитела против ANGPTL3. Например, настоящее изобретение включает использование антител против ANGPTL3 с pH-зависимым 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 родительского антитела против ANGPTL3.

Как используют в настоящем описании, выражение "кислый pH" обозначает pH 6,0 или меньше (например, приблизительно меньше чем 6,0, приблизительно меньше чем 5,5, приблизительно меньше чем 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 меньше. Как используют в настоящем описании, выражение "нейтральный pH" обозначает pH приблизительно от 7,0 приблизительно до 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.

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

#### Получение антител человека

Антитела против ANGPTL3 можно создавать в соответствии с любым способом получения/выделения антител, известным в данной области. Например, антитела для использования в способах по настоящему изобретению можно создавать с помощью гибридных технологий, фагового дисплея, дрожжевого дисплея и т.д. Антитела для использования в способах по настоящему изобретению могут представлять собой, например, химерные антитела, гуманизированные антитела или полностью антитела человека.

Способы создания антител человека у трансгенных мышей известны в данной области. Любые такие известные способы использовать в контексте настоящего изобретения для создания антител человека, которые специфически связывают ANGPTL3.

Например, используя технологию VELOCIMMUNE™ (см., например, US 6596541, Regeneron Pharmaceuticals) или любой другой известный способ создания моноклональных антител, изначально выделяют высокоаффинные химерные антитела к ANGPTL3, имеющие переменную область человека и константную область мыши. Технология VELOCIMMUNE® включает создание трансгенной мыши, имеющей геном, содержащий переменные области тяжелой и легкой цепей человека, функционально связанные с эндогенными локусами константных областей мыши так, что мышь продуцирует антитело, содержащее переменную область человека и константную область мыши в ответ на антигенную стимуляцию. ДНК, кодирующую переменные области тяжелых и легких цепей антитела, выделяют и функционально связывают с ДНК, кодирующей константные области тяжелых и легких цепей человека. Затем ДНК экспрессируют в клетке, способной экспрессировать полностью антитело человека.

В целом, мышь VELOCIMMUNE® стимулируют антигеном, представляющим интерес, и получают лимфатические клетки (такие как В-клетки) у мышей, которые экспрессируют антитела. Лимфатические клетки можно сливать с линией миеломных клеток для того, чтобы получать бессмертные гибридные клеточные линии, и осуществляют скрининг и отбор таких гибридных клеточных линий для того, чтобы идентифицировать гибридные клеточные линии, которые продуцируют антитела со специфичностью к антигену, представляющему интерес. ДНК, кодирующую переменные области тяжелой цепи и легкой цепи, можно выделять и соединять с желательными изотипическими константными областями тяжелой цепи и легкой цепи. Такой антительный белок можно получать в клетке, такой как клетка СНО. Альтернативно, ДНК, кодирующую антиген-специфические химерные антитела или переменные домены легких и тяжелых цепей, можно выделять непосредственно из антигенспецифических лимфоцитов.

Изначально выделяют высокоаффинные химерные антитела, имеющие переменную область человека и константную область мыши. Определяют характеристики антител и проводят отбор по желательным характеристикам, в том числе аффинности, избирательности, эпитопу и т.д., используя стандартные процедуры, известные специалистам в данной области. Константные области мыши заменяют на желаемую константную область человека для того, чтобы создавать полностью антитело человека по изобретению, например, дикого типа или модифицированный IgG1 или IgG4. Хотя отобранную константную область можно варьировать в соответствии с конкретным применением, характеристики высокоаффинного связывания антигена и специфичности к мишени сохраняют в переменной области.

В целом, антитела, которые можно использовать в способах по настоящему изобретению, обладают высокой аффинностью, как описано выше, при измерении посредством связывания с антигеном или иммобилизованным на твердой фазе или в растворенной фазе. Константные области мыши заменяют на желаемые константные области человека, чтобы создавать полностью антитела человека по изобретению.

Хотя выбранную константную область можно менять в соответствии с конкретным применением, характеристики высокоаффинного связывания антигена и специфичности к мишени сохраняют в варибельной области.

Конкретные примеры антител человека или антигенсвязывающих фрагментов антител, специфически связывающие 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 пары аминокислотных последовательностей варибельных областей тяжелой и легкой цепи (HCVR/LCVR), содержащих SEQ ID NO: № 1/5.

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

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

#### Фармацевтические композиции и способы введения

Настоящее изобретение включает способы, которые включают введение ингибитора ANGPTL3 пациенту в комбинации со статином, ингибитором абсорбции холестерина и ингибитором микросомального белка-переносчика триглицеридов, где ингибитор ANGPTL3 и дополнительные средства входят в одну и ту же или в различные фармацевтические композиции. Фармацевтические композиции по изобретению формулируют с применением подходящих носителей, эксципиентов и других средств, которые обеспечивают подходящие перенос, доставку, переносимость и т. п. Множество подходящих составов можно найти в фармакологическом справочнике, известном всем фармацевтическим химикам: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA. Эти составы включают, например, порошки, пасты, мази, желе, воски, масла, липиды, везикулы, содержащие липиды (катионные или анионные) (такие как LIPOFECTIN™), конъюгаты ДНК, безводные абсорбционные пасты, эмульсии "масло-в-воде" и "вода-в-масле", эмульсии Carbowax (полиэтиленгликоли различных молекулярных масс), полутвердые гели и полутвердые смеси, содержащие Carbowax. См. также Powell et al. "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311.

Образцовые фармацевтические составы, содержащие антитела против ANGPTL3, которые можно использовать в контексте настоящего изобретения, включают любые из составов, как изложено в US 8795669 (где описаны, *inter alia*, образцовые составы, содержащие алирокумаб) или в WO 2013/166448 или WO 2012/168491.

Известны различные системы доставки, которые можно использовать для введения фармацевтической композиции по изобретению, например, инкапсуляция в липосомы, микрочастицы, микрокапсулы, рекомбинантные клетки, способные экспрессировать мутантные вирусы, рецептор-опосредованный эндцитоз (см., например, Wu et al., 1987, J. Biol. Chem. 262:4429-4432). Способы введения включают, но не ограничиваясь этим, внутрикожный, внутримышечный, интраперитонеальный, внутривенный, подкожный, интраназальный, эпидуральный и оральный пути. Композицию можно вводить с помощью любого удобного пути, например, посредством инфузии или болюсной инъекции, посредством абсорбции через эпителиальные или кожно-слизистые выстилки (например, слизистая рта, слизистая прямой кишки и кишечника и т.д.), и можно вводить вместе с другими биологически активными средствами.

Фармацевтическую композицию по настоящему изобретению можно доставлять подкожно или внутривенно с применением стандартной иглы и шприца. Кроме того, в отношении подкожной доставки, устройство доставки в виде ручки явно имеет применение к доставке фармацевтической композиции по настоящему изобретению. Такое устройство доставки в виде ручки может быть повторно используемым или одноразовым. В повторно используемом устройстве доставки в виде ручки обычно используют заменяемый картридж, который содержит фармацевтическую композицию. Когда вся фармацевтическая композиция в картридже введена и картридж пуст, пустой картридж можно легко выбрасывать и заменять на новый картридж, который содержит фармацевтическую композицию. Затем устройство доставки в виде ручки можно использовать повторно. В одноразовом устройстве доставки в виде ручки нет заменяемого картриджа. Наоборот, одноразовое устройство доставки в виде ручки поступает предварительно заполненным фармацевтической композицией, содержащейся в резервуаре внутри устройства. Когда фармацевтическая композиция в резервуаре кончилась, все устройство выбрасывают.

Многие повторно используемые устройства доставки в виде ручки и автоинъектора имеют применения в подкожной доставке фармацевтической композиции по настоящему изобретению. Примеры включают, но не ограничиваясь этим, AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK), ручку DISETRONIC™ (Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Switzerland), ручку HUMALOG MIX 75/25™, ручку HUMALOG™, 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), ручку BD™ (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™ и OPTICLIK™ (Sanofi-Aventis, Frankfurt, Germany), помимо прочих. Примеры одноразового устройства доставки в виде ручки, имеющего применения в подкожной доставке фармацевтической композиции по настоящему изобретению, включают, но не ограничиваясь этим, ручку SOLOSTAR™ (Sanofi-Aventis), FLEXPEN™ (Novo Nordisk) и KWIKPEN™ (Eli Lilly), автоинъектор SURECLICK™ (Amgen, Thousand Oaks, CA), PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Germany), EPIPEN (Dey, L.P.) и ручку HUMIRA™ (Abbott Labs, Abbott Park IL), среди прочих.

В определенных ситуациях фармацевтическую композицию можно доставлять в системе контролируемого высвобождения. В одном из вариантов 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 (ред.), 1974, CRC Pres., Boca Raton, Florida. В еще одном другом варианте осуществления систему контролируемого высвобождения можно помещать вблизи от мишени композиции, что, таким образом, требует только доли от системной дозы (см., например, Goodson, 1984, в Medical Applications of Controlled Release, выше, том 2, стр. 115-138). Другие системы контролируемого высвобождения рассмотрены в обзоре Langer, 1990, Science 249:1527-1533.

Инъецируемые препараты могут включать дозированные формы для внутривенных, подкожных, внутрикожных и внутримышечных инъекций, капельных инфузий и т.д. Эти инъецируемые препараты можно получать известными способами. Например, инъецируемые препараты можно получать, например, посредством растворения, суспендирования или эмульгирования антитела или его соли, описанных выше, в стерильной водной среде или масляной среде, стандартно используемых для инъекции. В качестве водной среды для инъекций существуют, например, физиологический солевой раствор, изотонический раствор, содержащий глюкозу и другие вспомогательные средства, и т.д., которые можно использовать в комбинации с подходящим солюбилизирующим средством, таким как спирт (например, этанол), многоатомный спирт (например, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль), неионное поверхностно-активное средство (например, полисорбат 80, HCO-50 (аддукт полиоксиэтилена (50 моль) и гидрогенизированного касторового масла)) и т.д. В качестве масляной среды используют, например, сезамовое масло, соевое масло и т.д., которые можно использовать в комбинации с солюбилизирующим средством, таким как бензилбензоат, бензиловый спирт и т.д. Инъекцией, полученной таким образом, предпочтительно заполняют подходящую ампулу.

Благоприятно, фармацевтические композиции для орального или парентерального использования, описанные выше, получают в дозированных формах со стандартной дозой, приспособленных совпадать с дозой активных ингредиентов. Такие дозированные формы в стандартной дозе включают, например, таблетки, пилюли, капсулы, инъекции (ампулы), суппозитории и т.д.

#### Доза

Количество ингибитора ANGPTL3 (например, антитела против ANGPTL3), вводимое субъекту в соответствии со способами по настоящему изобретению, в целом представляет собой терапевтически эффективное количество. Как используют в настоящем описании, фраза "терапевтически эффективное количество ингибитора ANGPTL3" обозначает дозу ингибитора ANGPTL3, которая, при введении в комбинации со статином, эзетимибом и ломитапидом, ведет к поддающемуся обнаружению снижению (по меньшей мере приблизительно на 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75% или больше относительно базового уровня) 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 снижает или устраняет у пациента потребность в других терапевтических средствах или вмешательствах, например, таких как аферез липопротеинов.

Количество ингибитора ANGPTL3 (например, антитела против ANGPTL3), вводимое субъекту в соответствии со способами по настоящему изобретению, в целом представляет собой терапевтически эффективное количество. Как используют в настоящем описании, фраза "терапевтически эффективное количество ингибитора ANGPTL3" обозначает, что доза ингибитора ANGPTL3, в комбинации с терапевтическими средствами, описанными в настоящем описании, ведет к поддающемуся обнаружению снижению (по меньшей мере приблизительно на 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75% или больше от базового уровня) 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).

В случае антитела против ANGPTL3, терапевтически эффективное количество может составлять приблизительно от 0,05 мг приблизительно до 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 количества дозирования ингибиторов ANGPTL3 будут видны специалистам в данной области и предусмотрены в объеме настоящего изобретения.

Количество антитела против ANGPTL3, содержащегося в индивидуальных дозах, можно выражать в единицах миллиграммов антитела на килограмм массы организма пациента (т. е. мг/кг). Например, антитело против ANGPTL3 можно вводить пациенту в дозе приблизительно от 0,0001 приблизительно до 20 мг/кг массы организма пациента.

#### Комбинированная терапия

Способы по настоящему изобретению также могут включать введение ингибитора ANGPTL3 в комбинации со статином, эзетимибом и ломитапидом пациенту, который не отвечает, в недостаточной мере поддается контролю или не переносит другую стандартную снижающую липиды терапию. В определенных вариантах осуществления потребность в дополнительном введении стандартной снижающей липиды терапии можно устранять совсем. В определенных вариантах осуществления комбинированное использование ингибитора ANGPTL3 с другими средствами, описанными в настоящем описании, можно использовать в комбинации с ("поверх") предварительно прописанной пациенту снижающей липиды терапией. Например, в контексте снижения по меньшей мере одного липидного/липопротеинового параметра у пациента, страдающего гиперлипидемией (например, гиперхолестеринемией), где пациент не отвечает на, в недостаточной мере поддается контролю и ли не переносит стандартную снижающую липиды терапию, комбинацию ингибитора ANGPTL3 с эзетимибом и ломитапидом можно вводить пациенту в комбинации со стабильной ежедневной терапевтической схемой со статинами. Образцовые ежедневные терапевтические схемы со статинами, 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), церивастатин (0,4 или 0,8 мг ежедневно), питавастатин (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 сочетания. Другая модифицирующая липиды терапия, в комбинации с которой можно вводить ингибитор ANGPTL3 в контексте настоящего изобретения, включает, например, (1) средство, которое увеличивает катаболизм липопротеинов (такое как ниацин); и/или (2) активаторы фактора транскрипции LXR, который играет роль в элиминировании холестерина, такого как 22-гидроксихолестерин.

Неограничивающий пример антитела к ANGPTL3, подлежащего использованию в контексте настоящего изобретения, включает эвинакумаб.

#### Схемы введения

В соответствии с определенными вариантами осуществления настоящего изобретения, несколько доз ингибитора ANGPTL3 (т. е. фармацевтическую композицию, содержащую ингибитор ANGPTL3) можно вводить субъекту в течение определенного периода времени (например, поверх ежедневной терапевтической схемы со статинами или другой фоновой модифицирующей липиды терапии), в дополнение к введению эзетимиба и ломитапида. Способы в соответствии с этим аспектом изобретения включают последовательное введение субъекту нескольких доз ингибитора ANGPTL3. Как используют в настоящем описании, "последовательное введение" обозначает, что каждую дозу ингибитора ANGPTL3 вводят субъекту в отличающийся момент времени, например, в различные сутки, разделенные предварительно определяемым интервалом (например, часы, сутки, недели или месяцы). Настоящее изобретение включает способы, которые включают последовательное введение пациенту одной начальной дозы ингибитора ANGPTL3, после чего следует одна или несколько вторичных доз ингибитора ANGPTL3 и после этого необязательно следует одна или несколько третичных доз ингибитора ANGPTL3.

Термины "начальная доза", "вторичные дозы" и "третичные дозы" относятся ко временной последовательности введения индивидуальных доз фармацевтической композиции, содержащей ингибитор ANGPTL3. Таким образом, "начальная доза" представляет собой дозу, которую вводят в начале схемы лечения (также обозначают как "базовая доза"); "вторичные дозы" представляют собой дозы, которые вводят после начальной дозы; и "третичные дозы" представляют собой дозы, которые вводят после вторичных доз. Начальная, вторичные и третичные дозы могут содержать одно и то же количество ингибитора ANGPTL3, но в целом могут отличаться друг от друга в отношении частоты введения. Однако в

определенных вариантах осуществления количество ингибитора ANGPTL3, содержащегося в начальной, вторичных и/или третичных дозах, варьирует друг относительно друга (например, корректируют вверх или вниз в зависимости от ситуации) во время курса лечения. В определенных вариантах осуществления две или больше (например, 2, 3, 4 или 5) доз вводят в начале схемы лечения в качестве "загрузочных доз", после чего следуют последующие дозы, которые вводят на менее частой основе (например, "поддерживающие дозы").

В соответствии с образцовыми вариантами осуществления настоящего изобретения, каждую вторичную и/или третичную дозу вводят через 1-26 (например, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5, 10, 10,5, 11, 11,5, 12, 12,5, 13, 13,5, 14, 14,5, 15, 15,5, 16, 16,5, 17, 17,5, 18, 18,5, 19, 19,5, 20, 20,5, 21, 21,5, 22, 22,5, 23, 23,5, 24, 24,5, 25, 25,5, 26, 26,5 или больше) недель после непосредственно предшествующей дозы. Фраза "непосредственно предшествующая доза", как используют в настоящем описании, обозначает, в последовательности из нескольких введений, дозу антигенсвязывающей молекулы, которую вводят пациенту перед введением ближайшей следующей дозы в последовательности, без промежуточных доз.

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

В вариантах осуществления с применением нескольких вторичных доз каждую вторичную дозу можно вводить с той же частотой, что и другие вторичные дозы. Например, каждую вторичную дозу можно вводить пациенту через от 1 до 2, 4, 6, 8 или больше недель после непосредственно предшествующей дозы. Аналогичным образом, в вариантах осуществления с применением нескольких третичных доз каждую третичную дозу можно вводить с той же частотой, что и другие третичные дозы. Например, каждую третичную дозу можно вводить пациенту через от 1 до 2, 4, 6, 8 или больше недель после непосредственно предшествующей дозы. Альтернативно, частота, с которой вторичные и/или третичные дозы вводят пациенту, может варьировать в ходе схемы лечения. Частоту введения также может корректировать врач во время хода лечения в зависимости от потребностей индивидуального пациента, после клинического осмотра. Аналогичным образом, дозы сопутствующей терапии, например, статина, эзетимиба и ломитапида, может корректировать врач во время хода лечения в соответствии с нормализацией уровней липидов, наблюдаемых во время хода лечения.

### Примеры

Следующие примеры приведены с тем, чтобы предоставить средним специалистам в данной области полное раскрытие и описание того, как создавать и использовать способы и композиции по изобретению, и они не предназначены для ограничения объема того, что авторы изобретения рассматривают в качестве своего изобретения. Предприняты попытки для обеспечения точности в отношении используемых чисел (например, количеств, температуры и т.д.), но следует учитывать некоторые экспериментальные ошибки и отклонения. Если не указано иное, части представляют собой массовые части, молекулярная масса представляет собой усредненную молекулярную массу, температура приведена в градусах Цельсия и давление равно атмосферному или близко к нему.

Пример 1. Создание антител человека к ANGPTL3 человека.

Образцовое антитело к ANGPTL3, используемое в следующем примере, представляет собой антитело человека против ANGPTL3, известное как "эвинакумаб". Эвинакумаб имеет следующие характеристики аминокислотной последовательности: переменная область тяжелой цепи (HCVR) содержит SEQ ID NO: 1 и переменный домен легкой цепи (LCVR) содержит SEQ ID NO: 5; определяющая комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1) содержит SEQ ID NO: 2, HCDR2 содержит SEQ ID NO: 3, HCDR3 содержит SEQ ID NO: 4, определяющая комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1) содержит SEQ ID NO: 6, LCDR2 содержит SEQ ID NO: 7 и LCDR3 содержит SEQ ID NO: 8.

Пример 2. Безопасность и эффект эвинакумаба, моноклонального антитела к ANGPTL3, у пациентов с гомозиготной семейной гиперхолестеринемией, получающих сопутствующую снижающую липиды терапию.

Гомозиготная семейная гиперхолестеринемия (HoFH) включает тяжелую генетическую недостаточность пути рецептора липопротеинов низкой плотности (LDL), которая ведет к катастрофически повышенному LDL-холестерину (LDL-C) и тяжелому преждевременному атеросклерозу; ответ на статины и антитела к PCSK9 ограничен. Доклинические исследования и генетический анализ человека подсказывают, что ингибирование ангиопоэтинподобного белка (ANGPTL3) снижает LDL-C и обеспечивает пользу для сердечнососудистой системы, независимо от рецептора LDL. Эвинакумаб, антитело человека к ANGPTL3, вводили девяти взрослым с HoFH (три нулевых гомозиготы) уже на максимально переносимой стандартной терапии. LDL-C снижался на 49% (диапазон от -25% до -90%) в неделю 4 (первичная конечная точка). Общее среднее пиковое снижение LDL-C составляло  $-58 \pm 18\%$  (от -90% до -33%) между

неделями 4 и 12, что показывает, что ингибирование ANGPTL3 с помощью эвинакумаба по существу снижает LDL-C у пациентов с HoFH.

Липопротеины низкой плотности (LDL) играют важную роль в инициации и прогрессировании атеросклероза и риске сердечнососудистого заболевания. Семейная гиперхолестеринемия (FH) обычно представляет собой нарушение, возникающее через мутации в генах, кодирующих белки, которые регулируют клиренс LDL. Они включают гены для рецептора липопротеинов низкой плотности (LDLR), апо-липопротеина В (АПОВ), пропротеинконвертазы субтилизин/кексин 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 без лечения обычно имеют уровни LDL-холестерина (LDL-C) в плазме в диапазоне от 350 до 550 мг на дл и в целом отвечают на снижающую липиды терапию, включая от умеренных до высоких доз высоко активных статинов, эзетимиба и антител к 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) является редким заболеванием, которое поражает 1 из 160000-300000 человек. Пациенты с HoFH несут две мутации, вызывающих FH (гомозиготные или сочетанные гетерозиготные), без лечения имеют значительно более высокие уровни LDL-C, в целом в диапазоне от 500 до 1000 мг на дл (Kolansky, et al. 2008 The American journal of Cardiology 102:1438-43), и значительно меньше отвечают или не отвечают на стандартную снижающую липиды терапию. У большинства индивидуумов с HoFH развивается тяжелый ксантоматоз, коронарное заболевание сердца и периферический атеросклероз в раннем возрасте, а гибель может наступать раньше возраста в 30 лет при отсутствии лечения (Nordestgaard, et al. 2013 Eur Heart J 34:3478-90a).

Генетическая и фенотипическая гетерогенность при HoFH может переходить в широкую вариабельность манифестаций сердечнососудистых заболеваний и ответов на снижающую липиды терапию. Некоторые мутации, вызывающие FH, ведут к дефектным рецепторам LDL с остаточной активностью, тогда как другие не имеют активности и, следовательно, не отвечают на стандартные лекарственные средства, снижающие липиды, такие как статины и антитела к PCSK9, которые преимущественно нацелены на процесс экспрессии рецептора LDL (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, в последнее время получили одобрение для лечения HoFH, но их использование может быть затруднено проблемами с переносимостью и безопасностью.

Ангиопоэтинподобный белок 3 (ANGPTL3) представляет собой секретируемый белок, экспрессируемый в печени. Он действует на увеличение в плазме уровней триглицеридов, LDL-C и холестерина липопротеинов высокой плотности (HDL-C), ингибируя активность липопротеинлипазы и эндотелиальной липазы или модулируя клиренс липопротеинов, богатых триглицеридами, выше относительно образования LDL (Wang, et al. 2015 J Lipid Res 56:1296-307; Musunuru, et al. 2010 N Engl J Med 363:2220-7). Доклинические исследования показывают, что нокаут ANGPTL3 или блокада с помощью антитела может снизить триглицериды и LDL-C независимо от LDL-R и дает эффект в моделях атеросклероза (Ando, et al. 2003 J Lipid Res 44:1216-23; Dewey, et al. 2017 New Engl J Med; в печати). В соответствии с этим, крупномасштабные генетические исследования у мужчин показывают, что мутации ANGPTL3 с потерей функции ведут к сниженным в плазме уровням триглицеридов, LDL-C и HDL-C (Robciuc, et al. 2013 Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology 33:1706-13; Pisciotto, 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 USA 112:11630-5; Noto, et al. 2012 Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology 32:805-9; Martin-Campos, et al. 2012 Clinica chimica acta; международный журнал клинической химии 413:552-5), и даже более важно, что эти липидные изменения, связанные с мутациями ANGPTL3, также связаны с защитой от сердечнососудистого заболевания (Stitzel, et al. 2017 Journal of the American College of Cardiology). В целом, доклинические исследования, а также генетический анализ человека показывают, что ANGPTL3-ингибирующая терапия может снижать LDL-C и обеспечивать эффект у пациентов с FH, в том числе тех, которые страдают тяжелым гомозиготным заболеванием, эвинакумаб представляет собой моноклональное антитело полностью человека, которое специфически блокирует ANGPTL3 (Gusarova, et al. 2015 J Lipid Res 56:1308-17). Нормальные здоровые добровольцы хорошо переносят эвинакумаб и снижали три основные липидные фракции. Проводили 2 фазу исследования для того, чтобы определять, снижал ли эвинакумаб уровни LDL-C у девяти пациентов с генетически и фенотипически подтвержденной HoFH, в том числе у пациентов, гомозиготных по нулевым мутациям с полностью отсутствующей активностью LDLR.

#### Способы

Пациенты: девять пациентов (5 мужчин, 4 женщины) отбирали на основании их генотипов и фенотипов. У всех в анамнезе LDL-C >500 мг на дл или >400 мг на дл после портокавального шунта, преждевременный атеросклероз (у 8 из 9 предшествующие сердечнососудистые события в анамнезе) и тяжелый ксантоматоз, и все являлись гомозиготами или сочетанными гетерозиготами по известным мутациям LDLR, вызывающим FH (Hobbs, et al. 1992 Hum Mutat 1:445-66). Три пациента являлись нулевыми гомозиготами. Все пациенты были на максимальной переносимой снижающей липиды терапии.

Исследуемое лечение: пациенты должны были сохранять свою обычную фоновую снижающую ли-

пиды терапию и диету и режимы нагрузок на всем протяжении исследования. Все пациенты получали одну немаскированную дозу эвинакумаба 250 мг подкожно в абдоминальную область во время базового визита и одну внутривенную дозу эвинакумаба 15 мг на кг через 2 недели. Стерильный лиофилизированный лекарственный продукт эвинакумаб поставляли в 5 мл стеклянном флаконе одноразового использования для восстановления до концентрации 100 мг на мл для подкожных доз и 50 мг на мл для внутривенных доз. Пациентов наблюдали в течение периода вплоть до 24 недель после внутривенной дозы для того, чтобы сделать возможным вымывание эвинакумаба, и предлагали им участие в расширенном исследовании.

Фармакодинамическая оценка: образцы крови натошак брали перед введением исследуемого лекарственного средства, при базовом уровне и через регулярные интервалы во время периода немаскированного лечения и периода последующей оценки безопасности, для измерения 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 процентное изменение среднего±стандартное отклонение (SD) в LDL-C от базового уровня до недели 4.

#### Результаты

Даже несмотря на то, что большинство пациентов были на максимально переносимой терапии, базовое среднее±SD для LDL-C составляло 376,0±240,9 миллиграммов на децилитр (мг/дл); один пациент, который потерпел неудачу при терапии статинами и которого удаляли с еженедельного афереза, имел базовый уровень LDL-C 756 мг/дл. Все девять пациентов сообщали о возникновении по меньшей мере одного нежелательного явления, но ни одно не приводило к прекращению лечения. Одно событие (болезнь коронарных артерий из-за основного заболевания) было серьезным, но его не сочли связанным с исследуемым лекарственным лечением. Шесть событий считали связанными с исследуемым лекарственным лечением, два из которых представляли собой реакции в местах инъекций легкой степени тяжести, одон представляло собой миалгию умеренной степени тяжести и одно представляло собой эпистаксис высокой степени тяжести.

Ответ на лекарственное средство: процентное изменение среднего±SD для LDL-C от базового уровня до недели 4 (ранее определенная первичная конечная точка) после введения эвинакумаба составляло -49±23% (диапазон: от -90% до -25%), при абсолютном изменении относительно базового уровня 157±90 (диапазон: от -323 до -71) мг на дл (табл. 1, далее). Достигнутое значение среднего±SD для LDL-C в неделю 4 составляло 219±191 мг на дл. За тот же период процентное изменение аполипопротеина В падало на 46±18% (табл. 2, далее), не HDL-C на 49±22% (табл. 3, далее), триглицеридов на 47% (медиана, межквартильный размах от -57% до -38%) и HDL-C на 36±16%. Общее пиковое снижение среднего±SD в LDL-C, возникавшее между неделями 4 и 12, составляло -58±18% (диапазон от -90% до -33%), при абсолютном пиковом снижении LDL-C 202 мг/дл. В неделю 4 (через 2 недели после внутривенной дозы), один пациент достигал снижения LDL-C больше 80%. У 3 нулевых гомозиготных пациентов пиковое снижение среднего±SD для LDL-C до недели 12 составляло -48±13% (диапазон от -60% до -33%).

Таблица 1

Эффект ингибирования AngPTL3, оказываемый на концентрации LDL-C в плазме	
LDL-C	
Визит	Среднее процентное изменение относительно базового уровня ± SE (%)
ВЛ (неделя 0)	0
Сутки 4	-12,8 ± 3,7
Неделя 1	-24 ± 7,0
Неделя 2	-30,2 ± 8,1
Неделя 3	-41,4 ± 8,3
Неделя 4	-49,2 ± 7,7
Неделя 5	-46,8 ± 5,1
Неделя 6	-52,1 ± 4,9
Неделя 8	-51,6 ± 6,0
Неделя 10	-45,6 ± 4,6
Неделя 12	-36,6 ± 6,4

Таблица 2

Эффект ингибирования AngPTL3, оказываемый на концентрации аполипопротеина В

Аполипопротеин В	
Визит	Средне процентное изменение относительно базового уровня $\pm$ SE (%)
ВЛ (неделя 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, оказываемый на концентрации не HDL-C

не HDL-C	
Визит	Среднее процентное изменение относительно базового уровня $\pm$ SE (%)
ВЛ (неделя 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

Введение моноклонального ANGPTL3-блокирующего антитела полностью человек эвинакумаб девяти взрослым с HoFH, в том числе трем нулевым гомозиготам, вело к значимому снижению LDL-C. Важно, что это снижение происходило поверх базовых уровней, уже достигнутых на стабильной максимально переносимой снижающей липиды терапии с применением или без использования ломитапида, моноклональных антител к PCSK9 или портокавального шунта. Эти результаты обеспечивают проверку концепции существенного дополнительного снижения LDL-C с помощью эвинакумаба, поверх стандартного лечения, при лечении HoFH, с потенциалом к нормализации LDL-C у некоторых пациентов, имеющих чрезвычайно высокие уровни LDL-C. Эвинакумаб, который давали в виде 250 мг подкожной инъекции при базовом уровне и в виде внутривенной инфузии 15 мг/кг в неделю 2, переносили хорошо. В первом исследовании у человека на здоровых добровольцах-людях, о котором сообщали в последнее время, также показано, что эвинакумаб снижает LDL-C и также хорошо переносится у большего числа пациентов (Dewey, et al. 2017 New Engl J Med; в печати). Все девять пациентов, в том числе три гомозиготных нулевых пациента, лишённые активности LDLR, демонстрировали клинически значимое снижение LDL-C относительно базового уровня. Вместе с недавними доклиническими исследованиями и генетическим анализом человека, результаты показывают, что ингибирование Angptl3 позволяет не только снижать LDL-C и триглицериды, но также обеспечивать защиту от сердечнососудистого заболевания. Эти исследования дают реальную надежду на хорошо переносимое и эффективное лечение для пациентов, страдающих тяжелой семейной гиперхолестеринемией. На основании холестерина анализа Cholesterol Treat-

ment Trialists' Collaboration (CTTC) (Cholesterol Treatment Trialists (CTT) Collaboration 2010 Lancet 376:1670-81), абсолютное снижение LDL-C 39 мг/дл соответствует 22% снижению относительного риска за 4-5 лет лечения статинами; недавние данные об исходах с применением антитела к PCSK9 подтверждают схожее снижение риска на единицу снижения LDL-C, с учетом более короткой длительности лечения (Sabatine, et al. 2017 N Engl J Med 3-17-2017, электронная публикация; в печати). Вместе с генетическими данными о защитных эффектах мутаций ANGPTL3, оказываемых на сердечнососудистый риск (Stitzel, et al. 2017 Journal of the American College of Cardiology 69(16):2054-2063), абсолютное снижение 150-200 мг/дл, которого достигали с применением эвинакумаба у пациентов с HoFH, может иметь беспрецедентную пользу для этих пациентов с очень высоким риском.

В настоящее время проходят исследования механизма, который вел к такому выраженному снижению LDL-C. Эвинакумаб ослабляет нормальное ингибирование, с помощью ANGPTL3, как липопротеинлипазы (основного регулятора триглицеридов), так и эндотелиальной липазы (регулятора HDL-C (Shimamura, et al. 2007 Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology 27:366-72); таким образом, происходит снижение и триглицеридов и HDL-C с помощью эвинакумаба. Текущие результаты, в комбинации с результатами недавнего исследования in vivo (Wang, et al. 2015 J Lipid Res 56:1296-307), показывают, что эффекты эвинакумаба, оказываемые на LDL-C, используют комбинацию канонических и неканонических механизмов, действующих выше относительно образования частиц LDL. В мышинной модели инактивация ANGPTL3 с применением эвинакумаба не влияет на число VLDL, секретируемых печенью, но качественно изменяет образуемые частицы VLDL. После секреции, VLDL быстро подвергаются гидролизу с образованием бедных триглицеридами остатков VLDL в следствие индуцированной эвинакумабом повышающей регуляции липопротеинлипазы, которая может увеличивать их клиренс через рецепторы, отличные от рецепторов LDL. В отношении умеренного снижения, которое наблюдали для HDL-C, обширный предыдущий генетический анализ с влечением эндотелиальной липазы (Voight, et al. 2012 Lancet 380:572-80), а также недавние генетические открытия в отношении ANGPTL3 защиты (Dewey 2017, Stitzel 2017) соответствуют возникающему мнению о том, что уровни HDL-C не оказывают непосредственного влияния на сердечнососудистый риск (Ko, et al. 2016 Journal of the American College of Cardiology 68:2073-83). Пациенты С и G параллельно получали ломитапид ингибитор микросомального белка-переносчика триглицеридов - во время исследования. Эти пациенты демонстрировали 90% и 44% снижение LDL-C, соответственно, через 2 недели после внутривенного введения эвинакумаба, что рождает предположение о мультипликативном синергизме между ломитапидом (который влияет на образование VLDL) и эвинакумабом (который влияет на характеристики секретируемых VLDL). Однако пациент D не получал ломитапид и демонстрировал 77% снижение LDL-C в неделю 4.

Результаты, приведенные в настоящем описании, обеспечивают проверку концепции о том, что ингибирование ANGPTL3 эвинакумабом ведет к существенному дополнительному снижению LDL-C у пациентов с HoFH на стабильной снижающей липиды терапии, в том числе тех, кто имеют мутации нуль/нуль. Дополнительная терапия эвинакумабом делала возможной нормализацию концентраций LDL-C у четырех участников с HoFH в этом исследовании. Например, пациент С, женщина в возрасте 47 лет, имела значения LDL-C выше 800 мг на дл в возрасте 26 лет. Ее липидный профиль постепенно усовершенствовались (достигая от 150 до 170 мг на дл) при последовательном включении высоких доз статинов, эзетимиба и ломитапида. LDL-C достигал 15 мг на дл в неделю 4, через 2 недели после внутривенного введения эвинакумаба.

Пример 3. Ингибирование ANGPTL3 эвинакумабом снижало триглицериды (TG) и LDL-C у субъектов, демонстрирующих умеренное повышение TG и/или LDL-C.

Повышение LDL-C и TG связано с повышенным риском CHD. Недавние открытия продемонстрировали центральную роль ангиопоэтинподобного - 3 (ANGPTL3) в липидном метаболизме. Утрата функции (LoF) ANGPTL3 у человека связана со снижением TG, LDL-C и HDL-C. Эвинакумаб представляет собой моноклональное антитело человека со специфичностью к ANGPTL3, которое разработано для лечения дислипидемии, в том числе гипертриглицеридемии и гиперхолестеринемии.

Способы: данное исследование составляло фазу 1 впервые проводимого у человека, с повышением однократной дозы, контролируемого плацебо (PBO), двойного слепого исследование эвинакумаба, который вводили подкожно (SC) или внутривенно (IV) субъектам с повышением TG ( $150 \leq TG \leq 450$  мг/дл) и/или LDL-C ( $\geq 100$  мг/дл). В исследовании рандомизировали восемьдесят три субъекта (9 в PBO SC; 12 в PBO IV; 11 в 75 мг SC; 12 в 150 мг SC, 9 в 250 мг SC, 10 в 5 мг/кг IV, 9 в 10 мг/кг IV и 11 в 20 мг/кг IV).

Результаты: показано, что в этом исследовании эвинакумаб переносили хорошо. Сорок один (41) субъект сообщал о по меньшей мере одном нежелательном явлении, появившимся при лечении (TEAE):  $32[\pm 51,6\%]$  в группе эвинакумаба против  $9[\pm 42,9\%]$  в группе PBO. Ни одного серьезного, и ни один субъект не прерывал из-за TEAE. Наиболее частыми TEAE были головная боль (7 [11,3%] против 0 [0%]) и увеличение ALT/AST [ $>2X$  ULN] (5 субъектов с лечением против 1 субъекта с PBO). В отношении безопасности отсутствовала тенденция, связанная с дозой. Максимальное снижение TG наблюдали в сутки 4, с медианой % изменения относительно базового уровня от -1,0% до -75,0% для доз эвинакумаба и +25,3% для PBO. Среднее % изменение LDL-C относительно базового уровня в сутки 11 составляло от -

3,4% до -25,5% для доз эвинакумаба и +10,2 для PBO. Длительность снижения TG и LDL зависела от дозы и длилась до 64 и 43 суток, соответственно, после IV введения эвинакумаба 20 мг/кг. Также наблюдали дозозависимое снижение HDL-C, VLDL-C, общего холестерина, не HDL-C, ApoA1 и ApoB, но явные эффекты, оказываемые на Lp(a), отсутствовали.

Введение эвинакумаба здоровым субъектам с умеренно повышенными TG и/или LDL-C в целом переносили хорошо. Кроме того, эвинакумаб индуцировал быстрое и существенное снижение TG, а также снижение LDL-C и HDL-C, обобщая наблюдаемую гиполиппротеинемию у индивидуумов, гомозиготных по LOF мутациям ANGPTL3.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения пациента, страдающего семейной гиперхолестеринемией, при этом способ включает введение пациенту терапевтически эффективного количества комбинации (a) статина; (b) по меньшей мере одного снижающего липиды средства, отличного от статина, где по меньшей мере одно снижающее липиды средство, отличное от статина, представляет собой средство, которое ингибирует абсорбцию холестерина; и (c) ингибитора ангиопоэтинподобного белка 3 (ANGPTL3), где ингибитор ANGPTL3 представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с ANGPTL3, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с ANGPTL3, содержат CDR1 тяжелой цепи (HCDR1), имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, HCDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HCDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, CDR1 легкой цепи (LCDR1), имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, LCDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и LCDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8.

2. Способ по п.1, который дополнительно включает введение терапевтически эффективного количества второго снижающего липиды средства, отличного от статина.

3. Способ по п.1 или 2, в котором семейную гиперхолестеринемию выбирают из группы, состоящей из гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии (HeFH) и гомозиготной семейной гиперхолестеринемии (HoFH).

4. Способ по любому из пп.1-3, в котором статин представляет собой аторвастатин (LIPITOR®), вводимый перорально раз в сутки в дозе от 10 до 80 мг.

5. Способ по любому из пп.1-4, в котором средство, которое ингибирует абсорбцию холестерина, представляет собой эзетимиб (ZETIA®).

6. Способ по п.5, в котором эзетимиб (ZETIA®) вводят перорально раз в сутки в дозе 10 мг.

7. Способ по п.2, в котором второе снижающее липиды средство, отличное от статина, представляет собой средство, которое ингибирует микросомальный белок-переносчик триглицеридов (MTPP).

8. Способ по п.7, в котором средство, которое ингибирует MTPP, представляет собой ломитапид (JUXTAPID®).

9. Способ по п.8, в котором ломитапид (JUXTAPID®) вводят перорально раз в сутки в дозе от 5 до 60 мг.

10. Способ по п.9, в котором ломитапид (JUXTAPID®) вводят перорально раз в сутки в дозе 20 мг.

11. Способ по любому из пп.1-10, в котором антитело к ANGPTL3 представляет собой эвинакумаб.

12. Способ по п.11, в котором эвинакумаб вводят до, во время или после лечения статином, эзетимибом или ломитапидом.

13. Способ по пп.11 или 12, в котором эвинакумаб вводят внутривенно в дозе в диапазоне от 1 до 20 мг/кг массы тела.

14. Способ по п.13, в котором эвинакумаб вводят внутривенно в дозе 15 мг/кг массы тела.

15. Способ по любому из пп.11 или 12, в котором эвинакумаб вводят подкожно в дозе в диапазоне от 50 до 750 мг.

16. Способ по п.15, в котором эвинакумаб вводят подкожно в дозе в диапазоне от 250 до 450 мг.

17. Способ по любому из пп.11-16, в котором эвинакумаб вводят каждую неделю, каждые две недели, каждые 3 недели, каждые 4 недели, каждые 2 месяца, каждые 3 месяца или каждые 4 месяца.

18. Способ улучшения одного или нескольких липидных параметров у пациента с диагнозом семейной гиперхолестеринемии, при этом способ включает введение одной или нескольких терапевтически эффективных доз ингибитора ангиопоэтинподобного белка 3 (ANGPTL3), где ингибитор ANGPTL3 представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с ANGPTL3, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с ANGPTL3, содержат CDR1 тяжелой цепи (HCDR1), имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, HCDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HCDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, CDR1 легкой цепи (LCDR1), имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, LCDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и LCDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, в комбинации с одной или несколькими терапевтически эффективными дозами снижающего липиды средства,

выбранного из группы, состоящей из статина, средства, которое ингибирует абсорбцию холестерина, и средства, которое ингибирует микросомальный белок-переносчик триглицеридов (МТТР), или их сочетания, где улучшение одного или нескольких липидных параметров представляет собой одно или несколько из следующего:

(a) снижение холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) относительно базового уровня (неделя 0);

(b) снижение аполипопротеина В (Аpo В) относительно базового уровня;

(c) снижение не высокого холестерина липопротеинов высокой плотности (не HDL-C) относительно базового уровня;

(d) снижение общего холестерина (общий С) относительно базового уровня;

(e) снижение липопротеина (а) (Lp(a)) относительно базового уровня; и/или

(f) снижение триглицеридов (TG) относительно базового уровня.

19. Способ по п.18, в котором семейную гиперхолестеринемия выбирают из группы, состоящей из гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии (HeFH) и гомозиготной семейной гиперхолестеринемии (HoFH).

20. Способ по п.18 или 19, в котором антитело, которое специфически связывается с ANGPTL3, представляет собой эвинакумаб.

21. Способ по любому из пп.18-20, в котором статин представляет собой аторвастатин (LIPITOR®), вводимый перорально раз в сутки в дозе от 10 до 80 мг.

22. Способ по п.18, в котором средство, которое ингибирует абсорбцию холестерина, представляет собой эзетимиб (ZETIA®).

23. Способ по п.22, в котором эзетимиб (ZETIA®) вводят перорально раз в сутки в дозе 10 мг.

24. Способ по п.18, в котором средство, которое ингибирует МТТР, представляет собой ломитапид (JUXTAPID®).

25. Способ по п.24, в котором ломитапид (JUXTAPID®) вводят перорально раз в сутки в дозе от 5 до 60 мг.

26. Способ по п.25, в котором ломитапид (JUXTAPID®) вводят перорально раз в сутки в дозе 20 мг.

27. Способ по любому из пп.1-26, в котором введение ведет по меньшей мере к 40% снижению по меньшей мере одного липидного параметра относительно базового уровня.

28. Способ по любому из пп.1-26, в котором введение ведет по меньшей мере к 75% снижению по меньшей мере одного липидного параметра относительно базового уровня.

29. Способ по п.27 или 28, в котором введение ведет по меньшей мере к 40% снижению уровней LDL-C относительно базового уровня.

30. Способ по любому из пп.1-10, 18 и 19, в котором антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который специфически связывается с ANGPTL3, содержит HCVR, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и LCVR, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5.

31. Применение комбинации статина, одного снижающего липиды средства, отличного от статинов, и ингибитора ангиопоэтинподобного белка 3 (ANGPTL3), где ингибитор ANGPTL3 представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с ANGPTL3, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с ANGPTL3, содержат CDR1 тяжелой цепи (HCDR1), имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, HCDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HCDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, CDR1 легкой цепи (LCDR1), имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, LCDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и LCDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, в лечении пациента, страдающего семейной гиперхолестеринемией.

32. Применение комбинации статина, одного снижающего липиды средства, отличного от статинов, и ингибитора ангиопоэтинподобного белка 3 (ANGPTL3), где ингибитор ANGPTL3 представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с ANGPTL3, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с ANGPTL3, содержат CDR1 тяжелой цепи (HCDR1), имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, HCDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HCDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, CDR1 легкой цепи (LCDR1), имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, LCDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и LCDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, при получении лекарственного средства для лечения пациента, страдающего семейной гиперхолестеринемией.

33. Фармацевтическая композиция для лечения пациента, страдающего семейной гиперхолестеринемией, где композиция содержит терапевтически эффективное количество комбинации статина, одного снижающего липиды средства, отличного от статинов, и ингибитора ангиопоэтинподобного белка 3 (ANGPTL3), где ингибитор ANGPTL3 представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

мент, которые специфически связываются с ANGPTL3, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с ANGPTL3, содержат CDR1 тяжелой цепи (HCDR1), имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, HCDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HCDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, CDR1 легкой цепи (LCDR1), имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, LCDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и LCDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8.

34. Применение ингибитора ангиопоэтинподобного белка 3 (ANGPTL3), где ингибитор ANGPTL3 представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с ANGPTL3, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с ANGPTL3, содержат CDR1 тяжелой цепи (HCDR1), имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, HCDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HCDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, CDR1 легкой цепи (LCDR1), имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, LCDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и LCDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, в комбинации со снижающим липиды средством, выбранным из группы, состоящей из статина, средства, которое ингибирует абсорбцию холестерина, и средства, которое ингибирует микросомальный белок-переносчик триглицеридов (МТТР), или их сочетания, для улучшения одного или нескольких липидных параметров у пациента с диагнозом семейной гиперхолестеринемии.

35. Применение ингибитора ангиопоэтинподобного белка 3 (ANGPTL3), где ингибитор ANGPTL3 представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с ANGPTL3, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с ANGPTL3, содержат CDR1 тяжелой цепи (HCDR1), имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, HCDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HCDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, CDR1 легкой цепи (LCDR1), имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, LCDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и LCDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, в комбинации со снижающим липиды средством, выбранным из группы, состоящей из статина, средства, которое ингибирует абсорбцию холестерина, и средства, которое ингибирует микросомальный белок-переносчик триглицеридов (МТТР), или их сочетания, при получении лекарственного средства для улучшения одного или нескольких липидных параметров у пациента с диагнозом семейной гиперхолестеринемии.

36. Фармацевтическая композиция для улучшения одного или нескольких липидных параметров у пациента с диагнозом семейной гиперхолестеринемии, где композиция содержит терапевтически эффективное количество ингибитора ангиопоэтинподобного белка 3 (ANGPTL3), где ингибитор ANGPTL3 представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с ANGPTL3, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с ANGPTL3, содержат CDR1 тяжелой цепи (HCDR1), имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, HCDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HCDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, CDR1 легкой цепи (LCDR1), имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, LCDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и LCDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, в комбинации со снижающим липиды средством, выбранным из группы, состоящей из статина, средства, которое ингибирует абсорбцию холестерина, и средства, которое ингибирует микросомальный белок-переносчик триглицеридов (МТТР), или их сочетания.

