

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(21) 201992802 (13) A1

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2020.07.10(51) Int. Cl. C07K 16/24 (2006.01)  
A61K 39/395 (2006.01)(22) Дата подачи заявки  
2018.05.24

## (54) БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ И СВЯЗАННЫЕ С НИМИ СПОСОБЫ

(31) 62/511,441

(72) Изобретатель:

(32) 2017.05.26

Грант Стивен, Акинсейе Чика,

(33) US

Бхиндер Теджиндер, Хук Лаура,

(86) PCT/IB2018/053683

Льюис Алан Питер, Орекция Мартин

(87) WO 2018/215964 2018.11.29

(GB)

(71) Заявитель:

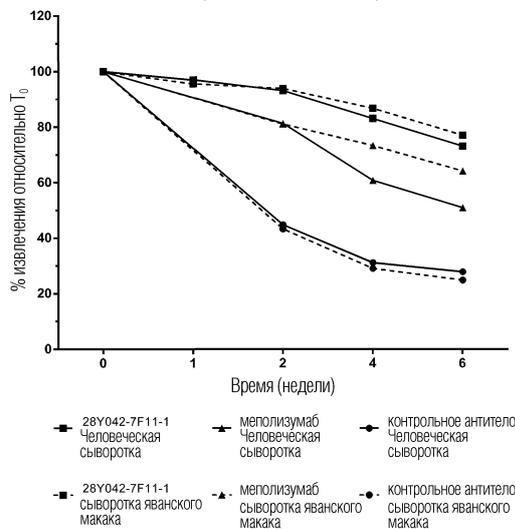
(74) Представитель:

ГЛЭКСОСМИТКЛАЙН  
ИНТЕЛЛЕКТУАЛ ПРОПЕРТИ  
ДИВЕЛОПМЕНТ ЛИМИТЕД (GB)

Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к антигенсвязывающим композициям, включая антитела, для лечения заболеваний, опосредованных интерлейкином 5 (IL-5), и к связанным с ними способам. IL-5 является секретируемым белком и играет роль в ряде различных заболеваний, таких как астма, легкая астма, астма средней тяжести, тяжелая астма, легкая эозинофильная астма, эозинофильная астма средней тяжести, тяжелая эозинофильная астма, неконтролируемая эозинофильная астма, эозинофильная астма, суб-эозинофильная астма, хроническая обструктивная болезнь легких, эозинофильный гранулематоз с полиангиитом, гиперэозинофильный синдром, носовые полипы, буллезный пемфигоид, эозинофильный эзофагит, атопический дерматит, атопический дерматит средней тяжести и тяжелый атопический дерматит. Раскрытые композиции пригодны для лечения этих серьезных заболеваний, опосредованных IL-5.

стабильность 28Y042-7F11-1, меполизумаба  
и контрольного антитела в сыворотке



A1

201992802

201992802

A1

## **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

2420-559915EA/011

### **БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ И СВЯЗАННЫЕ С НИМИ СПОСОБЫ**

#### **ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ**

Настоящее изобретение относится к композициям для лечения заболеваний, опосредованных интерлейкином 5 (IL-5), и связанным с ними способам.

#### **УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ**

IL-5 является секретлируемым белком. IL-5 играет роль в ряде различных заболеваний, таких как астма, легкая астма, астма средней тяжести, тяжелая астма, легкая эозинофильная астма, эозинофильная астма средней тяжести, тяжелая эозинофильная астма, неконтролируемая эозинофильная астма, эозинофильная астма, суб-эозинофильная астма, хроническая обструктивная болезнь легких, эозинофильный гранулематоз с полиангиитом, гиперэозинофильный синдром, носовые полипы, буллезный пемфигоид, эозинофильный эзофагит, атопический дерматит, атопический дерматит средней тяжести и тяжелый атопический дерматит. Эти серьезные заболевания поражают сотни миллионов людей во всем мире.

Это означает, что существует потребность в композициях, подходящих для лечения IL-5-опосредованного заболевания. Такие композиции и связанные с ними способы предоставлены в настоящем изобретении.

#### **СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

Одним из аспектов настоящего изобретения является антигенсвязывающий белок, содержащий вариабельную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDRH1, показанную в SEQ ID NO: 5, аминокислотную последовательность CDRH2, показанную в SEQ ID NO: 6, и аминокислотную последовательность CDRH3, показанную в SEQ ID NO: 7; и вариабельную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDRL1, показанную в SEQ ID NO: 8, аминокислотную последовательность CDRL2, показанную в SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность CDRL3, показанную в SEQ ID NO: 10.

Другим аспектом изобретения является антигенсвязывающий белок, содержащий последовательность вариабельной области тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 3; и последовательность вариабельной области легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 4.

Другим аспектом изобретения является антитело, содержащее тяжелую цепь и легкую цепь, причем а) тяжелая цепь содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDRH1, показанную в SEQ ID NO: 5, аминокислотную последовательность CDRH2, показанную в SEQ ID NO: 6 и аминокислотную последовательность CDRH3, показанную в SEQ ID NO: 7; и б) легкая цепь содержит вариабельную область легкой цепи, имеющую аминокислотную



Другим аспектом изобретения является композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, имеющую последовательность, показанную в SEQ ID NO: 13.

Другим аспектом изобретения является способ получения пептидной цепи, содержащей аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 3, причем указанный способ включает этап культивирования рекомбинантной клетки-хозяина, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID. № 3; и извлечение пептидной цепи.

Другим аспектом изобретения является способ получения антитела, включающий этап: а) культивирования рекомбинантной клетки-хозяина, содержащей вектор экспрессии, содержащий нуклеиновую кислоту, имеющую последовательность, показанную в SEQ ID NO: 17, и нуклеиновую кислоту, имеющую последовательность, показанную в SEQ ID NO: 18; и б) извлечения антитела; таким образом получая антитело.

Другим аспектом изобретения является фармацевтическая композиция, содержащая: а) антигенсвязывающий белок, содержащий переменную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDRH1, показанную в SEQ ID NO: 5, аминокислотную последовательность CDRH2, показанную в SEQ ID NO: 6, и аминокислотную последовательность CDRH3, показанную в SEQ ID NO: 7; и переменную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDRL1, показанную в SEQ ID NO: 8, аминокислотную последовательность CDRL2, показанную в SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность CDRL3, показанную в SEQ ID NO: 10; и б) фармацевтически приемлемый носитель.

Другим аспектом изобретения является фармацевтическая композиция, содержащая: а) антитело, содержащее переменную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDRH1, показанную в SEQ ID NO: 5, аминокислотную последовательность CDRH2, показанную в SEQ ID NO: 6, и аминокислотную последовательность CDRH3, показанную в SEQ ID NO: 7; и переменную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDRL1, показанную в SEQ ID NO: 8, аминокислотную последовательность CDRL2, показанную в SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность CDRL3, показанную в SEQ ID NO: 10; и б) фармацевтически приемлемый носитель.

Другим аспектом изобретения является фармацевтическая композиция, содержащая: а) антитело, содержащее тяжелую цепь и легкую цепь, причем тяжелая цепь содержит последовательность переменной области тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 3; и легкая цепь содержит последовательность переменной области легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 4; и б) фармацевтически приемлемый носитель.

Другим аспектом изобретения является фармацевтическая композиция, содержащая: а) антитело, содержащее тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, имеющую

аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 2; и b) фармацевтически приемлемый носитель.

Другим аспектом изобретения является способ лечения астмы от легкой до средней степени тяжести у субъекта, включающий этапы: а) идентификации субъекта, имеющего диагноз астмы от легкой до средней степени тяжести; и b) введения субъекту терапевтически эффективного количества антитела, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 5, аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 6, и аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 7; и вариабельную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 8, аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 10; таким образом обеспечивая лечение астмы от легкой до средней степени тяжести у субъекта.

Другим аспектом изобретения является способ лечения астмы от легкой до средней степени тяжести у субъекта, включающий этапы: а) идентификации субъекта, имеющего диагноз астмы от легкой до средней степени тяжести; и b) введения субъекту терапевтически эффективного количества антитела, содержащего тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1; таким образом обеспечивая лечение астмы от легкой до средней степени тяжести у субъекта.

Другим аспектом изобретения является способ лечения астмы от легкой до средней тяжести у субъекта, включающий этапы: а) идентификации субъекта, имеющего диагноз астмы от легкой до средней степени тяжести; и b) введения субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей антитело, содержащее тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и фармацевтически эффективный носитель; таким образом обеспечивая лечение астмы от легкой до средней степени тяжести у субъекта.

Другим аспектом изобретения является способ лечения тяжелой астмы у субъекта, включающий этапы: а) идентификации субъекта, имеющего диагноз тяжелой астмы; и b) введения субъекту терапевтически эффективного количества антитела, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 5, аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 6, и аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 7; и вариабельную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 8, аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 10; таким образом обеспечивая лечение тяжелой астмы у субъекта.

Другим аспектом изобретения является способ лечения тяжелой астмы у субъекта,

включающий этапы: а) идентификации субъекта, имеющего диагноз тяжелой астмы; и б) введения субъекту терапевтически эффективного количества антитела, содержащего тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1; таким образом обеспечивая лечение тяжелой астмы у субъекта.

Другим аспектом изобретения является способ лечения тяжелой астмы у субъекта, включающий этапы: а) идентификации субъекта, имеющего диагноз тяжелой астмы; и б) введения субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей антитело, содержащее тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и фармацевтически эффективный носитель;

таким образом обеспечивая лечение тяжелой астмы у субъекта.

Другим аспектом изобретения является способ лечения у субъекта atopического дерматита от средней до тяжелой степени, включающий этапы: а) идентификации субъекта, имеющего по меньшей мере один из признаков, выбранный из группы, состоящей из: i) диагноза atopического дерматита в соответствии с критериями Ханифина и Райка, пересмотренными Эйхенвальдом; ii) предварительного диагноза atopического дерматита, поставленного более двух лет назад или примерно два года назад до начала лечения; iii) общего балла по оценке медицинского работника, равного трем или более; iv) поражения atopическим дерматитом, превышающим или равным примерно 10% площади поверхности тела; v) показателя тяжести и площади, пораженной экземой, превышающих или равных 16; vi) абсолютного количества эозинофилов в крови, превышающего или равного 150 клеткам на мкл, превышающего или равного 200 клеткам на мкл, превышающего или равного 300 клеткам на мкл или превышающего или равного 350 клеткам на мкл; и vii) по меньшей мере одного состояния до лечения, выбранного из группы, состоящей из: 1) неадекватного ответа в течение шести месяцев или более на лекарство от atopического дерматита для местного применения; 2) плохой переносимости лекарства от atopического дерматита для местного применения; 3) побочного эффекта от приема лекарства от atopического дерматита для местного применения; и 4) неадекватного ответа на нефармакологическое лечение от atopического дерматита; и б) введения субъекту терапевтически эффективного количества антитела, содержащего переменную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 5, аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 6, и аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 7; и переменную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 8, аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 10; таким образом обеспечивая лечение atopического дерматита у субъекта.

Другим аспектом изобретения является способ лечения у субъекта атопического дерматита от средней до тяжелой степени, включающий этапы: а) идентификации субъекта, имеющего по меньшей мере один из признаков, выбранный из группы, состоящей из: i) диагноза атопического дерматита в соответствии с критериями Ханифина и Райка, пересмотренными Эйхенвальдом; ii) предварительного диагноза атопического дерматита, поставленного более двух лет назад или примерно два года назад до начала лечения; iii) общего балла по оценке медицинского работника, равного трем или более; iv) поражения атопическим дерматитом, превышающим или равным примерно 10% площади поверхности тела; v) показателя тяжести и площади, пораженной экземой, превышающих или равных 16; vi) абсолютного количества эозинофилов в крови, превышающего или равного 150 клеткам на мкл, превышающего или равного 200 клеткам на мкл, превышающего или равного 300 клеткам на мкл или превышающего или равного 350 клеткам на мкл; и vii) по меньшей мере одного состояния до лечения, выбранного из группы, состоящей из: 1) неадекватного ответа в течение шести месяцев или более на лекарство от атопического дерматита для местного применения; 2) плохой переносимости лекарства от атопического дерматита для местного применения; 3) побочного эффекта от приема лекарства от атопического дерматита для местного применения; и 4) неадекватного ответа на нефармакологическое лечение от атопического дерматита; и б) введения субъекту терапевтически эффективного количества антитела, содержащего тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1; таким образом обеспечивая лечение атопического дерматита у субъекта.

Другим аспектом изобретения является способ лечения у субъекта атопического дерматита от средней до тяжелой степени, включающий этапы: а) идентификации субъекта, имеющего по меньшей мере один из признаков, выбранный из группы, состоящей из: i) диагноза атопического дерматита в соответствии с критериями Ханифина и Райка, пересмотренными Эйхенвальдом; ii) предварительного диагноза атопического дерматита, поставленного более двух лет назад или примерно два года назад до начала лечения; iii) общего балла по оценке медицинского работника, равного трем или более; iv) поражения атопическим дерматитом, превышающим или равным примерно 10% площади поверхности тела; v) показателя тяжести и площади, пораженной экземой, превышающих или равных 16; vi) абсолютного количества эозинофилов в крови, превышающего или равного 150 клеткам на мкл, превышающего или равного 200 клеткам на мкл, превышающего или равного 300 клеткам на мкл или превышающего или равного 350 клеткам на мкл; и vii) по меньшей мере одного состояния до лечения, выбранного из группы, состоящей из: 1) неадекватного ответа в течение шести месяцев или более на лекарство от атопического дерматита для местного применения; 2) плохой переносимости лекарства от атопического дерматита для местного применения; 3) побочного эффекта от приема лекарства от атопического дерматита для местного применения; и 4) неадекватного ответа на нефармакологическое лечение от атопического дерматита; и б)

введения субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей антитело, содержащее тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и фармацевтически эффективный носитель; таким образом обеспечивая лечение atopического дерматита у субъекта.

Другим аспектом изобретения является способ уменьшения у субъекта абсолютного количества эозинофилов в крови, включающий этапы: а) идентификации субъекта, имеющего состояние выбранное из группы, состоящей из астмы, легкой астмы, астмы средней тяжести, тяжелой астмы, легкой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы средней тяжести, тяжелой эозинофильной астмы, неконтролируемой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы, суб-эозинофильной астмы, хронической обструктивной болезни легких, эозинофильного гранулематоза с полиангиитом, гиперэозинофильного синдрома, носовых полипов, буллезного пемфигоида, эозинофильного эзофагита и atopического дерматита; и б) введения субъекту терапевтически эффективного количества антитела, содержащего переменную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 5, аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 6, и аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 7; и переменную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 8, аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 10; таким образом уменьшая у субъекта абсолютное количество эозинофилов в крови.

Другим аспектом изобретения является способ уменьшения у субъекта абсолютного количества эозинофилов в крови, включающий этапы: а) идентификации субъекта, имеющего состояние выбранное из группы, состоящей из астмы, легкой астмы, астмы средней тяжести, тяжелой астмы, легкой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы средней тяжести, тяжелой эозинофильной астмы, неконтролируемой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы, суб-эозинофильной астмы, хронической обструктивной болезни легких, эозинофильного гранулематоза с полиангиитом, гиперэозинофильного синдрома, носовых полипов, буллезного пемфигоида, эозинофильного эзофагита, atopического дерматита, atopического дерматита средней тяжести и тяжелого atopического дерматита; и б) введения субъекту терапевтически эффективного количества антитела, содержащего тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1; таким образом обеспечивая лечение atopического дерматита у субъекта.

Другим аспектом изобретения является способ уменьшения у субъекта абсолютного количества эозинофилов в крови, включающий этапы: а) идентификации субъекта, имеющего состояние выбранное из группы, состоящей из астмы, легкой астмы,

астмы средней тяжести, тяжелой астмы, легкой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы средней тяжести, тяжелой эозинофильной астмы, неконтролируемой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы, суб-эозинофильной астмы, хронической обструктивной болезни легких, эозинофильного гранулематоза с полиангиитом, гиперэозинофильного синдрома, носовых полипов, буллезного пемфигоида, эозинофильного эзофагита, атопического дерматита, атопического дерматита средней тяжести и тяжелого атопического дерматита; и б) введения субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей антитело, содержащее тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и фармацевтически эффективный носитель; таким образом уменьшая у субъекта абсолютное количество эозинофилов в крови.

### **КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ**

Фиг. 1. Оба, 28Y042-7F11-1 и меполизумаб, вызывают дозозависимое ингибирование пролиферации клеток TF-1, индуцированной человеческим IL-5 (IC<sub>50</sub> от 4 пМ до 105 пМ, соответственно) при тестировании в диапазоне концентраций от 1 нМ до 0,042 пМ.

Фиг. 2. Ингибирование изменения формы эозинофилов, опосредованного рекомбинантным IL-5, с помощью 28Y042-7F11-1 и меполизумаба в цельной крови человека. Показанные данные получены от 6 доноров.

Фиг. 3. Связывание нативного IL-5 с 28Y042-7F11-1 и меполизумабом в анализе ELISA.

Фиг. 4. Сравнение стабильности 28Y042-7F11-1, инкубированного при 37°C в течение 6 недель в объединенной сыворотке человека или яванского макака. Данные нанесены на график в сравнении с предыдущими результатами, полученными для меполизумаба и IL-13-специфического контрольного антитела.

Фиг. 5. Графики пропорциональных изменений у животных относительно среднего ответа эозинофилов до введения дозы. Уровни ответа эозинофилов у животных относительно среднего геометрического их значений до введения дозы (от -12 до -26 дня). Значения рассчитывали для каждого животного с общими геометрическими средними, вычисленными по группам, которые добавляли в виде горизонтальных планок. Сплошная горизонтальная линия соответствует 20% исходного количества эозинофилов животного. n=4 на группу [2♀ и 2♂]; однократное (внутривенное) введение препарата в день 1 исследования.

Фиг.6. Общий IL-5 в сыворотке яванского макака, полученный в 9-месячном исследовании PK/PD (данные в день 267/неделя 38) для животных, получавших 28Y042-7F11-1, меполизумаб или носитель. Для 28Y042-7F11-1 наблюдали увеличенный период времени, в течение которого в сыворотке сохранялся комплекс общий IL-5:антитело, а также увеличенное количество этого комплекса. Самый низкий уровень количества (LLOQ) IL-5 у яванского макака составил 9,77 пг/мл.

Фиг. 7. Средняя концентрация 28Y042–7F11–1 и меполизумаба (SB–240563) в сыворотке (нг/мл) у яванского макака после однократной внутривенной (IV) или подкожной (SC) инъекции.

Фиг. 8. Модуль 1–1. Блок–схема диагностики в клинической практике – начальное представление.

Фиг. 9. Модуль 3–5. Пошаговый подход к контролю симптомов и минимизации риска в будущем.

## ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к композициям для лечения заболеваний, опосредованных интерлейкином 5 (IL–5), и связанным с ними объектам изобретения.

Используемый в настоящем описании термин «астма» означает воспалительное заболевание дыхательных путей, характеризующееся обратимым ограничением воздушного потока и бронхоспазмом. Общие симптомы включают хрипы, кашель, стеснение в груди и одышку. Астма представляет собой гетерогенное заболевание, которое, как правило, характеризуется наличием хронического воспаления дыхательных путей. Она определяется по наличию в анамнезе симптомов со стороны органов дыхания, таких как свистящие хрипы, одышка, чувство заложенности в груди и кашель, выраженность которых изменяется со временем, а также переменного ограничения скорости воздушного потока на выдохе.

В способах по изобретению диагноз астмы у субъекта может быть поставлен в соответствии с руководством, предоставленным Глобальной инициативой по астме (Global Initiative for Asthma, GINA), в документе Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы («Global Strategy for Asthma Management and Prevention», обновленном в 2016 г.). Специалистам в данной области техники известны схема диагностики GINA для клинической практики (фиг. 8) и диагностические критерии астмы у взрослых, подростков и детей 6–11 лет (таблица 1), приведенные ниже, а также другие аспекты руководства (например, для беременных женщин и т.д.). См. также таблицу 2 и таблицу 3.

Таблица 1.

Модуль 1–2. Диагностические критерии астмы у взрослых, подростков и детей в возрасте 6–11 лет	
Бронхиальная астма представляет собой гетерогенное заболевание, которое, как правило, характеризуется наличием хронического воспаления дыхательных путей. Она определяется по наличию в анамнезе симптомов со стороны органов дыхания, таких как свистящие хрипы, одышка, чувство заложенности в груди и кашель, выраженность которых изменяется со временем, а также переменного ограничения скорости воздушного потока на выдохе.	
ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ	ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ

<b>1. Наличие переменных респираторных симптомов в анамнезе</b>	
<p>Свистящие хрипы, одышка, чувство заложенности в груди и кашель.</p> <p>Описание признаков может изменяться в зависимости от особенностей культуры и от возраста, например, симптом у детей может быть описан как затрудненное дыхание</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Как правило, более одного типа респираторных симптомов (у взрослых изолированный кашель редко связан с астмой)</li> <li>– Симптомы переменны по времени и по интенсивности</li> <li>– Часто симптомы ухудшаются ночью либо сразу после пробуждения</li> <li>– Часто симптомы провоцируются физическими упражнениями, смехом, аллергенами, холодным воздухом</li> <li>– Часто симптомы появляются или ухудшаются на фоне вирусных инфекций</li> </ul>
<b>2. Подтвержденное переменное ограничение скорости воздушного потока на выдохе</b>	
<p>Зарегистрированная повышенная переменность показателей функции внешнего дыхания* (по данным одного или нескольких приведенных ниже тестов)</p> <p>И зарегистрированное ограничение скорости воздушного потока*</p>	<p>Чем больше переменность или чем чаще она выявляется, тем больше уверенность в диагнозе</p> <p>По меньшей мере один раз в процессе диагностики при низком <math>ОФВ_1</math> необходимо подтвердить, что отношение <math>ОФВ_1/ФЖЕЛ</math> снижено (в норме составляет <math>&gt;0,75-0,80</math> у взрослых, <math>&gt;0,90</math> у детей)</p>
<p>Положительный результат теста на обратимость бронхообструкции с использованием БЛ* (вероятность получения положительного результата выше, если применение БЛ перед тестом отложено: КДБА – на <math>\geq 4</math> ч, ДДБА – на <math>\geq 15</math> ч)</p>	<p><i>Взрослые:</i> повышение <math>ОФВ_1</math> на <math>&gt;12\%</math> и на <math>&gt;200</math> мл от исходного значения через 10–15 мин после применения 200–400 мкг альбутерола или эквивалентного препарата (более достоверным считается повышение на <math>&gt;15\%</math> и <math>&gt;400</math> мл)</p> <p><i>Дети:</i> повышение <math>ОФВ_1</math> на <math>&gt;12\%</math> от должного значения</p>
<p>Повышенная переменность ПСВ, измеряемой 2 раза в сутки в течение <math>&gt;2</math> нед.*</p>	<p><i>Взрослые:</i> средняя ежедневная суточная переменность ПСВ <math>&gt;10\%^{**}</math></p> <p><i>Дети:</i> средняя ежедневная суточная</p>

	вариабельность ПСВ >13%**
Значительное повышение показателей функции внешнего дыхания через 4 нед. противовоспалительного лечения	<i>Взрослые:</i> повышение ОФВ <sub>1</sub> на >12% и на >200 мл (или ПСВ*** на >20%) от исходного значения через 4 нед. лечения при отсутствии респираторных инфекций
Положительный результат теста с физической нагрузкой*	<i>Взрослые:</i> снижение ОФВ <sub>1</sub> на >10% и на >200 мл от исходного значения <i>Дети:</i> снижение ОФВ <sub>1</sub> на >12% от должного значения или ПСВ на >15%
Положительный результат бронхопровокационного теста (как правило, выполняется только у взрослых)	Снижение ОФВ <sub>1</sub> на $\geq 20\%$ от исходного значения при использовании стандартных доз метахолина или гистамина либо на $\geq 15\%$ при стандартизированной гипервентиляции, использовании гипертонического раствора натрия хлорида или проведении бронхопровокационного теста с маннитолом
Повышенная вариабельность показателей функции внешнего дыхания между визитами* (менее надежный признак)	<i>Взрослые:</i> изменение ОФВ <sub>1</sub> на >12% и на >200 мл между визитами при отсутствии инфекций органов дыхания <i>Дети:</i> изменение ОФВ <sub>1</sub> на >12% или ПСВ*** на >15% между визитами (возможно наличие респираторных инфекций)
<p>БЛ – бронхолитик (КДБА или ДДБА с быстрым началом действия); ОФВ<sub>1</sub>: объем форсированного выдоха за 1-ю секунду; ДДБА – <math>\beta_2</math>-агонист длительного действия; ПСВ – пиковая скорость выдоха (самое высокое из трех измеренных значений); КДБА – <math>\beta_2</math>-агонист короткого действия; Диагностика у пациентов, которые уже получают лечение, направленное на контроль заболевания, описана в модуле 1–4.</p> <p>*Эти тесты могут быть проведены повторно во время проявления симптомов либо рано утром. ** Ежедневная суточная вариабельность ПСВ вычисляется на основании ПСВ, определенной дважды в день как ([наибольшее значение за день минус наименьшее значение за день]/среднее от наибольшего и наименьшего значений за день), и с вычислением среднего за 1 нед. †Для определения ПСВ каждый раз используйте одно и то же устройство, так как значения ПСВ, полученные на разных</p>	

устройствах, могут различаться до 20%. Обратимость бронхообструкции при использовании БЛ может исчезать во время тяжелых обострений или заболевания вирусной инфекцией. Если обратимость бронхообструкции при использовании БЛ не наблюдается при первоначальном обследовании, то следующий этап зависит от доступности других тестов и того, насколько срочно необходимо начать лечение. В неотложной клинической ситуации можно начать лечение астмы, а диагностическое исследование провести в течение нескольких следующих недель (см. модуль 1–4), однако необходимо рассмотреть и другие патологические состояния, имитирующие астму (см. модуль 1–3), и как можно скорее подтвердить диагноз астмы.

Таблица 2.

Модуль 1–3. Дифференциальная диагностика астмы у взрослых, подростков и детей в возрасте 6–11 лет

Возраст	Состояние	Симптомы
6–11 лет	Хронический кашлевой синдром верхних дыхательных путей Вдыхание инородного тела Бронхоэктазии Первичная цилиарная дискинезия Врожденное заболевание сердца Бронхолегочная дисплазия Муковисцидоз	Чихание, зуд, заложенность носа, необходимость откашливания Внезапное возникновение симптомов, односторонние свистящие хрипы Рецидивирующие инфекции, продуктивный кашель Рецидивирующие инфекции, продуктивный кашель, синусит Шумы в сердце Преждевременные роды, симптоматика наблюдается с рождения Избыточные кашель и выделение слизи, желудочно–кишечная симптоматика
12–39 лет	Хронический кашлевой синдром верхних дыхательных путей Нарушение функции голосовых связок Гипервентиляция, нарушение дыхания	Чихание, зуд, заложенность носа, необходимость откашливания Одышка, инспираторные свистящие хрипы (стридор) Головокружение, парестезия, вздохи

	<p>Бронхоэктазии</p> <p>Муковисцидоз</p> <p>Врожденное заболевание сердца</p> <p><math>\alpha</math>-антитрипсиновая недостаточность</p> <p>1</p> <p>Вдыхание инородного тела</p>	<p>Продуктивный кашель,</p> <p>рецидивирующие инфекции</p> <p>Избыточные кашель и выделение слизи</p> <p>Шумы в сердце</p> <p>Затрудненность дыхания, раннее проявление эмфиземы в семейном анамнезе</p> <p>Внезапное возникновение симптомов</p>
40+ лет	<p>Нарушение функции голосовых связок</p> <p>Гипервентиляция, нарушение дыхания</p> <p>ХОБЛ*</p> <p>Бронхоэктазии</p> <p>Сердечная недостаточность</p> <p>Кашель, связанный с лекарственными средствами</p> <p>Заболевание, вызванное поражением паренхимы легких</p> <p>Легочная эмболия</p> <p>Центральная обструкция дыхательных путей</p>	<p>Одышка, инспираторные свистящие хрипы (стридор)</p> <p>Головокружение, парестезия, вздохи</p> <p>Кашель, мокрота, одышка при напряжении, курение или вредное воздействие</p> <p>Продуктивный кашель, рецидивирующие инфекции</p> <p>Одышка при напряжении, ночная симптоматика</p> <p>Лечение с применением ингибитора ангиотензинпревращающего фермента (АСЕ)</p> <p>Одышка при напряжении, непродуктивный кашель, утолщение концевых фаланг пальцев</p> <p>Внезапное возникновение одышки, боли в груди</p> <p>Одышка, невосприимчивость к действию бронхолитиков</p>
<p>* У пациентов с подтвержденной астмой любое из перечисленных выше патологических состояний также может способствовать возникновению респираторных симптомов.</p>		

Таблица 3

Модуль 1–4. Подтверждение диагноза астмы у пациента, который уже получает терапию, направленную на контроль заболевания	
Вариабельные респираторные симптомы и переменное ограничение скорости воздушного потока	Диагноз астмы подтвержден. Оценка уровня контроля над астмой и пересмотр терапии, направленной на контроль заболевания
Вариабельные респираторные симптомы, но без переменности ограничения скорости воздушного потока	<p>Повторить тест на обратимость бронхообструкции с использованием БЛ после отмены БЛ (КДБА: 4 ч; ДДБА: <math>\geq 12</math> ч) или во время проявления симптомов. Если результат в норме, рассмотреть альтернативные диагнозы (см. модуль 1–3).</p> <p>Если <math>ОФВ_1 &gt; 70\%</math> от должного значения: рассмотреть возможность проведения бронхопровокационного теста. Если результат отрицательный, рассмотреть возможность снижения интенсивности терапии, направленной на контроль заболевания, и провести повторную оценку через 2–4 нед.</p> <p>Если <math>ОФВ_1 &lt; 70\%</math> от должного значения: рассмотреть возможность повышения интенсивности терапии, направленной на контроль заболевания, на 3 мес и последующего проведения повторной оценки симптомов и показателей функции легких. Если ответа не наблюдается, возобновить используемую ранее терапию и направить пациента на обследование для установления диагноза.</p>
Небольшое количество респираторных симптомов, нормальные показатели функции легких и отсутствие переменности ограничения скорости воздушного потока	<p>Повторить тест на обратимость бронхообструкции с использованием БЛ после отмены БЛ (КДБА: 4 ч; ДДБА: <math>\geq 12</math> ч) или во время проявления симптомов. Если результат в норме, рассмотреть альтернативные диагнозы (см. модуль 1–3). Рассмотреть возможность снижения интенсивности терапии, направленной на контроль заболевания:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– если появляются симптомы и показатели функции легких снижаются: астма подтверждена. Повысить интенсивность терапии, направленной на контроль</li> </ul>

	заболевания, до наименьшей дозы, эффективной ранее; – если изменения в симптоматике либо показателях функции легких на самой низкой ступени терапии, направленной на контроль заболевания, отсутствуют: рассмотреть возможность прекращения применения препарата для контроля заболевания и проводить тщательный мониторинг состояния пациента в течение по крайней мере 12 мес.
Стойкая затрудненность дыхания и фиксированная бронхиальная обструкция	Рассмотреть возможность повышения интенсивности терапии, направленной на контроль заболевания, на 3 мес. и последующего проведения повторной оценки симптомов и показателей функции легких. Если ответа не наблюдается, возобновить используемую ранее терапию и направить пациента на обследование для установления диагноза. Рассмотреть вероятность синдрома перекреста астма–ХОБЛ.
Обозначения: БЛ – бронхолитик, ДДБА – $\beta$ -агонист длительного действия, КДБА – $\beta$ -агонист короткого действия.	

В способах по изобретению «астма» может быть «легкой астмой», «астмой средней тяжести» или «тяжелой астмой». В способах по изобретению степень тяжести астмы может быть оценена согласно руководству GINA. В частности, степень тяжести астмы можно оценить ретроспективно по уровню терапии, которая требуется для контроля симптомов и обострений. Например, оценку можно проводить после нескольких месяцев терапии, направленной на контроль заболевания, и, по возможности, после попытки снизить интенсивность терапии для определения ее минимального уровня, эффективного для пациента. Степень тяжести астмы не является постоянной характеристикой и может изменяться со временем, через несколько месяцев или лет.

Оценка степени тяжести астмы может проводиться при условии, что пациент регулярно получает терапию, направленную на контроль заболевания, в течение нескольких месяцев:

– «Легкая астма» представляет собой астму, которая хорошо контролируется терапией ступеней 1 и 2 (см. фиг. 9, модуль 3–5), т.е. при применении только препаратов неотложной помощи (по потребности) или при проведении низкоинтенсивной терапии препаратами для контроля заболевания, такими как ИГКС (ICS) в низких дозах, антагонисты лейкотриеновых рецепторов или кромоны.

– «Умеренная астма» представляет собой астму, которая хорошо контролируется терапией ступени 3 (см. фиг. 9; модуль 3–5), например при применении низкой дозы

## ИГКС/ДДБА.

– «Тяжелая астма» представляет собой астму, которая требует применения терапии степени 4 или 5 (см. фиг. 9; модуль 3–5), например высокой дозы ИГКС/ДДБА, для предотвращения ее перехода в «неконтролируемую» астму, или астму, которая остается «неконтролируемой» несмотря на получение такой терапии. Хотя при лечении пациентов с неконтролируемой астмой во многих случаях могут возникать трудности, обусловленные неадекватным или неправильным лечением, постоянными проблемами, связанными с приверженностью к лечению или сопутствующими заболеваниями, такими как хронический риносинусит или ожирение, рабочая группа, занимающаяся проблемами тяжелой астмы, Европейского респираторного общества/Американского торакального общества считает, что определение «тяжелая астма» необходимо использовать в отношении пациентов с неподдающейся лечению астмой и недостаточным ответом на лечение сопутствующих заболеваний. При оценке степени тяжести астмы также можно использовать таблицу 4.

Таблица 4.

Модуль 3–6. Низкие, средние и высокие суточные дозы ингалируемых кортикостероидов			
Лекарственное средство	Суточная доза (мкг)		
	низкая	средняя	высокая
Беклометазона дипропионат (ХФУ)*	200–500	>500–1000	>1000
Беклометазона дипропионат (ГФА)	100–200	>200–400	>400
Будесонид (ДПИ)	200–400	>400–800	>800
Циклесонид (ГФА)	80–160	>160–320	>320
Флутиказона фуруат (ДПИ)	100	Нет данных	200
Флутиказона пропионат (ДПИ)	100–250	>250–500	>500
Флутиказона пропионат (ГФА)	100–250	>250–500	>500
Мометазона фуруат	110–220	>220–440	>440
Триамцинолона ацетонид	400–1000	>1000–2000	>2000
Дети в возрасте 6–11 лет (информация, касающаяся детей 5 лет и младше)			
Беклометазона дипропионат (ХФУ)*	100–200	>200–400	>400
Беклометазона дипропионат (ГФА)	50–100	>100–200	>200
Будесонид (ДПИ)	100–200	>200–400	>400
Будесонид (спрей)	250–500	>500–1000	>1000
Циклесонид	80	>80–160	>160
Флутиказона фуруат (ДПИ)	Нет данных	Нет данных	Нет данных
Флутиказона пропионат (ДПИ)	100–200	>200–400	>400

Флутиказона пропионат (ГФА)	100–200	>200–500	>500
Мометазона фураат	110	≥220– <440	≥440
Триамцинолона ацетонид	400–800	>800–1200	>1200
ХФУ – хлорфторуглеродный пропеллент; ДПИ – дозированный порошковый ингалятор; ГФА – гидрофторалкановый пропеллент; п.а. – не применимо; * Беклометазона дипропионат, ХФУ, включен для сравнения с данными более ранних литературных источников			

В способах по изобретению «астма» может представлять собой «легкую эозинофильную астму», «эозинофильную астму средней тяжести» или «тяжелую эозинофильную астму».

«Легкая эозинофильная астма» представляет собой легкую астму с эозинофильным фенотипом. Например, субъекты с легкой эозинофильной астмой могут иметь легкую астму с уровнем эозинофилов в крови, превышающим или равным 150 эозинофилам в мкл крови за последние 12 месяцев, превышающим или равным 200 эозинофилам в мкл крови за последние 12 месяцев, превышающим или равным 300 эозинофилам в мкл крови за последние 12 месяцев, или превышающим или равным 350 эозинофилам в мкл крови за последние 12 месяцев.

«Эозинофильная астма средней тяжести» представляет собой астму средней тяжести с эозинофильным фенотипом. Например, субъекты с эозинофильной астмой средней тяжести могут иметь астму средней тяжести с уровнем эозинофилов в крови, превышающим или равным 150 эозинофилам в мкл крови за последние 12 месяцев, превышающим или равным 200 эозинофилам в мкл крови за последние 12 месяцев, превышающим или равным 300 эозинофилам в мкл крови за последние 12 месяцев, или превышающим или равным 350 эозинофилам в мкл крови за последние 12 месяцев.

«Тяжелая эозинофильная астма» представляет собой тяжелую астму с эозинофильным фенотипом. Например, субъекты с тяжелой эозинофильной астмой могут иметь тяжелую астму с уровнем эозинофилов в крови, превышающим или равным 150 эозинофилам в мкл крови за последние 12 месяцев, превышающим или равным 200 эозинофилам в мкл крови за последние 12 месяцев, превышающим или равным 300 эозинофилам в мкл крови за последние 12 месяцев, или превышающим или равным 350 эозинофилам в мкл крови за последние 12 месяцев.

Субъекты с тяжелой эозинофильной астмой также могут соответствовать одному или более критериям, описанным в таблице 5.

Таблица 5.

Субъект страдает от тяжелой эозинофильной астмы при соответствии следующим критериям:
1) Наличие у субъекта клинических признаков тяжелой рефрактерной астмы, сходных с признаками, указанными Американским торакальным обществом по

рефрактерной астме (162 Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2341 (2000)) в течение  $\geq 12$  месяцев.

2) Наличие подробных документированных требований по регулярному лечению субъекта высокими дозами ИГКС (ингаляционных кортикостероидов) (т.е.  $\geq 880$  мкг/сутки флутиказона пропионата или эквивалентной суточной дозы) с или без поддерживающей дозы ПКС (пероральных кортикостероидов) в последние 12 месяцев.

3) Наличие подробных документированных требований по контролируемому лечению субъекта, например, бета-2-агонистом длительного действия, антагонистом лейкотриеновых рецепторов или теофиллином в последние 12 месяцев.

4) Наличие у субъекта персистирующей обструкции воздушного потока, о чем свидетельствует уровень  $ОФВ_1 < 80\%$  перед введением бронхолитика; прогнозируемая, зарегистрированная или максимальная суточная изменчивость потока  $> 20\%$  в течение 3 или более дней.

5) Наличие у субъекта воспаления дыхательных путей, которое может иметь эозинофильную природу, на что указывает одна из следующих характеристик, присутствующих в текущий момент времени или задокументированных в предыдущие 12 месяцев:

– Повышенный уровень эозинофилов в периферической крови  $\geq 300$ /мкл, связанный с астмой или

– Уровень эозинофилов в мокроте  $\geq 3\%$  или

– Уровень выдыхаемого оксида азота  $\geq 50$  частей на миллиард или

– Быстрое ухудшение контроля над астмой (на основании документированного анамнеза или объективных показателей) после снижения регулярно вводимой поддерживающей дозы ингаляционного или перорального кортикостероида на  $\leq 25\%$  в предыдущие 12 месяцев.

8) Наличие у субъекта ранее подтвержденного анамнеза двух или более обострений астмы, требующих лечения пероральными или системными кортикостероидами в предшествующие 12 месяцев, несмотря на введение высоких доз ИГКС и дополнительного контролирующего лекарственного средства. У субъектов, получающих поддерживающую дозу ПКС с высокой дозой ИГКС плюс контролирующий препарат, для лечения обострений с помощью ПКС, доза ПКС должна быть в два или более выше дозы ИГКС.

9) У субъекта имеется астма, документально подтвержденная либо:

– обратимой обструкцией дыхательных путей ( $ОФВ_1 \geq 12\%$  и 200 мл) в текущий момент времени или документально подтвержденной в предыдущие 12 месяцев или

- гиперреактивностью дыхательных путей (провокационная концентрация метахолина  $<8$  мг/мл, вызывающая снижение  $ОФВ_1$  на 20%, или провокационная доза гистамина  $<7,8$  мкмоль, вызывающая снижение  $ОФВ_1$  на 20%), документально подтвержденная в предшествующие 12 месяцев, или
- изменчивость воздушного потока  $ОФВ_1$  между двумя клиническими исследованиями на  $\geq 20\%$ , документально подтвержденная в предшествующие 12 месяцев ( $ОФВ_1$ , зарегистрированный во время обострения, недействителен), или
- изменчивость воздушного потока, на что указывает суточная изменчивость на  $>20\%$  в максимальном потоке, наблюдаемая в течение 3 или более дней.

Важно отметить, что в начале лечения субъекты с тяжелой эозинофильной астмой в соответствии с этими критериями могут иметь менее 150 эозинофилов в мкл крови.

28Y042-7F11-1 представляет собой моноклональное антитело, содержащее аминокислотную последовательность тяжелой цепи, показанную в SEQ ID NO: 1, и аминокислотную последовательность легкой цепи, показанную в SEQ ID NO: 2. 28Y042-7F11-1 и антигенсвязывающие белки по изобретению, в частности молекулы антител, содержащие CDR тяжелой цепи и CDR легкой цепи 28Y042-7F11-1, могут быть использованы для лечения тяжелой эозинофильной астмы в соответствии со способами по изобретению. Например, 28Y042-7F11-1 или антигенсвязывающие белки по настоящему изобретению могут быть назначены в качестве дополнительного поддерживающего лечения тяжелой эозинофильной астмы, о наличии которой свидетельствует уровень эозинофилов в крови, превышающий или равный 300 клеток/мкл в последние 12 месяцев, и/или уровень эозинофилов в крови, превышающий или равный 150 клеткам/мкл в начале лечения, и/или уровень эозинофилов в крови меньше 150 клеток/мкл в начале лечения, у пациентов. Альтернативно, 28Y042-7F11-1 или антигенсвязывающие белки по настоящему изобретению могут быть назначены в качестве дополнительного поддерживающего лечения тяжелой эозинофильной астмы, о наличии которой свидетельствует уровень эозинофилов в крови, превышающий или равный 300 клеток/мкл в последние 12 месяцев, и/или уровень эозинофилов в крови, превышающий или равный 150 клеткам/мкл в начале лечения, у пациентов. 28Y042-7F11-1 или антигенсвязывающие белки по настоящему изобретению могут быть назначены в качестве дополнительного поддерживающего лечения тяжелой эозинофильной астмы, о наличии которой свидетельствует уровень эозинофилов в крови, превышающий или равный 300 клеток/мкл в последние 12 месяцев и/или уровень эозинофилов в крови, превышающий или равный 150 клеткам/мкл в начале лечения, у пациентов. Такие пациенты могут быть в возрасте от 12 лет и старше. Лечение с помощью 28Y042-7F11-1 или антигенсвязывающих белков по изобретению может облегчить обострения астмы у пациентов (например, пациентов с анамнезом обострения). Способы по изобретению можно использовать при назначении лечения с помощью 28Y042-7F11-1 или антигенсвязывающих белков по изобретению (т.е. такое лечение с помощью 28Y042-7F11-1 можно комбинировать со способами по

изобретению). Лечение с помощью 28Y042-7F11-1 и антигенсвязывающих белков по изобретению позволяет:

а) снизить частоту обострения. По сравнению с плацебо лечение с помощью 28Y042-7F11-1 или антигенсвязывающих белков по изобретению может снижать частоту 1) клинически значимых обострений, 2) обострений, требующих госпитализации или экстренной медицинской помощи, и 3) обострений, требующих госпитализации. Это преимущество может потенциально привести к снижению заболеваемости и смертельных исходов из-за астмы;

б) уменьшить суточную дозу ПКС: Лечение с помощью 28Y042-7F11-1 или антигенсвязывающих белков по изобретению может позволить субъектам снизить суточную дозу параллельно принимаемого кортикостероида без потери контроля над астмой. У субъектов, получающих лечение 28Y042-7F11-1 или композициями антигенсвязывающих белков по изобретению, может быть уменьшен медианный процент, относительно исходного уровня, суточной пероральной дозы кортикостероида (ПКС) по сравнению с пациентами, получающими плацебо. Кроме того, у субъектов, получающих лечение 28Y042-7F11-1 или композициями антигенсвязывающих белков по изобретению, снижение дозы ПКС может достигать 32% по сравнению с субъектами, получающими плацебо;

с) улучшить функцию легких: Клинически значимые изменения в  $ОФВ_1$  до и после приема бронхолитика могут быть продемонстрированы лечением 28Y042-7F11-1 или антигенсвязывающими белками по изобретению по сравнению с плацебо. Любые улучшения в функции легких имеют особое клиническое значение в этой группе пациентов, так как большинство из них получают максимальную терапию астмы, включая высокие дозы ИГКС (ингаляционные кортикостероиды) и/или ПКС плюс контролирующее лекарственное средство;

д) улучшить контроль астмы: Статистически значимые и клинически релевантные улучшения можно отслеживать по опроснику ACQ-5 во время терапии 28Y042-7F11-1 или антигенсвязывающими белками по изобретению по сравнению с плацебо, что является свидетельством достижения контроля над астмой у субъектов при добавлении к имеющемуся лечению астмы 28Y042-7F11-1 или антигенсвязывающих белков по изобретению;

е) улучшить качество жизни: Лечение 28Y042-7F11-1 или антигенсвязывающими белками по изобретению позволяет продемонстрировать статистически значимые и клинически релевантные изменения в баллах SGRQ по сравнению с плацебо. Субъекты могут испытывать заметное облегчение симптомов астмы и улучшения способности выполнять повседневные действия;

ф) обеспечить устойчивую эффективность и фармакодинамический эффект: В течение 32- и/или 52-недельного курса лечения можно наблюдать устойчивое снижение частоты обострений астмы и уменьшения эозинофилов в крови, а также улучшение функции легких, контроля астмы и качества жизни без развития толерантности; и

г) уменьшить уровень эозинофилов в крови. Лечение композициями, содержащими 28Y042–7F11–1 или антигенсвязывающие белки по изобретению, может привести к быстрому снижению эозинофилов крови у субъекта.

В способах по изобретению «астма» может представлять собой «тяжелую астму». В способах по изобретению «астма» также может представлять собой «легкую астму», «астму средней тяжести» или «тяжелую астму, «легкую эозинофильную астму», «эозинофильную астму средней тяжести» или «тяжелую эозинофильную астму», как обсуждалось выше. Лечение композициями, содержащими 28Y042–7F11–1 или антигенсвязывающие белки по изобретению, можно использовать для лечения этих состояний в соответствии со способами по изобретению.

В способах по изобретению «астма» может представлять собой «неконтролируемую эозинофильную астму». Субъекты с неконтролируемой эозинофильной астмой соответствуют критериям, описанным в таблице 6.

Таблица 6.

Субъект имеет неконтролируемую эозинофильную астму при соответствии следующим критериям:
1) У субъекта в анамнезе диагностирована астма, по меньшей мере, в течение предшествующих 12 месяцев.
2) Субъекту был назначен ежедневный прием ИГКС (ингаляционного кортикостероида) в средних или высоких дозах плюс ДДБА (бета–агонисты длительного действия) в течение по меньшей мере предшествующих 12 месяцев.
3) Принимаемая субъектом доза других препаратов, контролирующих астму, должна быть стабильной, по меньшей мере, в течение предыдущих 30 дней.
4) Субъект испытал по меньшей мере 2 документально подтвержденных обострения астмы в течение предшествующих 12 месяцев, которые требовали применения пульс–терапии системным кортикостероидом.

Лечение композициями, содержащими 28Y042–7F11–1 или антигенсвязывающие белки по изобретению, можно использовать для лечения неконтролируемой эозинофильной астмы в соответствии со способами по изобретению.

В способах по изобретению «астма» может представлять собой «эозинофильную астму». Субъекты с эозинофильной астмой соответствуют критериям, описанным в таблице 7.

Таблица 7.

Субъект имеет эозинофильную астму при соответствии следующим критериям:
1) Пациент имеет ранее поставленный диагноз астмы.
2) У пациента было по меньшей мере 1 обострение астмы, требующее перорального, внутримышечного (в/м) или внутривенного (в/в) введения кортикостероида в течение не

менее 3 дней в предшествующие 12 месяцев.

3) На текущий момент уровень эозинофилов в крови у пациента составляет не менее 400/мкл.

4) До введения бета-агониста у пациента наблюдалась обратимая обструкция дыхательных путей на уровне не менее 12%.

5) Бал ACQ у пациента не менее 1,5.

6) Пациент принимает ингаляционный флутиказон или эквивалент в суточной дозе не менее 440 мкг. Допускается длительное пероральное применение кортикостероидов (не более 10 мг/сутки преднизона или эквивалента). Базисная терапия астмы у пациента (включая, помимо прочего, ингаляционные кортикостероиды, пероральные кортикостероиды до максимальной дозы 10 мг преднизона в сутки или эквивалента, антагонистов лейкотриена, ингибиторов 5-липоксигеназы или кромолина) должна быть стабильной в течение предшествующих 30 дней.

В способах по изобретению «астма» может представлять собой «суб-эозинофильную астму». Субъекты с суб-эозинофильной астмой соответствуют критериям, описанным в таблице 8.

Таблица 8

Субъект имеет суб-эозинофильную астму при соответствии следующим критериям:

1) Пациент имеет ранее поставленный диагноз астмы.

2) У пациента было по меньшей мере 1 обострение астмы, требующее перорального, внутримышечного (в/м) или внутривенного (в/в) введения кортикостероида в течение не менее 3 дней в предшествующие 12 месяцев.

3) На текущий момент уровень эозинофилов в крови у пациента составляет менее 400/мкл.

4) До введения бета-агониста у пациента наблюдается обратимая обструкция дыхательных путей на уровне не менее 12%.

5) Бал ACQ у пациента не менее 1,5.

6) Пациент принимает ингаляционный флутиказон или эквивалент в суточной дозе не менее 440 мкг. Допускается длительное пероральное применение кортикостероидов (не более 10 мг/сутки преднизона или эквивалента). Базисная терапия астмы у пациента (включая, помимо прочего, ингаляционные кортикостероиды, пероральные кортикостероиды до максимальной дозы 10 мг преднизона в сутки или эквивалента, антагонистов лейкотриена, ингибиторов 5-липоксигеназы или кромолина) должна быть стабильной в течение предшествующих 30 дней.

Лечение композициями, содержащими 28Y042-7F11-1 или антигенсвязывающие

белки по изобретению, можно использовать для лечения эозинофильной астмы, а также суб-эозинофильной астмы в соответствии со способами по изобретению.

Используемый в настоящем описании термин «буллезный пемфигоид» (БП) означает острое или хроническое аутоиммунное заболевание кожи, включающее образование пузырей, более известных как буллы, в пространстве между слоями кожи, эпидермисом и дермой. БП является наиболее распространенным аутоиммунным пузырчатым заболеванием кожи. Он характерен для пожилых людей (> 70 лет) с ежегодной заболеваемостью от 5 до 35 на миллион. Заболеваемость БП резко увеличивается в среднем на 17% в год. БП часто начинается с сильно зудящих поражений кожи, напоминающих экзему или крапивницу, до появления пузырьков и пузырей. У 10–30% пациентов БП также поражает слизистую оболочку полости рта. Степень тяжести заболевания можно определить с помощью индекса интенсивности поражения кожи при аутоиммунных буллезных заболеваниях (ABSIS), по которому оценивают пораженную область, а также активность заболевания. Заболевание возникает из-за аутоиммунного ответа на структурные компоненты компонентами соединительных комплексов адгезии, приводящих к повреждению дермально-эпидермального соединения с образованием субэпидермального пузыря. В частности, были идентифицированы аутореактивные В- и Т-клеточные ответы на гемидесмосомальные антигены BP180 и BP230. Уровни аутоантител к BP180 в сыворотке отражают степень тяжести и активность заболевания. Т-клетки представляют собой клетки памяти CD4+, продуцирующие цитокины Th1 и Th2, в основном IL-4, IL-5 и IL-13. IL-5, а также эотаксин в избытке обнаружены в содержимом пузыря. Продуцирование IL-5 действительно связано с эозинофилией крови и значительной инфильтрацией кожи пациентов с БП эозинофилами. Считается, что эозинофилы принимают активное участие в образовании пузырей, выделяя токсичные гранулярные белки (ESP, MBP) и протеолитические ферменты.

Используемый в настоящем описании термин «эозинофильный эзофагит» (ЕоЕ) означает аллергическое воспалительное состояние пищевода, в котором участвуют эозинофилы. Симптомами являются затруднение глотания, приема пищи и изжога. ЕоЕ характеризуется плотным инфильтратом лейкоцитов эозинофильного типа в эпителиальном слое слизистой оболочки пищевода. Считается, что ЭО является аллергической реакцией на употребляемую пищу, учитывая важную роль, которую эозинофилы играют в аллергических реакциях. Для диагностики ЕоЕ можно использовать диагностическую панель ЕоЕ. ЕоЕ также может быть диагностирован, если гастроэзофагеальный рефлюкс не отвечает на 6-недельное испытание ингибиторами протонного насоса с высокими дозами (PPI) два раза в сутки или если отрицательный результата в исследовании рН в амбулаторных условиях исключает гастроэзофагеальную рефлюксную болезнь (ГЭРБ). Эндоскопически в стенке пищевода могут быть видны гребни, борозды или кольца. Иногда в пищеводе могут возникать многочисленные кольца, которые и обусловили появление термина «гофрированный пищевод» или «кошачий пищевод» из-за сходства колец с пищеводом кошки. Наличие белого экссудата в

пищеводом также подтверждает диагноз. При биопсии, взятой во время эндоскопии, в поверхностном эпителии обычно можно увидеть многочисленные эозинофилы. Для постановки диагноза требуется минимум 15 эозинофилов в поле зрения при высоком увеличении. Эозинофильное воспаление не ограничивается только пищеводом и распространяется на весь желудочно-кишечный тракт. Также могут присутствовать сильно дегранулированные эозинофилы, а также микроабсцессы и расширение базального слоя. Радиологически термин «кольцевидный пищевод» использовали для обозначения эозинофильного эзофагита в исследованиях глотания с барием для визуализации с помощью контрастного вещества переходных поперечных складок, иногда наблюдаемых при пищеводном рефлюксе (называемом «кошачий пищевод»).

Лечение композициями, содержащими 28Y042-7F11-1 или антигенсвязывающие белки по изобретению, можно использовать для лечения ХОБЛ в соответствии со способами по изобретению.

Субъекты с «хронической обструктивной болезнью легких» (ХОБЛ) могут соответствовать одному или более следующим критериям: а) ранее поставленный диагноз ХОБЛ: субъекты с клинически документированным анамнезом ХОБЛ в течение не менее 1 года в соответствии с определением Американского торакального общества/Европейского респираторного общества; б) степень тяжести ХОБЛ: Субъекты могут иметь следующие признаки: измеренное отношение объем форсированного выдоха за одну секунду до и после ингаляции сальбутамола/форсированная жизненная емкость (ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕ) <0,70 для подтверждения диагноза ХОБЛ; измеренный процент ОФВ<sub>1</sub> после ингаляции сальбутамола >20 процентов и ≤ 80 процентам от прогнозируемых нормальных значений, рассчитанных с помощью эталонных уравнений Национального состояния здоровья и питания III (NHANES); в) история обострений: подробно документированный анамнез (например, проверка медицинских карт) за 12 месяцев: не менее двух обострений ХОБЛ средней тяжести. Средняя (умеренная) тяжесть означает использование системных кортикостероидов (внутримышечно, внутривенно или перорально) и/или лечение антибиотиками, или по меньшей мере одно тяжелое обострение ХОБЛ. Тяжелую степень определяют как необходимость госпитализации. Примечание: Должно быть по меньшей мере одно обострение при приеме субъектом ингаляционного кортикостероида (ИГКС) плюс бета-агонистов длительного действия (ДДБА) плюс мускаринового антагониста длительного действия (ДДМА). Примечание: Предыдущее использование одних только антибиотиков не квалифицируется как умеренное обострение, если только оно не было предпринято специально для лечения ухудшающихся симптомов ХОБЛ; и д) сопутствующая терапия ХОБЛ: подробно документированные требования по применению оптимизированных стандартов фоновой терапии (SoC), которая включает ИГКС плюс 2 дополнительных лекарственных средства от ХОБЛ (т.е. тройную терапию) в течение 12 месяцев и соответствует следующим критериям: непосредственно перед визитом лечащего врача, использование ингаляционного кортикостероида в течение минимум 3 месяцев (в дозе ≥500

микрограммов (мкг)/сутки плюс эквивалентная доза флутиказона пропионата); или ДДБА и ДДМА.

Лечение композициями, содержащими 28Y042–7F11–1 или антигенсвязывающие белки по изобретению, можно использовать для лечения ХОБЛ в соответствии со способами по изобретению.

Используемый в настоящем описании термин «эозинофильный гранулематоз с полиангиитом» (ЭГПА) означает аутоиммунное состояние, которое вызывает воспаление мелких и средних кровеносных сосудов (васкулит) у лиц с аллергической гиперчувствительностью дыхательных путей (атопией). ЭГПА также может упоминаться как синдром Чарга–Стросса (CSS) или аллергический гранулематоз. ЭГПА обычно проявляется в три этапа. Ранний (продромальный) этап характеризуется воспалением дыхательных путей; почти все пациенты испытывают астму и/или аллергический ринит. Второй этап характеризуется аномально высоким количеством эозинофилов (гиперэозинофилия), что вызывает повреждение тканей, чаще всего легких и пищеварительного тракта. Третий этап состоит из васкулита, который в конечном итоге может привести к гибели клеток и может быть опасным для жизни.

Субъекты с ЭГПА могут соответствовать одному или более из следующих критериев: а) астма; б) уровень эозинофилов в крови превышает 10% от дифференциального числа лейкоцитов; в) наличие мононевропатии или полиневропатии; д) нефиксированные легочные инфильтраты; е) наличие аномалий околоносовых пазух; и е) гистологическое свидетельство наличия внесосудистых эозинофилов. При классификации считается, что пациент имеет ЭГПА, если по меньшей мере четыре из шести предыдущих критериев являются положительными.

Лечение композициями, содержащими 28Y042–7F11–1 или антигенсвязывающие белки по изобретению, можно использовать для лечения ЭГПА в соответствии со способами по изобретению. Композиции по изобретению можно вводить пациенту с ЭГПА в количестве 300 мг один раз каждые 4 недели.

Используемый в настоящем описании термин «гиперэозинофильный синдром» (ГЭК) означает заболевание, характеризующееся устойчиво повышенным количеством эозинофилов ( $\geq 1500$  эозинофилов/ $\text{мм}^3$ ) в крови в течение не менее шести месяцев без какой-либо видимой причины, с вовлечением либо сердца, нервной системы, либо костного мозга.

Субъекты с гиперэозинофильным синдромом могут соответствовать одному или более из следующих критериев: а) документально подтвержденный анамнез гиперэозинофильного синдрома; б) количество эозинофилов в крови более 1500 клеток в течение 6 месяцев; в) признаки и симптомы поражения органов; и д) отсутствие признаков паразитарных, аллергических или других причин эозинофилии после комплексной оценки.

Лечение композициями, содержащими 28Y042–7F11–1 или антигенсвязывающие белки по изобретению, можно использовать для лечения гиперэозинофильного синдрома

в соответствии со способами по изобретению.

Используемый в настоящем описании термин «носовые полипы» означает заболевание, характеризующееся наличием полипов в полости носа. Такие полипы могут находиться в верхней части полости носа и/или могут возникать внутри остиомеатального комплекса.

Субъекты с носовыми полипами могут соответствовать одному или более из следующих критериев: а) документально подтвержденный анамнез наличия носовых полипов; или б) носовые полипы, обнаруженные при осмотре (например, при эндоскопическом осмотре).

Лечение композициями, содержащими 28Y042-7F11-1 или антигенсвязывающие белки по изобретению, можно использовать для лечения носовых полипов в соответствии со способами по изобретению.

Используемый в настоящем описании термин «атопический дерматит» означает воспалительное состояние кожи, характеризующееся хроническим зудом, лихенификацией, ксерозом, эритематозными папулами и бляшками.

В способах по изобретению «атопический дерматит» может быть «атопическим дерматитом средней тяжести или тяжелым». Субъекты с атопическим дерматитом средней тяжести или тяжелым также могут соответствовать одному или более критериям, описанным в таблице 9.

Таблица 9.

Субъект имеет атопический дерматит от умеренной степени до тяжелой, если он соответствует следующим критериям (например, всем или «одному или более»):
--

- |   |
|---|
| <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Диагноз атопического дерматита в соответствии с критериями Ханифина и Райка, пересмотренными Эйхенвальдом (Eichenfield et al., 70 J Am Acad Dermatol 338 (2014)). См. таблицу 10.</li> <li>2. Диагностика атопического дерматита <math>\geq 2</math> года до начала лечения.</li> <li>3. Глобальная оценка медицинского работника (HGA; иногда ее также называют глобальной оценкой исследователя или IGA) <math>\geq 3</math> до начала лечения. См. таблицу 11.</li> <li>4. Атопический дерматит с вовлечением <math>\geq 10\%</math> BSA до начала лечения. См. таблицу 12.</li> <li>5. Оценка индекса распространенности и тяжести экземы (EASI) <math>\geq 16</math> до начала лечения. См. таблицу 13.</li> <li>6. Абсолютный уровень эозинофилов в крови <math>\geq 350</math> клеток/мкл до начала лечения.</li> <li>7. Необязательно, применяемое безрецептурное, немедикаментозное (без активного ингредиента) смягчающее средство два раза в сутки в течение не менее 7 дней непосредственно перед началом лечения.</li> <li>8. До начала лечения имеется хотя бы одно из следующего: а) неадекватный ответ <math>\leq 6</math> месяцев на стабильный режим рецептурного местного лечения от атопического</li> </ol> |
|---|

дерматита; b) плохая переносимость назначенного лекарственного средства от atopического дерматита для местного применения; c) беспокойство о потенциальных побочных эффектах от назначенных препаратов от atopического дерматита для местного применения, таких как истончение кожи или повышенный риск подавления гипоталамо–гипофизарно–надпочечниковой [HPA] системы; и/или d) неадекватный ответ на оптимизацию нефармакологических мер при atopическом дерматите, таких как увлажнители. «Неадекватный ответ» на стабильный режим назначенных лекарственных препаратов для местного применения для лечения atopического дерматита (таких как топические кортикостероиды или топические ингибиторы кальциневрина от средних до высокоэффективных) определяют как неспособность достичь и сохранить ремиссию или состояние низкой активности заболевания (что эквивалентно баллу HGA=от 0 [чистое] до 2 [умеренное]) несмотря на лечение в течение рекомендуемой продолжительности, указанной на этикетке, или максимальной продолжительности, рекомендованной для лечения субъекта, в зависимости от того, что короче.

Субъектами с atopическим дерматитом от умеренной до тяжелой степени могут быть дети в возрасте до 18 лет, взрослые в возрасте от 18 лет и старше или взрослые в возрасте от 18 до 70 лет, включительно. Субъектами могут быть мужчины или женщины. Желательно, чтобы женщины, принимающие лечение, не были беременными, кормящими грудью и/или не имели возможности забеременеть.

Диагноз atopического дерматита основан на критериях Ханифина и Райка, пересмотренных Эйхенвальдом. См. Таблицу 10 и Eichenfield et al., 70 J Am Acad Dermatol 338 (2014).

Таблица 10.

Критерии диагностики atopического дерматита
<p><b>ОБЯЗАТЕЛЬНЫЕ ПРОЯВЛЕНИЯ</b> – Должны присутствовать:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Зуд</li> <li>• Экзема (острая, подострая, хроническая)</li> </ul> <p>o Типичная морфология и специфические для возраста паттерны*</p> <p>o Хроническое или рецидивирующее течение</p> <p><u>*Паттерны включают:</u></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Вовлечение лица, шеи и областей сгибов суставов у младенцев и детей</li> <li>2. Присутствующие в настоящий момент или предыдущие поражения на сгибательных поверхностях в любой возрастной группе</li> <li>3. Не вовлечены паховые области и области подмышечных впадин</li> </ol> <p><b>ВАЖНЫЕ ПРОЯВЛЕНИЯ</b> – Видны в большинстве случаев и являются дополнительным подтверждением диагноза:</p>

- Начало заболевания в раннем возрасте
- Атопия
  - o Личный анамнез больного и/или семейный анамнез
  - o Повышенное содержание иммуноглобулина E
- Ксероз

**СВЯЗАННЫЕ С ЗАБОЛЕВАНИЕМ ПРОЯВЛЕНИЯ.** Эти клинические ассоциации помогают предположить диагноз атопического дерматита, но слишком неспецифичны, чтобы их можно было использовать для определения или выявления атопического дерматита и используются для научных и эпидемиологических исследований:

- Атипичный сосудистый ответ (например, бледность лица, белый дермографизм, реакция бланш–задержки)
- Волосистой кератоз/себорейная экзема/ладонная исчерченность/ихтиоз
- Глазные/периорбитальные изменения
- Другие локальные изменения (например, периоральные изменения/поражения областей вокруг ушных раковин)
- Перифолликулярная акцентуация/лихенизация/зудящие поражения

**ОСОБЫЕ СОСТОЯНИЯ.** Следует отметить, что диагноз атопического дерматита зависит от исключения таких состояний, как:

- Чесотка
- Себорейный дерматит
- Контактный дерматит (раздражитель или аллергия)
- Ихтиоз
- Кожная T–клеточная лимфома
- Псориаз
- Фотодерматоз
- Первичный иммунодефицит
- Эритродермия другой этиологии

Глобальная врачебная оценка (HGA) является клиническим инструментом для оценки текущего состояния/степени тяжести атопического дерматита у субъекта. См. Rehal et al, 6 PLoS ONE e17520 (2011) и таблицу 11. Это статическая 5–балльная морфологическая оценка общей тяжести заболевания, определяемая квалифицированным медицинским работником, при которой в качестве руководства используются клинические проявления эритемы, инфильтрации, папулезного образования и образования корок. Оценку по HGA выполняют без ссылки на предыдущие баллы. Каждый раз оценку следует выполнять в виде визуальной оценки на текущий момент времени «усредненной»

степени тяжести всех пораженных участков.

Таблица 11.

Глобальная врачебная оценка (HGA)		
Балл/степень		Описание
0	Чистый	Отсутствие эритемы или уплотнения/папуллезности и корок; возможно остаточное обесцвечивание
1	Практически чистый	Возможно наличие следов слабой розовой эритемы, почти без уплотнения/папуллезности, а также без мокнутия/корок
2	Слабая	Возможно наличие слабой розовой эритемы с уплотнением/папуллезностью с едва заметными возвышениями, без мокнутия/корок
3	Средняя	Возможно наличие отчетливо различимой темно-красной эритемы с уплотнением/папуллезностью с отчетливо заметными возвышениями, но не выраженными; возможно небольшое мокнутие/корки
4	Тяжелая	Возможно наличие глубокой или ярко-красной эритемы с уплотнением/папуллезностью с выраженными возвышениями (глубокая четкая граница), с мокнутием/корками

Оценка площади поверхности тела (в %) (%BSA) является оценкой общей поверхности кожи (в %), пораженной атопическим дерматитом. См. таблицу 12. Оценка %BSA может быть выполнена путем осмотра воспаленных областей в каждой из 4 областей поверхности тела по отдельности: головы и шеи, верхних конечностей, туловища и нижних конечностей, и каждая из этих областей тела потенциально может быть вовлеченной до 100%. Оценщики (например, медицинские работники) могут оценить процент вовлеченной кожи в каждой из областей для получения балла %BSA этой области, который затем умножают на соответствующий коэффициент пропорциональности для получения значения %BSA для вовлеченной области (для субъектов в возрасте  $\geq 8$  лет: 0,1 для головы, 0,2 для верхних конечностей, 0,3 для туловища и 0,4 для нижних конечностей). Полученные для областей значения %BSA суммируют для получения общего значения вовлеченного %BSA. Балл площади поражения определенной области в %BSA также можно использовать как часть матрицы для расчета показателя EASI.

Таблица 12.

Площадь поверхности тела
<ul style="list-style-type: none"> <li>Балл пораженной площади в %BSA может быть определен путем выполнения описанных в настоящей заявке следующих 3 шагов для расчета общего вовлечения в %BSA.</li> </ul>

• Шаг 1: Оценить вовлечение каждой области тела в % BSA; Шаг 2: Умножить % вовлечения на долю от общей площади тела; Шаг 3: Вычислить общее вовлечение в % BSA. Ниже приведен пример того, как можно рассчитать % общей вовлеченной BSA.

Область тела	% вовлечения (0–100% каждой области)	% вовлечения x коэффициент пропорциональности	Региональное вовлечение в % BSA
Голова и шея		___ x 0,1	
Верхние конечности		___ x 0,2	
Туловище		___ x 0,3	
Нижние конечности		___ x 0,4	
Общий вовлеченный %BSA (сумма 4 значений) = _____			

Система оценки EASI – это стандартизированный клинический инструмент для оценки атопического дерматита, который учитывает общую степень вовлеченной площади поверхности тела (%BSA) и балл степени тяжести каждого из клинических проявлений: эритемы, уплотнения, папулезности, эксфолиации и лихенификации. См. Hanifin et al., 10 Exp Dermatol 11 (2001); Rullo et al., 36 Allergol et Immunopathol 201 (2008) и таблицу 13. Балл площади поражения в % BSA на основе оценки %BSA необходимо использовать как часть матрицы для расчета оценки EASI. Баллы степени тяжести для каждого из клинических проявлений (эритемы, уплотнения, папулезности, эксфолиации и лихенификации) оценивают по 4–балльной шкале (от 0 до 3) для каждой из 4 областей тела (головы и шеи, верхних конечностей, нижних конечностей и туловища). Баллы степени тяжести для каждого из проявлений суммируют для каждой области и умножают на балл пораженной площади в % BSA и на соответствующий коэффициент пропорциональности (для субъектов в возрасте  $\geq 8$  лет, 0,1 для головы, 0,2 для верхних конечностей, 0,3 для туловища и 0,4 для нижних конечностей), чтобы получить балл EASI для областей. Затем баллы EASI для областей суммируют с получением окончательного балла EASI. Балл EASI является статической оценкой, выполненной без ссылки на предыдущие баллы.

Таблица 13.

Индекс тяжести заболевания и площади поражения при экземе (EASI)
После определения вовлеченности каждой области в % BSA, каждый процент преобразуют в балл пораженной площади на основе следующих определений:
0=не вовлечена
1 = <10%
2=10%–29%
3=30%–49%
4=50%–69%

5=70%–89%

6=90%–100%

**Степень тяжести проявления:** Оценить степень тяжести каждого проявления по шкале от **0 до 3:**

– Взять среднее значение степени тяжести для всей вовлеченной области.

– Могут быть использованы половинные значения целых чисел, например 2,5

0 – отсутствует

1 – слабая

2 – умеренная

3 – тяжелая

**Таблица оценки:**

Область тела	Эритема (0–3)	Уплотнение/ папулезность (0–3)	Эксориация (0–3)	Лихенификация (0–3)	Балл для области (0–6)	Коэффициент	Балл на область тела
Голова/ шея	( +	+	+	)	x	x0,1	
Туловище	( +	+	+	)	x	x0,3	
Верхние конечности	( +	+	+	)	x	x0,2	
Нижние конечности	( +	+	+	)	x	x0,4	
Итоговая оценка EASI является суммой баллов по 4 областям:							(0–72)

Терапевтически эффективные количества 28Y042–7F11–1 или антигенсвязывающих белков по изобретению могут быть использованы для лечения пациента с атопическим дерматитом или для уменьшения абсолютного количества эозинофилов в крови у таких пациентов. Такой атопический дерматит может быть атопическим дерматитом средней тяжести или тяжелым атопическим дерматитом.

Лечение атопического дерматита, такого как атопический дерматит умеренной тяжести или тяжелый атопический дерматит, с помощью 28Y042–7F11–1 или антигенсвязывающих белков по изобретению в соответствии со способами по изобретению может обеспечить по меньшей мере один результат, выбранный из группы, состоящей из:

а) балл HGA 0 или 1 и по меньшей мере улучшение показателя HGA на 2 балла

(например, относительно начального балла HGA);

b) уменьшение индекса тяжести заболевания и площади поражения при экземе (EASI) (например, относительно начального показателя EASI);

c) уменьшение процента пораженной общей площади поверхности тела (%BSA) (например, относительно начального %BSA); и/или

d) заключение медицинского работника об отсутствии у субъекта атопического дерматита в соответствии с критериями Ханифина и Райка, пересмотренными Эйхенвальдом (Eichenfield et al., 70 J Am Acad Dermatol 338 (2014)).

Балл EASI после лечения в соответствии со способами по изобретению может составлять менее 16, например от примерно 0 до менее 16. Балл EASI после лечения также может составлять от примерно 0 до примерно 15, от примерно 0 до примерно 14, от примерно 0 до примерно 13, от примерно 0 до примерно 12, от примерно 0 до примерно 11, от примерно 0 до примерно 10, от примерно 0 до примерно 9 от примерно 0 до примерно 8, от примерно 0 до примерно 7, от примерно 0 до примерно 6, от примерно 0 до примерно 5, от примерно 0 до примерно 4, от примерно 0 до примерно 3, от примерно 0 до примерно 2, от примерно 0 до примерно 1, от примерно 1 до менее 16, от примерно 2 до менее 16, от примерно 3 до менее 16, от примерно 4 до менее 16, от примерно 5 до менее 16, от примерно 6 до менее 16, от примерно 7 до менее 16, от примерно 8 до менее 16, от примерно 9 до менее 16, от примерно 10 до менее 16, от примерно 11 до менее 16, от примерно 12 до менее 16, от примерно 13 до менее 16, от примерно 14 до менее 16, от примерно 15 до менее 16, от примерно 2 до примерно 15, от примерно 3 до примерно 14, от примерно 4 до примерно 13, от примерно 5 до примерно 12, от примерно 6 до примерно 11, от примерно 7 до примерно 10, от примерно 8 до примерно 9, от примерно 0 до примерно 8, от примерно 8 до менее 16, от примерно 0 до примерно 4, от примерно 4 до примерно 8, от примерно 8 до примерно 12 и от примерно 12 до менее 16.

%BSA после лечения в соответствии со способами по настоящему изобретению может составлять менее примерно 10%, например от примерно 0% до менее 10%. %BSA после лечения также может составлять от примерно 1% до менее 10%, от примерно 2% до менее 10%, от примерно 3% до менее 10%, от примерно 4% до менее 10%, от примерно 5% до менее 10%, от примерно 6% до менее 10%, от примерно 7% до менее 10%, от примерно 8% до менее 10%, от примерно 9% до менее 10%, от примерно 0% до примерно 9%, от примерно 0% до примерно 8%, от примерно 0% до примерно 7%, от примерно 0% до примерно 6%, от примерно 0% до примерно 5%, от примерно 0% до примерно 4%, от примерно 0% до примерно 3%, от примерно 0% до примерно 3%, от примерно 0% до примерно 2%, от примерно 0% до примерно 1%, от примерно 0% до примерно 5%, от примерно 5% до менее 10%, от примерно 0% до примерно 2,5%, от примерно 2,5% до примерно 5%, от примерно 5% до примерно 7,5% и от примерно 7,5% до менее 10%.

Используемый в настоящем описании термин «антигенсвязывающий белок» относится к выделенным антителам, фрагментам антител (например, Fab и т.д.) и другим белковым конструкциям, полученным из антител, таким как содержащие антитело

домены (например, доменные антитела и т.д.), которые способны связываться с человеческим IL-5 (SEQ ID NO: 11).

Используемый в настоящем описании термин «антитело» относится к молекулам с иммуноглобулино-подобным доменом (например, IgG, IgM, IgA, IgD или IgE) и включает моноклональные, рекомбинантные, поликлональные, моноклональные, рекомбинантные, поликлональные, химерные, человеческие и гуманизированные молекулы этого типа. Моноклональные антитела могут быть продуцированы клоном эукариотической клетки, экспрессирующим антитело. Моноклональные антитела также могут быть продуцированы эукариотической клеточной линией, которая может рекомбинантно экспрессировать тяжелую цепь и легкую цепь антитела благодаря наличию кодирующих их последовательностей нуклеиновых кислот, введенных в клетку. Способы получения антител из различных линий эукариотических клеток, таких как клетки яичника китайского хомячка, гибридомы или секретирующие антитело иммортализованные клетки, полученные от животного (например, человека), хорошо известны.

Антитело может быть получено из крысы, мыши, примата (например, яванского макака, обезьяны Старого Света или человекообразной обезьяны), человека или других источников, таких как нуклеиновые кислоты, полученные методами молекулярной биологии, которые кодируют молекулу антитела.

Антитело может содержать константную область, которая может иметь любой изотип или подкласс. Константная область может иметь изотип IgG, например, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, IgG<sub>4</sub> или их варианты. Константной областью антигенсвязывающего белка может быть IgG<sub>1</sub>.

Антигенсвязывающий белок может содержать одну или более модификаций, выбранных из мутированного таким образом константного домена, что антитело обладает улучшенными эффекторными функциями/ADCC и/или активацией комплемента.

Антитело может быть способным связываться с антигеном-мишенью. Примеры таких антигенов-мишеней включают человеческий IL-5, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 11.

28Y042-7F11-1, содержащее аминокислотную последовательность тяжелой цепи, показанную в SEQ ID NO: 1, и аминокислотную последовательность легкой цепи, показанную в SEQ ID NO: 2, представляет собой пример антитела. 28Y042-7F11-1 или антигенсвязывающие белки по изобретению связываются с человеческим IL-5 и противодействуют его активности.

28Y042-7F11-1 представляет собой рекомбинантное гуманизированное моноклональное антитело (IgG<sub>1</sub>, каппа) 28Y042-7F11-1, которое содержит две легкие и две тяжелые цепи.

Тяжелая цепь 28Y042-7F11-1 кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты, показанной в SEQ ID NO: 15. Легкая цепь 28Y042-7F11-1 кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты, показанной в SEQ ID NO: 16.

Тяжелые и легкие цепи 28Y042-7F11-1 ковалентно связаны одной дисульфидной

связью, а тяжелые цепи связаны друг с другом двумя дисульфидными связями, в результате чего образуется типичная молекула IgG.

28Y042-7F11-1 или антигенсвязывающие белки по изобретению могут быть предоставлены в виде лиофилизированного порошка, содержащего антитело и наполнители, которые могут быть восстановлены фармацевтически приемлемым носителем (например, стерильной водой). Затем эту восстановленную фармацевтическую композицию можно вводить либо подкожно, либо внутривенно (например, с дальнейшим разбавлением). 28Y042-7F11-1 или антигенсвязывающие белки по изобретению также могут быть представлены в виде жидкой композиции, содержащей антитело, наполнители и фармацевтически приемлемый носитель. Эту жидкую фармацевтическую композицию затем можно вводить либо подкожно, либо внутривенно (например, с дальнейшим разбавлением).

Используемый в настоящем описании термин «вариант антитела» означает антитело, которое отличается от исходного антитела по меньшей мере одной модификацией аминокислоты (например, наличием другой боковой аминокислотной цепи), посттрансляционной модификацией или другой модификацией в по меньшей мере одной тяжелой цепи, легкой цепи или их комбинации, которые приводят к структурному изменению (например, другой боковой аминокислотной цепи, другой посттрансляционной модификации или другой модификации) относительно исходного антитела. 28Y042-7F11-1 является примером такого родительского антитела. Структурные изменения могут быть определены непосредственно различными методами, хорошо известными в данной области техники, такими как ЖХ-МС, прямое секвенирование, или опосредованно с помощью таких методов, как изоэлектрическое фокусирование и т.п. Такие способы хорошо известны специалистам в данной области.

Используемый в настоящем описании термин «IL-5» означает человеческий IL-5, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 11.

Термин «специфически связывается», используемый в настоящем описании в отношении антигенсвязывающих белков, означает, что антигенсвязывающий белок связывается с антигеном-мишенью, а также с дискретным доменом или дискретной аминокислотной последовательностью в антигене-мишени без или с незначительным уровнем связывания с другими (например, неродственным) белками. Однако этот термин не исключает того факта, что антигенсвязывающие белки также могут быть перекрестно-реактивными с близко родственными молекулами (например, с молекулами, имеющими высокую степень идентичности последовательностей, или молекулами из других родов или видов). Описанные в настоящей заявке антигенсвязывающие белки могут связываться с человеческим IL-5 или рецептором человеческого IL-5 со сродством по меньшей мере в 2, 5, 10, 50, 100 или 1000 раз превышающим сродство их связывания с близко родственными молекулами.

Сродство связывания ( $K_D$ ) при взаимодействии антигенсвязывающего белка с антигеном-мишенью может составлять 1 мМ или менее, 100 нМ или менее, 10 нМ или

менее, 2 нМ или менее или 1 нМ или менее. Альтернативно,  $K_D$  может составлять от 5 до 10 нМ; или от 1 до 2 нМ.  $K_D$  может составлять от 1 пМ до 500 пМ; или от 500 пМ до 1 нМ. Сродство связывания антигенсвязывающего белка определяется константой ассоциации ( $K_a$ ) и константой диссоциации ( $K_d$ ) ( $K_D = K_d/K_a$ ). Сродство связывания может быть измерено с помощью BIACORE™, например, путем захвата тестируемого антитела на сенсорной поверхности, покрытой белком А, и обеспечения потока целевого антигена над этой поверхностью. Альтернативно, сродство связывания может быть измерено с помощью FORTEBIO, например, с использованием рецептора тестируемого антитела, иммобилизованного на игле, покрытой белком А, и потоком антигена–мишени над этой поверхностью.

$K_d$  может составлять  $1 \times 10^{-3} \text{ Мс}^{-1}$  или менее,  $1 \times 10^{-4} \text{ Мс}^{-1}$  или менее или  $1 \times 10^{-5} \text{ Мс}^{-1}$  или менее.  $K_d$  может составлять от  $1 \times 10^{-5} \text{ Мс}^{-1}$  до  $1 \times 10^{-4} \text{ Мс}^{-1}$ ; или от  $1 \times 10^{-4} \text{ Мс}^{-1}$  до  $1 \times 10^{-3} \text{ Мс}^{-1}$ . Медленная  $K_d$  может приводить к медленной диссоциации комплекса антигенсвязывающий белок–антиген–мишень и улучшенной нейтрализации антигена–мишени.

Используемый в настоящем описании термин «специфическая антигенсвязывающая активность» означает антигенсвязывающую активность, измеренную методом поверхностного плазмонного резонанса (SPR). Активность специфического связывания П–5 может быть определена методом SPR с помощью прибора BIACORE™, например, в режиме связывания. Это активность связывания, деленная на общее содержание белка (например, 28Y042–7F11–1) в образце.

Используемый в настоящем описании термин «активность связывания FcRn» означает активность связывания неонатального Fc–рецептора (FcRn), измеренную методом поверхностного плазмонного резонанса (SPR). Связывание FcRn может быть определено с помощью прибора BIACORE™. Это активность связывания с рецептором FcRn, деленная на общую концентрацию белка в образце.

В методе SPR для специфического связывания антигена и связывания FcRn используют эталонный стандарт 28Y042–7F11–1. Эталонный стандарт 28Y042–7F11–1 может использоваться в анализах для получения данных о пригодности системы и сопоставимости выборки, чтобы обеспечить надлежащее выполнение методов. Эталонный стандарт может позволить получить калибровочную кривую, и интерполировать концентрации образцов из этой кривой.

Под «выделенным» подразумевается, что молекула, такая как антигенсвязывающий белок или нуклеиновая кислота, удалена из среды, в которой она может быть обнаружена в природе. Например, молекула может быть очищена от веществ, с которыми она обычно существует в природе. Например, масса молекулы в образце может составлять 95% от общей массы. Раскрытие также обеспечивает выделенные нуклеиновые кислоты, содержащие SEQ ID NO: 13, 14, 15, 16, 17 и/или 18 и их части, а также их композиции. Важно, что нуклеиновую кислоту по изобретению обычно предоставляют в виде композиции, которая может содержать любую комбинацию нуклеиновых кислот по

изобретению, буфер, остаточный буфер, соли, противоионы, воду, спирты или вектора и т.п. Альтернативно, композиция по настоящему изобретению может содержать только нуклеиновые кислоты по изобретению.

Термины «V<sub>H</sub>» и «V<sub>L</sub>» используются в настоящем описании для обозначения вариабельной области тяжелой цепи и вариабельной области легкой цепи, соответственно, антигенсвязывающего белка.

«CDR» определяют как аминокислотные последовательности определяющей комплементарности области антигенсвязывающего белка. Они представляют собой гипервариабельные участки тяжелой и легкой цепей иммуноглобулина. В вариабельной части иммуноглобулина имеются три CDR тяжелой цепи и три CDR легкой цепи (или области CDR). Таким образом, «CDR» в контексте настоящего описания относится ко всем трем CDR тяжелой цепи, всем трем CDR легкой цепи, всем CDR тяжелой и легкой цепи или по меньшей мере одной CDR, причем по меньшей мере одна CDR представляет собой CDRH3. За каждой из этих областей CDR следуют каркасные области. Приемлемые каркасные области 1, 2 и 3 вариабельной области тяжелой цепи и вариабельной области легкой цепи легко распознаются специалистами в данной области. Специалисты в данной области также легко распознают приемлемые константные области тяжелой цепи (включая шарнирные области) и константные области легкой цепи. Аналогично, специалисты в данной области без труда распознают приемлемые изоформы антител.

В настоящем описании аминокислотные остатки в последовательностях вариабельных доменов и полноразмерных последовательностях антител пронумерованы в соответствии с соглашением о нумерации по Кабат. Аналогично, термины «CDR», «CDRL1», «CDRL2», «CDRL3», «CDRH1», «CDRH2», «CDRH3», используемые в описании, соответствуют соглашению о нумерации по Кабат.

Специалистам в данной области техники будет очевидно, что существуют альтернативные соглашения о нумерации аминокислотных остатков в полноразмерных последовательностях вариабельных доменов и последовательностях антител. Существуют также альтернативные соглашения о нумерации для последовательностей CDR, например, те, которые изложены в соответствии с соглашением о нумерации по Чотиа. Структура и укладка белка антитела могут означать, что другие остатки считаются частью последовательности CDR и должны быть понятны специалисту в данной области.

Другие соглашения о нумерации последовательностей CDR, доступные для специалиста, включают методы «AbM» (University of Bath) и «контакт» (University College London). Минимальная область перекрытия при применении по меньшей мере двух методов из Кабат, Чотиа, AbM и контакта может быть определена для получения «минимальной связывающей единицы». Минимальная связывающая единица может быть частью CDR.

В приведенной ниже таблице 14 представлено одно определение с применением каждого соглашения о нумерации для каждой CDR или связывающей единицы. Схема нумерации по Кабат используется в таблице 14 для нумерации аминокислотной

последовательности переменного домена. Следует отметить, что некоторые определения CDR могут отличаться в зависимости от используемой отдельной публикации.

Таблица 14.

	CDR по Кабат	CDR по Чотиа	CDR по методу AbM	CDR по методу контакта	Минимальная связывающая единица
H1	31–35/35A/35B	26–32?33/34	26–35/35A/35B	30–35/35A/35B	31–32
H2	50–65	52–56	50–58	47–58	52–56
H3	95–102	95–102	95–102	93–101	95–101
L1	24–34	24–34	24–34	30–36	30–34
L2	50–56	50–56	50–56	46–55	50–55
L3	89–97	89–97	89–97	89–96	89–96

«Процентная идентичность» между запрашиваемой последовательностью нуклеиновой кислоты и искомой последовательностью нуклеиновой кислоты представляет собой значение «идентичности», выраженное в процентах, которое вычисляют по алгоритму BLASTN, когда искомая последовательность нуклеиновой кислоты имеет 100% запрашиваемое покрытие с запрашиваемой последовательностью нуклеиновой кислотой после парного выравнивания с помощью алгоритма BLASTN. Такое парное выравнивание с помощью алгоритма BLASTN между запрашиваемой последовательностью нуклеиновой кислоты и искомой последовательностью нуклеиновой кислоты выполняют, используя настройки по умолчанию алгоритма BLASTN, доступные на веб-сайте Национального центра биотехнологического института, с отключенным фильтром для участков низкой сложности. Важно, что запрашиваемая последовательность может быть описана последовательностью нуклеиновой кислоты, определенной в одном или более пунктах формулы изобретения.

Последовательности нуклеиновых кислот, которые могут быть полезны и включены в композиции и соответствующие способы по изобретению, могут иметь от примерно 85% до примерно 100%, от примерно 90% до примерно 100%, от примерно 95% до примерно 100%, примерно 91%, примерно 92%, примерно 93%, примерно 94%, примерно 95%, примерно 96%, примерно 97%, примерно 98%, примерно 99% и примерно 100% идентичности с последовательностями нуклеиновых кислот, определенными в описании (например, нуклеиновыми кислотами, кодирующими тяжелую цепь антитела или легкую цепь антитела). Согласно изобретению, процент идентичности между описанными последовательностями нуклеиновых кислот может включать любой дискретный поддиапазон диапазонов процента идентичности, указанных выше (например, любой диапазон целочисленных значений в пределах определенного диапазона или дискретных подзначений в пределах конкретного диапазона).

«Процент идентичности» между запрашиваемой аминокислотной

последовательностью и искомой аминокислотной последовательностью представляет собой значение «идентичности», выраженное в процентах, которое вычисляется по алгоритму BLASTP, когда аминокислотная последовательность субъекта имеет 100% запрашиваемое покрытие с запрашиваемой аминокислотной последовательностью после попарного выравнивания с помощью алгоритма BLASTP. Такие парные выравнивания с помощью алгоритма BLASTP между запрашиваемой аминокислотной последовательностью и искомой аминокислотной последовательностью выполняются с использованием настроек по умолчанию алгоритма BLASTP, доступных на веб-сайте Национального центра биотехнологического института, с отключенным фильтром для участков низкой сложности. Важно, что запрашиваемая последовательность может быть описана аминокислотной последовательностью, определенной в одном или более пунктах формулы изобретения.

Аминокислотные последовательности, которые могут быть полезны и включены в композиции и соответствующие способы по изобретению, могут иметь от примерно 85% до примерно 100%, от примерно 90% до примерно 100%, от примерно 95% до примерно 100%, примерно 91% примерно 92%, примерно 93%, примерно 94%, примерно 95%, примерно 96%, примерно 97%, примерно 98%, примерно 99% и примерно 100% идентичности с аминокислотными последовательностями, указанными в описании (например, для тяжелой цепи антитела или легкой цепи антитела). Согласно изобретению, процент идентичности между описанными аминокислотными последовательностями может включать любой дискретный поддиапазон указанных выше диапазонов процента идентичности (например, любой диапазон целочисленных значений в пределах конкретного диапазона или дискретных подзначений в пределах конкретного диапазона).

Термины «пептид», «полипептид», «белок» и «пептидная цепь», каждый, относятся к молекуле, содержащей два или более аминокислотных остатка. Пептид может быть мономерным или полимерным.

В данной области техники хорошо известно, что некоторые аминокислотные замены считаются «консервативными». Аминокислоты делят на группы, исходя из общих свойств боковых цепей, и замены в группах, которые сохраняют полностью или практически полностью сродство связывания антигенсвязывающего белка, считаются консервативными заменами. См. таблицу 15. Раскрытые в настоящем описании антигенсвязывающие белки могут содержать такие «консервативные» аминокислотные замены.

Таблица 15

Боковая цепь	Члены
Гидрофобная	met, ala, val, leu, ile
Нейтральная гидрофильная	cys, ser, thr
Кислая	asp, glu
Щелочная	asn, gln, his, lys, arg

Остатки, которые влияют на ориентацию цепи	gly, pro
Ароматическая	trp, tyr, phe

Используемый в настоящем описании термин «фармацевтическая композиция» означает композицию, подходящую для введения пациенту.

Фармацевтические композиции, описанные в настоящем документе, могут содержать очищенные препараты антитела, как описано в настоящем документе.

Например, фармацевтический препарат может содержать очищенный препарат антитела, описанный в настоящей заявке, в комбинации с фармацевтически приемлемым носителем.

Как правило, такие фармацевтические композиции содержат фармацевтически приемлемый носитель, который известен и должен быть приемлемым для фармацевтического применения. Примеры таких носителей включают стерилизованные носители, такие как физиологический раствор, раствор Рингера или раствор декстрозы, необязательно забуференные подходящими буферами до pH в диапазоне от 5 до 8.

Фармацевтические композиции можно вводить путем инъекции или инфузии (например, внутривенно, внутривентриально, внутривенно, подкожно, внутримышечно или внутривенно). Такие композиции не содержат видимых частиц. Фармацевтические композиции могут содержать от 1 мг до 10 г антигенсвязывающего белка, например от 5 мг до 1 г антигенсвязывающего белка. Альтернативно, композиция может содержать от 5 до 500 мг антигенсвязывающего белка, например от 5 до 50 мг.

Способы приготовления таких фармацевтических композиций хорошо известны специалистам в данной области. Фармацевтические композиции могут содержать от 1 мг до 10 г антигенсвязывающего белка в стандартной лекарственной форме, необязательно вместе с инструкциями по применению. Фармацевтические композиции могут быть лиофилизированы (сублимированы) для восстановления перед введением в соответствии со способами, хорошо известными или очевидными для специалистов в данной области. Когда антитела имеют изотип IgG<sub>1</sub>, в фармацевтическую композицию может быть добавлен хелатор меди, такой как цитрат (например, цитрат натрия) или ЭДТА или гистидин, для снижения степени опосредованной медью деградации антител этого изотипа. Фармацевтические композиции также могут включать солилизатор, такой как аргинин, поверхностно-активное вещество/подавляющий агрегацию агент, такой как полисорбат 80, и инертный газ, такой как азот, для замены кислорода в свободном объеме флакона.

Используемый в настоящем описании термин «терапевтически эффективное количество» означает количество агента (такого как антитело или фармацевтическая композиция), которое обеспечивает терапевтическую пользу при лечении или терапии одного или более симптомов состояния, подлежащего лечению (такого как астма, легкая астма, астма средней тяжести, тяжелая астма, легкая эозинофильная астма, эозинофильная астма средней тяжести, тяжелая эозинофильная астма, неконтролируемая эозинофильная астма, эозинофильная астма, суб-эозинофильная астма, хроническая обструктивная

болезнь легких, эозинофильный гранулематоз с полиангиитом, гиперэозинофильный синдром, носовые полипы, буллезный пемфигоид, эозинофильный эзофагит, атопический дерматит, атопический дерматит средней тяжести и тяжелый атопический дерматит). Примеры такого лечения или терапии одного или более симптомов астмы, включая астму, легкую астму, астму средней тяжести, тяжелую астму, легкую эозинофильную астму, эозинофильную астму средней тяжести, тяжелую эозинофильную астму, неконтролируемую эозинофильную астму, эозинофильную астму и суб-эозинофильную астму, включают: 1) снижение частоты обострений астмы; 2) сокращение времени до первого клинически значимого обострения, требующего введения пероральных или системных кортикостероидов, госпитализации и/или вызова скорой помощи (СП); 3) снижение частоты обострений, требующих госпитализации (включая интубацию и доставку в отделение интенсивной терапии) или вызова СП; 4) сокращение времени до первого обострения, требующего госпитализации или вызова СП; 5) клинически значимое изменение  $ОФВ_1$  относительно исходного уровня до введения бронхолитика; 6) клинически значимое изменение  $ОФВ_1$  относительно исходного уровня после введения бронхолитика; 7) изменение балла по опроснику по контролю астмы (АСQ) относительно исходного уровня; 8) улучшенная функция легких, оцененная по спирометрии (например, жизненной емкости (ЖЕ), форсированной жизненной емкости (ФЖЕЛ), объема форсированного выдоха (ОФВ) с временными интервалами 0,5, 1,0 ( $ОФВ_1$ ), 2,0 и 3,0 секунды при скорости форсированного выдоха 25–75% (FEF 25–75) и уровня максимальной произвольной вентиляции (МПВ), полного объема легких, дыхательного объема, остаточного объема, резервного объема выдоха, резервного объема вдоха, емкости вдоха, жизненной емкости вдоха, жизненной емкости, функциональной остаточной емкости, остаточного объема, выраженного в процентах от общей емкости легких, объема альвеолярного газа, фактического объема легких, включая объем проводящих дыхательных путей, форсированной жизненной емкости и т.д.); и 9) уменьшение введения стероидов, необходимых для контроля обострений астмы (таких как пероральные стероиды или стероиды, такие как преднизон, преднизолон и т.д., вводимые любым способом). Такое уменьшение введения стероидов, необходимых для контроля обострений астмы, может составлять примерно уменьшения введения стероидов, необходимых при обострениях, (например, пероральных стероидов) на 50%.

Терапевтически эффективные количества и режимы лечения, как правило, определяются эмпирически и могут зависеть от таких факторов, как возраст, вес и состояние здоровья пациента и заболевания или расстройства, подлежащего лечению. Такие факторы находятся в пределах компетенции лечащего врача.

Доза антигенсвязывающего белка, вводимая субъекту, обычно составляет от 1 мкг/кг до 150 мг/кг, от 0,1 мг/кг до 100 мг/кг, от 0,5 мг/кг до 50 мг/кг, от 1 до 25 мг/кг, от примерно 0,3 мг/кг до примерно 3 мг/кг или от 1 до 10 мг/кг массы тела субъекта. Например, доза может составлять 10 мг/кг, 30 мг/кг или 60 мг/кг. Доза также может составлять от 10 мг/кг до 110 мг/кг, от 15 мг/кг до 25 мг/кг или от 15 мг/кг до 100 мг/кг.

Антигенсвязывающий белок можно вводить, например, парентерально, подкожно, внутривенно или внутримышечно. Дозы также можно вводить с учетом отдельного субъекта, например от примерно 20 мг/субъект до примерно 750 мг/субъект, от примерно 75 мг/субъект до примерно 750 мг/субъект, от примерно 20 мг/субъект до примерно 200 мг/субъект. Доза может представлять собой любой поддиапазон в пределах этих диапазонов доз. Например, дозу также можно вводить подкожно с учетом отдельного субъекта, например, примерно 100 мг/субъект (например, один раз каждые четыре недели) или 300 мг/субъект (или другие дозы могут быть введены подкожно при условии достижения биодоступности, примерно такой же или сопоставимой, как в случае внутривенного введения – например, три дозы по 100 мг/субъект, что дает в сумме общую вводимую подкожно дозу, равную 300 мг/субъект).

Представленные в настоящем описании диапазоны любого типа включают все значения в конкретном описанном диапазоне и значения границ конкретного диапазона.

При желании эффективную суточную дозу антитела или антигенсвязывающего белка по изобретению (например, в виде фармацевтической композиции) можно вводить в виде двух, трех, четырех, пяти, шести или более доз, вводимых отдельно в течение суток через соответствующие интервалы времени, необязательно, в единичных дозированных формах.

Введение дозы может представлять собой медленную непрерывную инфузию в течение от 2 до 24 часов, например от 2 до 12 часов или от 2 до 6 часов. Такое введение может привести к уменьшению побочных эффектов.

Введение дозы может повторяться при необходимости один или более раз, например, три раза в сутки, один раз в сутки, один раз каждые 2 дня, один раз в неделю, один раз каждые 14 дней, один раз в месяц, один раз каждые 3 месяца, один раз каждые 4 месяца, один раз каждые 6 месяцев или один раз каждые 12 месяцев. Антигенсвязывающие белки можно вводить в виде поддерживающей терапии, например, один раз в неделю в течение 6 месяцев или более. Антигенсвязывающие белки можно вводить в виде интермиттирующей терапии, например, в течение от 3 до 6 месяцев, за которой следует перерыв в течение 3–6 месяцев, с последующим повторным введением антигенсвязывающих белков в течение 3–6 месяцев и так далее, в цикле.

Например, дозу можно вводить подкожно один раз каждые 14 или 28 дней в виде нескольких доз в каждый день введения. В одном из вариантов осуществления доза композиции составляет 100 мг один раз каждые 4 недели (28 дней).

Антигенсвязывающий белок можно вводить субъекту таким образом, чтобы терапия была направлена на конкретный участок.

Антигенсвязывающий белок в способах по изобретению можно использовать в комбинации с одним или более другими терапевтически активными агентами, такими как антитела или низкомолекулярные ингибиторы.

Термин «лечение» и его грамматические варианты в контексте настоящего описания означают терапевтическое лечение. В отношении конкретного состояния

лечение означает: (1) улучшение состояния одного или более биологических проявлений состояния, (2) блокирование а) одной или более точек в биологическом каскаде, которые приводят к развитию этого состояния или являются причиной его развития, или б) одного или более биологических проявлений состояния, (3) облегчение одного или более симптомов, эффектов или побочных эффектов, связанных с состоянием или его лечением, (4) замедление прогрессирования состояния или одного или более биологических проявлений или (5) предупреждение появления одного или более биологических проявлений состояния. При этом также предусматривается профилактическая терапия. Специалисту в данной области очевидно, что «профилактика» не является абсолютным термином. В медицине «профилактика» означает профилактическое введение лекарственного средства для существенного уменьшения вероятности развития или степени тяжести состояния или его биологического проявления или для задержки наступления такого состояния или его биологического проявления.

Термины «индивидуум», «субъект» и «пациент» используются в настоящем описании взаимозаменяемо. Субъект, как правило, является человеком. Субъект также может быть млекопитающим, таким как мышь, крыса или примат (например, мартышка или обезьяна). Субъект может быть животным, не являющимся человеком. Антигенсвязывающие белки, композиции и способы по изобретению также находят применение в ветеринарии. Подлежащим лечению субъектом может быть сельскохозяйственное животное, например, корова или бык, овца, свинья, вол, коза или лошадь, или может быть домашнее животное, такое как собака или кошка. Животное может быть любого возраста или может быть зрелым взрослым животным.

Лечение может быть терапевтическим, профилактическим или превентивным. Субъект представляет собой нуждающегося в этом лечении субъекта. К числу тех, кто нуждается в лечении, могут относиться лица, уже страдающие определенным медицинским заболеванием, а также лица, у которых заболевание может развиваться в будущем.

Таким образом, раскрытые в настоящем описании способы, антигенсвязывающие белки и композиции по изобретению могут быть использованы для профилактического лечения или превентивного лечения, при необходимости. В этом случае способы, антигенсвязывающие белки и композиции по изобретению могут быть использованы для предотвращения или задержки появления одного или более аспектов или симптомов заболевания. Субъект может не иметь симптомов. Субъект может иметь генетическую предрасположенность к заболеванию. Такому индивидууму вводят профилактически эффективное количество антигенсвязывающего белка. Профилактически эффективное количество представляет собой количество, которое предотвращает или задерживает начало проявления одного или более аспектов или симптомов раскрытого в настоящем описании заболевания.

Способы, антигенсвязывающие белки и композиции по изобретению не должны приводить к полному излечению или устранению каждого симптома или проявления

заболевания, чтобы быть пригодными в качестве терапевтического лечения. Как известно в данной области техники, чтобы лекарственные средства, используемые в качестве терапевтических агентов в способах лечения, можно было рассматривать в качестве терапевтических агентов, они не должны устранять каждое проявление заболевания, и могут уменьшать тяжесть данного болезненного состояния. Аналогично, лечение, назначаемое с целью профилактики, необязательно должно эффективно полностью предотвращать возникновение заболевания, чтобы его рассматривали в качестве пригодного профилактического агента. Достаточным является простое уменьшение влияния заболевания (например, путем уменьшения количества или тяжести его симптомов, или путем повышения эффективности другого лечения, или путем получения другого полезного эффекта), или уменьшение вероятности возникновения заболевания (например, путем задержки начала заболевания) или его ослабление у субъекта.

Одним из аспектов настоящего изобретения является антигенсвязывающий белок, содержащий переменную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDRH1, показанную в SEQ ID NO: 5, аминокислотную последовательность CDRH2, показанную в SEQ ID NO: 6, и аминокислотную последовательность CDRH3, показанную в SEQ ID NO: 7; и переменную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDRL1, показанную в SEQ ID NO: 8, аминокислотную последовательность CDRL2, показанную в SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность CDRL3, показанную в SEQ ID NO: 10.

В одном из вариантов осуществления антигенсвязывающего белка по изобретению переменная область тяжелой цепи дополнительно содержит аминокислотную последовательность FR4 тяжелой цепи, показанную в SEQ ID NO: 21.

В одном из вариантов осуществления антигенсвязывающий белок по изобретению содержит Fc-домен тяжелой цепи, имеющий остаток тирозина в положении 252, остаток треонина в положении 254 и остаток глутаминовой кислоты в положении 256, причем аминоконец Fc-домена тяжелой цепи соединен с карбокси-концом переменной области тяжелой цепи.

Другим аспектом изобретения является антигенсвязывающий белок, содержащий последовательность переменной области тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 3; и последовательность переменной области легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 4.

Другой аспект изобретения представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь и легкую цепь, причем а) тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDRH1, показанную в SEQ ID NO: 5, аминокислотную последовательность CDRH2, показанную в SEQ ID NO: 6 и аминокислотную последовательность CDRH3, показанную в SEQ ID NO: 7; и б) легкая цепь содержит переменную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDRL1, показанную в SEQ ID NO: 8, аминокислотную

последовательность CDRL2, показанную в SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность CDRL3, показанную в SEQ ID NO: 10.

В одном из вариантов осуществления антитела по изобретению переменная область тяжелой цепи дополнительно содержит аминокислотную последовательность FR4 тяжелой цепи, показанную в SEQ ID NO: 21.

В одном из вариантов осуществления антитела по изобретению тяжелая цепь содержит Fc-домен тяжелой цепи, имеющий остаток тирозина в положении 252, остаток треонина в положении 254 и остаток глутаминовой кислоты в положении 256.

Другим аспектом изобретения является антитело, содержащее тяжелую цепь и легкую цепь, причем а) тяжелая цепь содержит последовательность переменной области тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 3; и б) легкая цепь содержит последовательность переменной области легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 4.

В одном из вариантов осуществления антитела по изобретению тяжелая цепь содержит Fc-домен тяжелой цепи, имеющий остаток тирозина в положении 252, остаток треонина в положении 254 и остаток глутаминовой кислоты в положении 256.

Другим аспектом изобретения является антитело, содержащее тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 2.

Другим аспектом изобретения является пептидная цепь, содержащая аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 3.

Другим аспектом изобретения является пептидная цепь, содержащая аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1.

В одном из вариантов осуществления композиция по изобретению содержит нуклеиновую кислоту, кодирующую переменную область тяжелой цепи по изобретению, и нуклеиновую кислоту, кодирующую переменную область легкой цепи антигенсвязывающего белка по изобретению.

В одном из вариантов осуществления композиция по изобретению содержит нуклеиновую кислоту, кодирующую переменную область тяжелой цепи по изобретению, и нуклеиновую кислоту, кодирующую переменную область легкой цепи по изобретению.

В одном из вариантов осуществления композиция по изобретению содержит нуклеиновую кислоту, кодирующую Fc-домен тяжелой цепи, соединенный с карбокси-концом переменной области тяжелой цепи по изобретению, и нуклеиновую кислоту, кодирующую переменную область легкой цепи по изобретению.

Другим аспектом изобретения является композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 3 и нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 4.

Другим аспектом изобретения является композиция, содержащая нуклеиновую

кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 2.

Другим аспектом изобретения является композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 3.

Другим аспектом изобретения является композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1.

Другим аспектом изобретения является композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, имеющую последовательность, показанную в SEQ ID NO: 15, и нуклеиновую кислоту, имеющую последовательность, показанную в SEQ ID NO: 16.

Другим аспектом изобретения является композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, имеющую последовательность, показанную в SEQ ID NO: 17, и нуклеиновую кислоту, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 18.

Другим аспектом изобретения является композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, имеющую последовательность, показанную в SEQ ID NO: 13, и нуклеиновую кислоту, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 14.

Другим аспектом изобретения является композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, имеющую последовательность, показанную в SEQ ID NO: 15.

Другим аспектом изобретения является композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, имеющую последовательность, показанную в SEQ ID NO: 17.

Другим аспектом изобретения является композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, имеющую последовательность, показанную в SEQ ID NO: 13.

В одном из вариантов осуществления композиция по изобретению содержит нуклеиновую кислоту, кодирующую переменную область тяжелой цепи по изобретению.

В одном из вариантов осуществления композиция по изобретению содержит нуклеиновую кислоту, кодирующую переменную область тяжелой цепи по изобретению.

В одном из вариантов осуществления композиция по изобретению содержит нуклеиновую кислоту, кодирующую Fc-домен тяжелой цепи, соединенный с карбокси-концом переменной области тяжелой цепи по изобретению.

В одном из вариантов осуществления вектор экспрессии по изобретению содержит композицию по изобретению.

В одном из вариантов осуществления рекомбинантная клетка-хозяин по изобретению содержит вектор экспрессии, содержащий композицию по изобретению. В альтернативном варианте осуществления рекомбинантная клетка-хозяин может содержать первый вектор экспрессии, кодирующий первую пептидную цепь антигенсвязывающего белка (например, тяжелую цепь антитела), и второй вектор экспрессии, кодирующий вторую пептидную цепь антигенсвязывающего белка по изобретению (например, легкую цепь антитела).

Другим аспектом изобретения является способ получения пептидной цепи, содержащей аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 3, причем указанный способ включает этап культивирования рекомбинантной клетки–хозяина, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 3; и извлечения пептидной цепи.

В одном из вариантов осуществления способа по изобретению нуклеиновая кислота содержит последовательность, показанную в SEQ ID NO: 15.

В одном из вариантов осуществления способа по изобретению нуклеиновая кислота содержит последовательность, показанную в SEQ ID NO: 13.

В одном из вариантов осуществления способа по изобретению нуклеиновая кислота содержит последовательность, показанную в SEQ ID NO: 17.

Одним из вариантов осуществления изобретения является способ получения антигенсвязывающего белка, включающий этапы: а) культивирования рекомбинантной клетки–хозяина, содержащей вектор экспрессии, содержащий композицию по изобретению; и б) извлечения антигенсвязывающего белка; таким образом получая антигенсвязывающий белок.

В одном из вариантов осуществления изобретения антигенсвязывающий белок получают способом по изобретению.

Одним из вариантов осуществления изобретения является способ получения антитела, включающий этапы: а) культивирования рекомбинантной клетки–хозяина, содержащей вектор экспрессии, содержащий композицию по изобретению; и б) извлечения антитела; таким образом получая антитело.

Одним из вариантов осуществления настоящего изобретения является антитело, полученное способом по изобретению.

Другим аспектом изобретения является способ получения антитела, включающий этапы: а) культивирования рекомбинантной клетки–хозяина, содержащей вектор экспрессии, содержащий нуклеиновую кислоту, имеющую последовательность, показанную в SEQ ID NO: 17, и нуклеиновую кислоту, имеющую последовательность, показанную в SEQ ID NO: 18; и б) извлечения антитела; таким образом получая антитело.

Другим аспектом изобретения является фармацевтическая композиция, содержащая: а) антигенсвязывающий белок, содержащий переменную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDRH1, показанную в SEQ ID NO: 5, аминокислотную последовательность CDRH2, показанную в SEQ ID NO: 6, и аминокислотную последовательность CDRH3, показанную в SEQ ID NO: 7; и переменную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDRL1, показанную в SEQ ID NO: 8, аминокислотную последовательность CDRL2, показанную в SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность CDRL3, показанную в SEQ ID NO: 10; и б) фармацевтически приемлемый носитель.

В одном из вариантов осуществления фармацевтической композиции по изобретению переменная область тяжелой цепи дополнительно содержит

аминокислотную последовательность FR4 тяжелой цепи, показанную в SEQ ID NO: 21.

В одном из вариантов осуществления фармацевтическая композиция по изобретению содержит Fc-домен тяжелой цепи, имеющий остаток тирозина в положении 252, остаток треонина в положении 254 и остаток глутаминовой кислоты в положении 256, причем амино-конец Fc-домена тяжелой цепи соединен с карбокси-концом вариабельной области тяжелой цепи.

В одном из вариантов осуществления фармацевтической композиции по изобретению антигенсвязывающий белок находится в концентрации от примерно 75 мг/мл до примерно 150 мг/мл.

В одном из вариантов осуществления фармацевтической композиции по изобретению фармацевтически эффективный носитель содержит водную жидкую композицию при pH от примерно 5,5 до примерно 6,0, содержащую примерно 40 mM гистидина, примерно 180 mM трегалозы, примерно 100 mM аргинина, примерно 8 mM метионина, примерно 0,02 по объемной массе полисорбата 80 и примерно 0,05 mM ЭДТА.

В одном из вариантов осуществления фармацевтической композиции по изобретению pH составляет примерно 6,0, и антигенсвязывающий белок находится в концентрации примерно 150 мг/мл.

Другим аспектом изобретения является фармацевтическая композиция, содержащая: а) антитело, содержащее вариабельную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDRH1, показанную в SEQ ID NO: 5, аминокислотную последовательность CDRH2, показанную в SEQ ID NO: 6, и аминокислотную последовательность CDRH3, показанную в SEQ ID NO: 7; и вариабельную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDRL1, показанную в SEQ ID NO: 8, аминокислотную последовательность CDRL2, показанную в SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность CDRL3, показанную в SEQ ID NO: 10; и б) фармацевтически приемлемый носитель.

58. Фармацевтическая композиция по п.57, в которой антитело имеет концентрацию от примерно 75 до примерно 150 мг/мл.

В одном из вариантов осуществления фармацевтической композиции по изобретению фармацевтически эффективный носитель содержит водную жидкую композицию при pH от примерно 5,5 до примерно 6,0, содержащую примерно 40 mM гистидина, примерно 180 mM трегалозы, примерно 100 mM аргинина, примерно 8 mM метионина, примерно 0,02 по объемной массе полисорбата 80 и примерно 0,05 mM ЭДТА.

В одном из вариантов осуществления фармацевтической композиции по изобретению pH составляет примерно 6,0, и антитело находится в концентрации примерно 150 мг/мл.

Другим аспектом изобретения является фармацевтическая композиция, содержащая: а) антитело, содержащее тяжелую цепь и легкую цепь, причем тяжелая цепь содержит последовательность вариабельной области тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 3; легкая цепь содержит

последовательность вариабельной области легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 4; и b) фармацевтически приемлемый носитель.

Другим аспектом изобретения является фармацевтическая композиция, содержащая: а) антитело, содержащее тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 2; и b) фармацевтически приемлемый носитель.

Одним из вариантов осуществления изобретения является способ лечения заболевания у субъекта, включающий этапы: а) идентификации субъекта, имеющего заболевание выбранное из группы, состоящей из астмы, легкой астмы, астмы средней тяжести, тяжелой астмы, легкой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы средней тяжести, тяжелой эозинофильной астмы, неконтролируемой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы, суб-эозинофильной астмы, хронической обструктивной болезни легких, эозинофильного гранулематоза с полиангиитом, гиперэозинофильного синдрома, носовых полипов, буллезного пемфигоида, эозинофильного эзофагита, атопического дерматита, атопического дерматита средней тяжести и тяжелого атопического дерматита; и b) введения субъекту терапевтически эффективного количества антигенсвязывающего белка по изобретению; таким образом обеспечивая лечение заболевания у субъекта.

В одном из вариантов осуществления способов по изобретению количество антигенсвязывающего белка составляет от примерно 2 до примерно 600 мг. Например, количество антигенсвязывающего белка (например, антитела) может составлять дозу 2 мг, 10 мг, 30 мг, 100 мг, 300 мг или 600 мг.

В одном из вариантов осуществления способа по настоящему изобретению антигенсвязывающий белок вводят один раз каждые 3 месяца или один раз каждые 6 месяцев.

В одном из вариантов осуществления способа по изобретению субъект имеет абсолютное количество эозинофилов в крови, выбранное из группы, состоящей из 200 клеток на мкл или более и 350 клеток на мкл или более.

Одним из вариантов осуществления изобретения является способ лечения заболевания у субъекта, включающий этапы: а) идентификации субъекта, имеющего заболевание выбранное из группы, состоящей из астмы, легкой астмы, астмы средней тяжести, тяжелой астмы, легкой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы средней тяжести, тяжелой эозинофильной астмы, неконтролируемой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы, суб-эозинофильной астмы, хронической обструктивной болезни легких, эозинофильного гранулематоза с полиангиитом, гиперэозинофильного синдрома, носовых полипов, буллезного пемфигоида, эозинофильного эзофагита, атопического дерматита, атопического дерматита средней тяжести и тяжелого атопического дерматита; и b) введения субъекту терапевтически эффективного количества антитела по изобретению; таким образом обеспечивая лечение заболевания у субъекта.

Одним из вариантов осуществления изобретения является способ лечения заболевания у субъекта, включающий этапы а) идентификации субъекта, имеющего заболевание выбранное из группы, состоящей из астмы, легкой астмы, астмы средней тяжести, тяжелой астмы, легкой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы средней тяжести, тяжелой эозинофильной астмы, неконтролируемой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы, суб-эозинофильной астмы, хронической обструктивной болезни легких, эозинофильного гранулематоза с полиангиитом, гиперэозинофильного синдрома, носовых полипов, буллезного пемфигоида, эозинофильного эзофагита, атопического дерматита, атопического дерматита средней тяжести и тяжелого атопического дерматита; и б) введения субъекту терапевтически эффективного количества композиции по изобретению; таким образом обеспечивая лечение заболевания у субъекта.

Другим аспектом изобретения является способ лечения астмы от легкой до средней степени тяжести у субъекта, включающий этапы: а) идентификации субъекта, имеющего диагноз астмы от легкой до средней степени тяжести; и б) введения субъекту терапевтически эффективного количества антитела, содержащего переменную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 5, аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 6, и аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 7; и переменную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 8, аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 10; таким образом обеспечивая лечение астмы от легкой до средней степени тяжести.

Одним из вариантов осуществления является способ по изобретению, в котором переменная область тяжелой цепи дополнительно содержит аминокислотную последовательность FR4 тяжелой цепи, показанную в SEQ ID NO: 21.

Одним из вариантов осуществления является способ по изобретению, в котором антитело содержит Fc-домен тяжелой цепи, имеющий остаток тирозина в положении 252, остаток треонина в положении 254 и остаток глутаминовой кислоты в положении 256, причем аминоконечная часть Fc-домена тяжелой цепи соединена с карбокси-концом переменной области тяжелой цепи.

Одним из вариантов осуществления является способ по изобретению, в котором антитело содержит последовательность переменной области тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 3; и последовательность переменной области легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 4.

Одним из вариантов осуществления является способ по изобретению, в котором антитело вводят подкожно.

Другим аспектом изобретения является способ лечения астмы от легкой до средней степени тяжести у субъекта, включающий этапы: а) идентификации субъекта, имеющего диагноз астмы от легкой до средней степени тяжести; и б) введения субъекту

терапевтически эффективного количества антитела, содержащего тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1; таким образом обеспечивая лечение астмы от легкой до средней степени тяжести.

Другим аспектом изобретения является способ лечения астмы от легкой до средней степени тяжести у субъекта, включающий этапы: а) идентификации субъекта, имеющего диагноз астмы от легкой до средней степени тяжести; и б) введения субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей антитело, содержащее тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и фармацевтически эффективный носитель; таким образом обеспечивая лечение астмы от легкой до средней степени тяжести.

Одним из вариантов осуществления является способ по изобретению, в котором фармацевтически эффективный носитель содержит водную жидкую композицию при pH от примерно 5,5 до примерно 6,0, содержащую примерно 40 мМ гистидина, примерно 180 мМ трегалозы, примерно 100 мМ аргинина, примерно 8 мМ метионина, примерно 0,02 по объемной массе полисорбата 80 и примерно 0,05 мМ ЭДТА.

Другим аспектом изобретения является способ лечения тяжелой астмы у субъекта, включающий этапы: а) идентификации субъекта, имеющего диагноз тяжелой астмы; и б) введения субъекту терапевтически эффективного количества антитела, содержащего переменную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 5, аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 6, и аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 7; и переменную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 8, аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 10; таким образом обеспечивая лечение тяжелой астмы.

Другим аспектом изобретения является способ лечения тяжелой астмы у субъекта, включающий этапы: а) идентификации субъекта, имеющего диагноз тяжелой астмы; и б) введения субъекту терапевтически эффективного количества антитела, содержащего тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1; таким образом обеспечивая лечение тяжелой астмы.

Другим аспектом изобретения является способ лечения тяжелой астмы у субъекта, включающий этапы: а) идентификации субъекта, имеющего диагноз тяжелой астмы; и б) введения субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей антитело, содержащее тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь,

имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и фармацевтически эффективный носитель; таким образом обеспечивая лечение тяжелой астмы.

Другим аспектом изобретения является способ лечения у субъекта атопического дерматита от средней до тяжелой степени, включающий этапы: а) идентификации субъекта, имеющего по меньшей мере один из признаков, выбранный из группы, состоящей из: i) диагноза атопического дерматита в соответствии с критериями Ханифина и Райка, пересмотренными Эйхенвальдом; ii) предварительного диагноза атопического дерматита, поставленного более двух лет назад или примерно два года назад до начала лечения; iii) общего балла по оценке медицинского работника, равного трем или более; iv) поражения атопическим дерматитом, превышающим или равным примерно 10% площади поверхности тела; v) показателя тяжести и площади, пораженной экземой, превышающих или равных 16; vi) абсолютного количества эозинофилов в крови, превышающего или равного 150 клеткам на мкл, превышающего или равного 200 клеткам на мкл, превышающего или равного 300 клеткам на мкл или превышающего или равного 350 клеткам на мкл; и vii) по меньшей мере одного состояния до лечения, выбранного из группы, состоящей из: 1) неадекватного ответа в течение шести месяцев или более на лекарство от атопического дерматита для местного применения; 2) плохой переносимости лекарства от атопического дерматита для местного применения; 3) побочного эффекта от приема лекарства от атопического дерматита для местного применения; и 4) неадекватного ответа на нефармакологическое лечение от атопического дерматита; и б) введения субъекту терапевтически эффективного количества антитела, содержащего переменную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 5, аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 6, и аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 7; и переменную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 8, аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 10; таким образом обеспечивая лечение атопического дерматита у субъекта.

Одним из вариантов осуществления является способ по изобретению, в котором антитело вводят внутривенно.

Другим аспектом изобретения является способ лечения у субъекта атопического дерматита от средней до тяжелой степени, включающий этапы: а) идентификации субъекта, имеющего по меньшей мере один из признаков, выбранный из группы, состоящей из: i) диагноза атопического дерматита в соответствии с критериями Ханифина и Райка, пересмотренными Эйхенвальдом; ii) предварительного диагноза атопического дерматита, поставленного более двух лет назад или примерно два года назад до начала лечения; iii) общего балла по оценке медицинского работника, равного трем или более; iv) поражения атопическим дерматитом, превышающим или равным примерно 10% площади

поверхности тела; v) показателя тяжести и площади, пораженной экземой, превышающих или равных 16; vi) абсолютного количества эозинофилов в крови, превышающего или равного 150 клеткам на мкл, превышающего или равного 200 клеткам на мкл, превышающего или равного 300 клеткам на мкл или превышающего или равного 350 клеткам на мкл; и vii) по меньшей мере одного состояния до лечения, выбранного из группы, состоящей из: 1) неадекватного ответа в течение шести месяцев или более на лекарство от атопического дерматита для местного применения; 2) плохой переносимости лекарства от атопического дерматита для местного применения; 3) побочного эффекта от приема лекарства от атопического дерматита для местного применения; и 4) неадекватного ответа на нефармакологическое лечение от атопического дерматита; и b) введения субъекту терапевтически эффективного количества антитела, содержащего тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1; таким образом обеспечивая лечение атопического дерматита у субъекта.

Другим аспектом изобретения является способ лечения у субъекта атопического дерматита от средней до тяжелой степени, включающий этапы: a) идентификации субъекта, имеющего по меньшей мере один из признаков, выбранный из группы, состоящей из: i) диагноза атопического дерматита в соответствии с критериями Ханифина и Райка, пересмотренными Эйхенвальдом; ii) предварительного диагноза атопического дерматита, поставленного более двух лет назад или примерно два года назад до начала лечения; iii) общего балла по оценке медицинского работника, равного трем или более; iv) поражения атопическим дерматитом, превышающим или равным примерно 10% площади поверхности тела; v) показателя тяжести и площади, пораженной экземой, превышающих или равных 16; vi) абсолютного количества эозинофилов в крови, превышающего или равного 150 клеткам на мкл, превышающего или равного 200 клеткам на мкл, превышающего или равного 300 клеткам на мкл или превышающего или равного 350 клеткам на мкл; и vii) по меньшей мере одного состояния до лечения, выбранного из группы, состоящей из: 1) неадекватного ответа в течение шести месяцев или более на лекарство от атопического дерматита для местного применения; 2) плохой переносимости лекарства от атопического дерматита для местного применения; 3) побочного эффекта от приема лекарства от атопического дерматита для местного применения; и 4) неадекватного ответа на нефармакологическое лечение от атопического дерматита; и b) введения субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей антитело, содержащее тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и фармацевтически эффективный носитель; таким образом обеспечивая лечение атопического дерматита у субъекта.

Другим аспектом изобретения является способ уменьшения у субъекта абсолютного количества эозинофилов в крови, включающий этапы: a) идентификации

субъекта, имеющего состояние выбранное из группы, состоящей из астмы, легкой астмы, астмы средней тяжести, тяжелой астмы, легкой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы средней тяжести, тяжелой эозинофильной астмы, неконтролируемой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы, суб-эозинофильной астмы, хронической обструктивной болезни легких, эозинофильного гранулематоза с полиангиитом, гиперэозинофильного синдрома, носовых полипов, буллезного пемфигоида, эозинофильного эзофагита и атопического дерматита; и б) введения субъекту терапевтически эффективного количества антитела, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 5, аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 6, и аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 7; и вариабельную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 8, аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 10; таким образом уменьшая у субъекта абсолютное количество эозинофилов в крови.

Один из вариантов осуществления способа по изобретению дополнительно содержит этапы: а) проведения первого измерения абсолютного количества эозинофилов в крови у субъекта; б) проведения второго измерения абсолютного количества эозинофилов в крови у субъекта после введения субъекту терапевтически эффективного количества антигенсвязывающего белка; и с) сравнения первого измерения и второго измерения.

Один из вариантов осуществления способа по изобретению дополнительно содержит этапы: а) проведения первого измерения абсолютного количества эозинофилов в крови у субъекта; б) проведения второго измерения абсолютного количества эозинофилов в крови у субъекта после введения субъекту терапевтически эффективного количества антигенсвязывающего белка; и с) сравнения первого измерения и второго измерения; причем субъект имеет абсолютное количество эозинофилов в крови, выбранное из группы, состоящей из 200 клеток на мкл или более и 350 клеток на мкл или более.

Другим аспектом изобретения является способ уменьшения у субъекта абсолютного количества эозинофилов в крови, включающий этапы: а) идентификации субъекта, имеющего состояние выбранное из группы, состоящей из астмы, легкой астмы, астмы средней тяжести, тяжелой астмы, легкой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы средней тяжести, тяжелой эозинофильной астмы, неконтролируемой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы, суб-эозинофильной астмы, хронической обструктивной болезни легких, эозинофильного гранулематоза с полиангиитом, гиперэозинофильного синдрома, носовых полипов, буллезного пемфигоида, эозинофильного эзофагита, атопического дерматита, атопического дерматита средней тяжести и тяжелого атопического дерматита; и б) введения субъекту терапевтически эффективного количества антитела, содержащего тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1; таким

образом обеспечивая лечение атопического дерматита у субъекта.

Другим аспектом изобретения является способ уменьшения у субъекта абсолютного количества эозинофилов в крови, включающий этапы: а) идентификации субъекта, имеющего состояние выбранное из группы, состоящей из астмы, легкой астмы, астмы средней тяжести, тяжелой астмы, легкой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы средней тяжести, тяжелой эозинофильной астмы, неконтролируемой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы, суб-эозинофильной астмы, хронической обструктивной болезни легких, эозинофильного гранулематоза с полиангиитом, гиперэозинофильного синдрома, носовых полипов, буллезного пемфигоида, эозинофильного эзофагита, атопического дерматита, атопического дерматита средней тяжести и тяжелого атопического дерматита; и б) введения субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей антитело, содержащее тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и фармацевтически эффективный носитель; таким образом уменьшая у субъекта абсолютное количество эозинофилов в крови.

Один из вариантов осуществления изобретения представляет собой композицию по изобретению для применения в терапии.

Один из вариантов осуществления изобретения представляет собой композицию по изобретению для применения для лечения астмы, легкой астмы, астмы средней тяжести, тяжелой астмы, легкой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы средней тяжести, тяжелой эозинофильной астмы, неконтролируемой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы, суб-эозинофильной астмы, хронической обструктивной болезни легких, эозинофильного гранулематоза с полиангиитом, гиперэозинофильного синдрома, носовых полипов, буллезного пемфигоида, эозинофильного эзофагита, атопического дерматита, атопического дерматита средней тяжести и тяжелого атопического дерматита.

Композиции по изобретению могут дополнительно содержать буферный агент, выбранный из группы, состоящей из двухосновного гептагидрата фосфата натрия, фосфата, лимонной кислоты, цитрата, фосфата натрия, фосфата калия, цитрата натрия и гистидина, обеспечивающий рН от 6,8 до 7,2 или рН от 6,2 до 6,6, причем предпочтительным является значение рН 6,3. Буфер в композициях по изобретению может составлять примерно 10–30 мМ, примерно 10–20 мМ, примерно 20 мМ или примерно 15,5 мМ. Например, буфер в композициях по изобретению может представлять собой гептагидрат двухосновного фосфата натрия в концентрации примерно 20 мМ или примерно 15,5 мМ.

Композиции по изобретению могут содержать буферные агенты гептагидрат двухосновного фосфата натрия и лимонную кислоту, обеспечивающие рН от 6,2 до 6,6, включительно, причем предпочтительным является значение рН 6,3. Буферный агент на основе гептагидрата двухосновного фосфата натрия может присутствовать в диапазоне примерно 15–16,4 мМ, а буферный агент на основе лимонной кислоты может

присутствовать в диапазоне примерно 3,8–4,9 мМ. Например, композиции по изобретению могут содержать примерно 15,5 мМ гептагидрата двухосновного фосфата натрия и примерно 4,5 мМ моногидрата лимонной кислоты.

Композиции по изобретению могут дополнительно содержать сахар. Композиции по изобретению могут дополнительно содержать сахарозу. Сахароза может присутствовать в композициях по изобретению в диапазоне примерно 5–20%; примерно 10–15%, примерно 11–13% или составлять примерно 12% объемной массы.

Композиции по изобретению могут дополнительно содержать полисорбат 80. Полисорбат 80 может присутствовать в диапазоне примерно 0,01–0,1% объемной массы. Например, полисорбат 80 может присутствовать в композициях по изобретению в количестве примерно 0,02% объемной массы или примерно в 0,05% объемной массы.

Композиции по изобретению могут дополнительно содержать ЭДТА. ЭДТА может присутствовать в диапазоне примерно 0,01–0,1 мМ. Например, ЭДТА может присутствовать в концентрации примерно 0,05 мМ.

В одном из вариантов осуществления композиции по изобретению дополнительно содержат 20 мМ гептагидрата двухосновного фосфата натрия, 12% объемной массы сахарозы и 0,05% объемной массы полисорбата 80.

В другом варианте осуществления композиции по настоящему изобретению дополнительно содержат 15,5 мМ двухосновного фосфата натрия, 3,9 мМ моногидрата лимонной кислоты, 12% объемной массы сахарозы, 0,02% объемной массы полисорбата 80 и 0,05 мМ ЭДТА.

Композиции по изобретению могут содержать водную жидкую композицию с pH 6,2, содержащую 16,1 мМ гептагидрата двухосновного фосфата натрия, 3,9 мМ моногидрата лимонной кислоты, 12% объемной массы сахарозы, 0,02 объемной массы полисорбата 80 и 0,05 мМ ЭДТА.

Композиции по изобретению могут содержать водную жидкую композицию с pH 6,2, содержащую 15,2 мМ гептагидрата двухосновного фосфата натрия, 4,8 мМ моногидрата лимонной кислоты, 12% объемной массы сахарозы, 0,02 объемной массы полисорбата 80 и 0,05 мМ ЭДТА.

Композиции по изобретению могут содержать водную жидкую композицию с pH 6,4, содержащую 15,8 мМ гептагидрата двухосновного фосфата натрия, 4,2 мМ моногидрата лимонной кислоты, 12% объемной массы сахарозы, 0,02 объемной массы полисорбата 80 и 0,05 мМ ЭДТА.

Композиции по изобретению могут содержать водную жидкую композицию с pH 6,6, содержащую 16,3 мМ гептагидрата двухосновного фосфата натрия, 3,7 мМ моногидрата лимонной кислоты, 12% объемной массы сахарозы, 0,02 объемной массы полисорбата 80 и 0,05 мМ ЭДТА.

Композиции по изобретению могут содержать водную жидкую композицию с pH 6,3, содержащую 15,5 мМ гептагидрата двухосновного фосфата натрия, 4,5 мМ моногидрата лимонной кислоты, 12% объемной массы сахарозы, 0,02 объемной массы

полисорбата 80 и 0,05 мМ ЭДТА. Важно отметить, что этап ультрафильтрации в тангенциальном потоке и обмена/ультрафильтрации в приведенном ниже Примере 1 может быть отрегулирован для получения композиций по изобретению, таких как композиция по изобретению, содержащая 15,5 мМ гептагидрата двухосновного фосфата натрия, 4,5 мМ моногидрата лимонной кислоты, 12% объемной массы сахарозы, 0,02% объемной массы полисорбата 80, 0,05 мМ ЭДТА при рН 6,3 или других таких жидких композиций.

Композиции по изобретению могут содержать очищенный препарат моноклонального антитела и буферный агент, причем композиция имеет рН от 6,8 до 7,2, при этом буферный агент представляет собой гистидин, фосфат, лимонную кислоту, цитрат или их соль.

В композициях по изобретению буферный агент может представлять собой по меньшей мере один агент, выбранный из группы, состоящей из гептагидрата двухосновного фосфата натрия, фосфата, лимонной кислоты и цитрата.

В композициях по изобретению буферный агент может представлять собой фосфат натрия, фосфат калия или цитрат натрия.

Композиции по изобретению могут содержать сахар, углевод и/или соль.

Композиции по настоящему изобретению также могут содержать сахарозу или трегалозу.

Композиции по изобретению также могут содержать очищенный препарат моноклонального антитела и буферный агент, причем композиция имеет рН от 6,8 до 7,2, при этом буферный агент представляет собой фосфат или его соль.

Композиция по изобретению также может содержать состав, выбранный из: первого состава, содержащего 20 мМ гептагидрата двухосновного фосфата натрия, 12% объемной массы сахарозы и 0,05% объемной массы полисорбата 80; и второго состава, содержащего 15,5 мМ гептагидрата двухосновного фосфата натрия, 3,9 мМ моногидрата лимонной кислоты, 12% объемной массы сахарозы, 0,02% объемной массы полисорбата 80 и 0,05 мМ ЭДТА; и третьего состава, содержащего 26 мМ гептагидрата двухосновного фосфата натрия, 15% объемной массы сахарозы и 0,065% объемной массы полисорбата 80. Композиция может иметь рН от примерно 6,8 до примерно 7,2, от примерно 6,1 до примерно 6,5 или от примерно 6 до примерно 6,6.

Композиции, описанные в настоящей заявке, могут быть получены любым количеством обычных методов. Например, композиции могут быть экспрессированы в рекомбинантных системах экспрессии и очищены из этих систем. В одном из вариантов осуществления композицию получают способом культивирования клеток-хозяев в условиях, подходящих для экспрессии полипептида, содержащего SEQ ID NO: 1 и SEQ ID NO: 2, причем композицию экспрессируют, и необязательно очищают, и необязательно готовят в виде фармацевтической композиции.

Для получения композиций может быть использовано несколько различных систем экспрессии и режимов очистки. Клетки-хозяева, как правило, трансформируют

рекомбинантным вектором экспрессии, кодирующим антитело. Можно использовать широкий спектр клеток-хозяев, включая линии эукариотических клеток млекопитающего (например, CHO, Perc6, HEK293, HeLa, NS0). Подходящие клетки-хозяева включают клетки млекопитающих, такие как CHO (например, CHO-K1 и CHO-DG44).

Клетка-хозяин может быть изолированной клеткой-хозяином. Клетка-хозяин обычно не является частью многоклеточного организма (например, растения или животного). Клетка-хозяин может быть клеткой-хозяином, отличной от человеческой.

Подходящие векторы клонирования и экспрессии для использования с эукариотическими клетками-хозяевами или клетками-хозяевами млекопитающих и в способах клонирования известны в данной области.

Клетки можно культивировать в условиях, которые способствуют экспрессии антитела. Например, для культивирования клеток используется производственный биореактор. Объем производственного биореактора может составлять: (i) примерно 20000 литров, примерно 10000 литров; примерно 5000 литров; примерно 2000 литров; примерно 1000 литров; или примерно 500 литров; или (ii) от 500 до 20000 литров; от 500 до 10000 литров; от 500 до 5000 литров; от 1000 до 10000 литров или от 2000 до 10000 литров. Например, клетки можно культивировать в производственном биореакторе при pH от примерно 6,75 до pH 7,00. Альтернативно, клетки можно культивировать в производственном биореакторе в течение от примерно 12 до примерно 18 дней. Альтернативно, клетки можно культивировать в производственном биореакторе при pH от примерно 6,75 до pH 7,00 в течение от примерно 12 до примерно 18 дней. Этот этап культивирования может помочь контролировать уровень вариантов дезамидированного антитела, например, чтобы снизить уровень вариантов дезамидированного антитела.

Композиция может быть выделена и очищена с помощью обычных процедур очистки белка. Например, композиция может быть собрана непосредственно из культуральной среды. Сбор среды для культивирования клеток может осуществляться путем осветления, например, центрифугирования и/или глубокой фильтрации. Извлечение композиции сопровождается очисткой для обеспечения адекватной чистоты.

Для очистки могут быть использованы один или более этапов хроматографии, например, одна или более хроматографических смол; и/или один или более этапов фильтрации. Например, для очистки композиции может быть использована аффинная хроматография с использованием смол, таких как белок A, G или L. Альтернативно или дополнительно, для очистки композиции можно использовать ионообменную смолу, такую как катионообменная смола. Альтернативно или дополнительно, для очистки композиции может быть использована хроматографическая смола гидрофобного взаимодействия. Альтернативно, этапы очистки включают: этап со смолой для аффинной хроматографии, за которой следует этап с катионообменной смолой, за которой следует этап с хроматографической смолой гидрофобного взаимодействия.

Например, собранную среду помещают в контакт со смолой с белком A. Раствор, содержащий композицию, можно элюировать из смолы с белком A и обрабатывать при pH

от 3,3 до 3,7 в течение от 15 до 240 минут. Этот этап со смолой с белком А может помочь контролировать уровень агрегированных вариантов антитела, например, чтобы снизить уровень агрегированных вариантов антитела.

Затем раствор, содержащий композицию, может быть дополнительно осветлен глубокой фильтрацией и/или двухслойной фильтрацией.

Альтернативно или дополнительно, можно использовать анионообменную смолу. Раствор, содержащий композицию, может быть приведен в контакт с анионообменной смолой (например, при анионообменной хроматографии на колонке Q-SEPHAROSE™ Fast Flow) при pH от 8,3 до 8,7. Раствор, содержащий композицию, может быть элюирован из анионообменной смолы и выдержан в течение 96 часов или менее. Этот этап с анионообменной смолой может помочь контролировать уровень вариантов дезамидированного антитела, например, чтобы снизить уровень вариантов дезамидированного антитела.

К раствору, содержащему композицию, необязательно могут быть добавлены гуанидин и/или сульфат аммония с последующей стабилизацией в течение от 15 до 240 минут.

Альтернативно или дополнительно, может быть использована хроматографическая смола гидрофобного взаимодействия. Раствор, содержащий композицию, может быть приведен в контакт с хроматографической смолой гидрофобного взаимодействия (например, при хроматографии на фенил-SEPHAROSE™ быстрого потока) при отношении нагрузок от 12 до 27 г белка/л смолы. Например, раствор, содержащий композицию, может быть элюирован объемом градиентного элюирования (объемы слоя; BV) от примерно 9 до примерно 11. Во время элюирования из хроматографической смолы гидрофобного взаимодействия можно остановить снижение максимума пика элюирования (% от высоты максимального пика) от примерно 17 до примерно 23. Этот этап с хроматографической смолой гидрофобного взаимодействия может помочь контролировать уровень вариантов агрегированных антител, например, чтобы снизить уровень вариантов агрегированных антител.

Затем раствор, содержащий композицию, может быть отфильтрован для удаления вируса. После этого, может быть приготовлен раствор, содержащий композицию с концентрацией антител от примерно 76 г белка/л до примерно 82 г белка/л или до примерно 100 г белка/л. Раствор, содержащий композицию, может быть разлит в контейнеры и заморожен. Аликвоты раствора, содержащего композицию, могут быть лиофилизированы. Лиофилизат может быть восстановлен добавлением воды для получения композиции, содержащей 75 мг/л белка, анти-IL-5 моноклонального антитела, и 20 mM гептагидрата двухосновного фосфата натрия, 12% объемной массы сахарозы и 0,05% объемной массы полисорбата 80 при pH от примерно 6,8 до примерно 7,2.

Таким образом, изобретение включает:

1. Антигенсвязывающий белок, содержащий переменную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDRH1, показанную в SEQ ID NO: 5,

аминокислотную последовательность CDRH2, показанную в SEQ ID NO: 6, и аминокислотную последовательность CDRH3, показанную в SEQ ID NO: 7; и переменную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDRL1, показанную в SEQ ID NO: 8, аминокислотную последовательность CDRL2, показанную в SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность CDRL3, показанную в SEQ ID NO: 10.

2. Антигенсвязывающий белок по 1, у которого переменная область тяжелой цепи дополнительно содержит аминокислотную последовательность FR4 тяжелой цепи, показанную в SEQ ID NO: 21.

3. Антигенсвязывающий белок по 2, содержащий Fc-домен тяжелой цепи, имеющий остаток тирозина в положении 252, остаток треонина в положении 254 и остаток глутаминовой кислоты в положении 256, причем амино-конец Fc-домена тяжелой цепи соединен с карбокси-концом переменной области тяжелой цепи.

4. Антигенсвязывающий белок, содержащий последовательность переменной области тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 3; и последовательность переменной области легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 4.

5. Антигенсвязывающий белок по 4, содержащий Fc-домен тяжелой цепи, имеющий остаток тирозина в положении 252, остаток треонина в положении 254 и остаток глутаминовой кислоты в положении 256, причем амино-конец Fc-домена тяжелой цепи соединен с карбокси-концом переменной области тяжелой цепи.

6. Антитело, содержащее тяжелую цепь и легкую цепь, причем

а) тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDRH1, показанную в SEQ ID NO: 5, аминокислотную последовательность CDRH2, показанную в SEQ ID NO: 6, и аминокислотную последовательность CDRH3, показанную в SEQ ID NO: 7

б) легкая цепь содержит переменную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDRL1, показанную в SEQ ID NO: 8, аминокислотную последовательность CDRL2, показанную в SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность CDRL3, показанную в SEQ ID NO: 10.

7. Антитело по 6, в котором переменная область тяжелой цепи дополнительно содержит аминокислотную последовательность FR4 тяжелой цепи, показанную в SEQ ID NO: 21.

8. Антитело по 7, в котором тяжелая цепь содержит Fc-домен тяжелой цепи, имеющий остаток тирозина в положении 252, остаток треонина в положении 254 и остаток глутаминовой кислоты в положении 256.

9. Антитело, содержащее тяжелую цепь и легкую цепь, причем

а) тяжелая цепь содержит последовательность переменной области тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 3; и

б) легкая цепь содержит последовательность переменной области легкой цепи,

имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 4.

10. Антитело по 9, в котором тяжелая цепь содержит Fc-домен тяжелой цепи, имеющий остаток тирозина в положении 252, остаток треонина в положении 254 и остаток глутаминовой кислоты в положении 256.

11. Антитело, содержащее тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 2.

12. Пептидная цепь, содержащая аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 3.

13. Пептидная цепь, содержащая аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1.

14. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую переменную область тяжелой цепи по 1, и нуклеиновую кислоту, кодирующую переменную область легкой цепи антигенсвязывающего белка по 1.

15. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую переменную область тяжелой цепи по 2, и нуклеиновую кислоту, кодирующую переменную область легкой цепи по 2.

16. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую Fc-домен тяжелой цепи, соединенный с карбокси-концом переменной области тяжелой цепи по 3, и нуклеиновую кислоту, кодирующую переменную область легкой цепи по 3.

17. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую переменную область тяжелой цепи по 6, и нуклеиновую кислоту, кодирующую переменную область легкой цепи антигенсвязывающего белка по 6.

18. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую переменную область тяжелой цепи по 7, и нуклеиновую кислоту, кодирующую переменную область легкой цепи по 7.

19. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую Fc-домен тяжелой цепи, соединенный с карбокси-концом переменной области тяжелой цепи по 8, и нуклеиновую кислоту, кодирующую переменную область легкой цепи по 8.

20. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 3, и нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 4.

21. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 2.

22. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 3.

23. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1.

24. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, имеющую

последовательность, показанную в SEQ ID NO: 15, и нуклеиновую кислоту, имеющую последовательность, показанную в SEQ ID NO: 16.

25. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, имеющую последовательность, показанную в SEQ ID NO: 17, и нуклеиновую кислоту, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 18.

26. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, имеющую последовательность, показанную в SEQ ID NO: 13, и нуклеиновую кислоту, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 14.

27. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, имеющую последовательность, показанную в SEQ ID NO: 15.

28. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, имеющую последовательность, показанную в SEQ ID NO: 17.

29. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, имеющую последовательность, показанную в SEQ ID NO: 13.

30. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую переменную область тяжелой цепи по 1.

31. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую переменную область тяжелой цепи по 2.

32. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую Fc-домен тяжелой цепи, соединенный с карбокси-концом переменной области тяжелой цепи по 3.

33. Вектор экспрессии, содержащий композицию по 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31 или 32.

34. Рекомбинантная клетка-хозяин, содержащая вектор экспрессии, содержащий композицию по 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31 или 32.

35. Способ получения пептидной цепи, содержащей аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 3, причем указанный способ включает этап культивирования рекомбинантной клетки-хозяина, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 3; и извлечения пептидной цепи.

36. Способ по 35, в котором нуклеиновая кислота содержит последовательность, показанную в SEQ ID NO: 15.

37. Способ по 35, в котором нуклеиновая кислота содержит последовательность, показанную в SEQ ID NO: 13.

38. Способ по 35, в котором нуклеиновая кислота содержит последовательность, показанную в SEQ ID NO: 17.

39. Способ получения антигенсвязывающего белка, включающий этапы:

а) культивирования рекомбинантной клетки-хозяина, содержащей вектор экспрессии, содержащий композицию по 14, 15 или 16; и

б) извлечения антигенсвязывающего белка;

таким образом получая антигенсвязывающий белок.

40. Антигенсвязывающий белок, продуцированный способом по 39.
41. Способ получения антитела, включающий этап:
- a) культивирования рекомбинантной клетки-хозяина, содержащей вектор экспрессии, содержащий композицию по 17, 18 или 19; и
  - b) извлечения антитела;
- таким образом получая антитело.
42. Антитело, продуцированное способом по 41.
43. Способ получения антитела, включающий этап:
- a) культивирования рекомбинантной клетки-хозяина, содержащей вектор экспрессии, содержащий композицию по 20 или 22; и
  - b) извлечения антитела;
- таким образом получая антитело.
44. Антитело, продуцированное способом по 43.
45. Способ получения антитела, включающий этап:
- a) культивирования рекомбинантной клетки-хозяина, содержащей вектор экспрессии, содержащий композицию по 24, 26 или 27; и
  - b) извлечения антитела;
- таким образом получая антитело.
46. Антитело, продуцированное способом по 45.
47. Способ получения антитела, включающий этап:
- a) культивирования рекомбинантной клетки-хозяина, содержащей вектор экспрессии, содержащий нуклеиновую кислоту, имеющую последовательность, показанную в SEQ ID NO: 17, и нуклеиновую кислоту, имеющую последовательность, показанную в SEQ ID NO: 18; и
  - b) извлечения антитела;
- таким образом получая антитело.
48. Антитело, продуцированное способом по 47.
49. Фармацевтическая композиция, содержащая:
- a) антигенсвязывающий белок, содержащий переменную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDRH1, показанную в SEQ ID NO: 5, аминокислотную последовательность CDRH2, показанную в SEQ ID NO: 6, и аминокислотную последовательность CDRH3, показанную в SEQ ID NO: 7; и переменную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDRL1, показанную в SEQ ID NO: 8, аминокислотную последовательность CDRL2, показанную в SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность CDRL3, показанную в SEQ ID NO: 10; и
  - b) фармацевтически приемлемый носитель.
50. Фармацевтическая композиция по 49, в которой переменная область тяжелой цепи дополнительно содержит аминокислотную последовательность FR4 тяжелой цепи, показанную в SEQ ID NO: 21.

51. Фармацевтическая композиция по 50, содержащая Fc-домен тяжелой цепи, имеющий остаток тирозина в положении 252, остаток треонина в положении 254 и остаток глутаминовой кислоты в положении 256, причем амино-конец Fc-домена тяжелой цепи соединен с карбокси-концом варибельной области тяжелой цепи.

52. Фармацевтическая композиция по 51, в которой антигенсвязывающий белок находится в концентрации от примерно 75 мг/мл до примерно 150 мг/мл.

53. Фармацевтическая композиция по 49, 50, 51 или 52, в которой фармацевтически эффективный носитель содержит водный жидкий состав при pH от примерно 5,5 до примерно 6,0, содержащий примерно 40 мМ гистидина, примерно 180 мМ трегалозы, примерно 100 мМ аргинина, примерно 8 мМ метионина, примерно 0,02% объемной массы полисорбата 80 и примерно 0,05 мМ ЭДТА.

54. Фармацевтическая композиция по 53, в которой pH составляет примерно 6,0, и антигенсвязывающий белок находится в концентрации примерно 150 мг/мл.

55. Фармацевтическая композиция, содержащая:

а) антитело, содержащее варибельную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDRH1, показанную в SEQ ID NO: 5, аминокислотную последовательность CDRH2, показанную в SEQ ID NO: 6, и аминокислотную последовательность CDRH3, показанную в SEQ ID NO: 7; и варибельную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDRL1, показанную в SEQ ID NO: 8, аминокислотную последовательность CDRL2, показанную в SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность CDRL3, показанную в SEQ ID NO: 10; и

б) фармацевтически приемлемый носитель.

56. Фармацевтическая композиция по 55, в которой варибельная область тяжелой цепи дополнительно содержит аминокислотную последовательность FR4 тяжелой цепи, показанную в SEQ ID NO: 21.

57. Фармацевтическая композиция по 56, содержащая Fc-домен тяжелой цепи, имеющий остаток тирозина в положении 252, остаток треонина в положении 254 и остаток глутаминовой кислоты в положении 256, причем амино-конец Fc-домена тяжелой цепи соединен с карбокси-концом варибельной области тяжелой цепи.

58. Фармацевтическая композиция по 57, в которой антитело имеет концентрацию от примерно 75 мг/мл до примерно 150 мг/мл.

59. Фармацевтическая композиция по 55, 56, 57 или 58, в которой фармацевтически эффективный носитель содержит водный жидкий состав при pH от примерно 5,5 до примерно 6,0, содержащий примерно 40 мМ гистидина, примерно 180 мМ трегалозы, примерно 100 мМ аргинина, примерно 8 мМ метионина, примерно 0,02% объемной массы полисорбата 80 и примерно 0,05 мМ ЭДТА.

60. Фармацевтическая композиция по 59, в которой pH составляет примерно 6,0, и антитело находится в концентрации примерно 150 мг/мл.

61. Фармацевтическая композиция, содержащая:

а) антитело, содержащее тяжелую цепь и легкую цепь, причем тяжелая цепь содержит последовательность вариабельной области тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 3; и легкая цепь содержит последовательность вариабельной области легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 4; и

б) фармацевтически приемлемый носитель.

62. Фармацевтическая композиция по 61, содержащая Fc-домен тяжелой цепи, имеющий остаток тирозина в положении 252, остаток треонина в положении 254 и остаток глутаминовой кислоты в положении 256, причем амино-конец Fc-домена тяжелой цепи соединен с карбокси-концом вариабельной области тяжелой цепи.

63. Фармацевтическая композиция по 62, в которой антитело имеет концентрацию от примерно 75 мг/мл до примерно 150 мг/мл.

64. Фармацевтическая композиция по 61, 62 или 63, в которой фармацевтически эффективный носитель содержит водный жидкий состав при pH от примерно 5,5 до примерно 6,0, содержащую примерно 40 мМ гистидина, примерно 180 мМ трегалозы, примерно 100 мМ аргинина, примерно 8 мМ метионина, примерно 0,02% объемной массы полисорбата 80 и примерно 0,05 мМ ЭДТА.

65. Фармацевтическая композиция по 64, в которой pH составляет примерно 6,0, и антитело находится в концентрации примерно 150 мг/мл.

66. Фармацевтическая композиция, содержащая:

а) антитело, содержащее тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 2; и

б) фармацевтически приемлемый носитель.

67. Фармацевтическая композиция по 66, в которой антигенсвязывающий белок находится в концентрации от примерно 75 мг/мл до примерно 150 мг/мл.

68. Фармацевтическая композиция, в которой фармацевтически эффективный носитель содержит водный жидкий состав при pH от примерно 5,5 до примерно 6,0, содержащую примерно 40 мМ гистидина, примерно 180 мМ трегалозы, примерно 100 мМ аргинина, примерно 8 мМ метионина, примерно 0,02% объемной массы полисорбата 80 и примерно 0,05 мМ ЭДТА.

69. Фармацевтическая композиция по 68, в которой pH составляет примерно 6,0, и антигенсвязывающий белок находится в концентрации примерно 150 мг/мл.

70. Способ лечения заболевания у пациента, включающий этапы:

а) идентификации субъекта, имеющего заболевание, выбранное из группы, состоящей из астмы, легкой астмы, астмы средней тяжести, тяжелой астмы, легкой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы средней тяжести, тяжелой эозинофильной астмы, неконтролируемой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы, суб-эозинофильной астмы, хронической обструктивной болезни легких, эозинофильного гранулематоза с полиангиитом, гиперэозинофильного синдрома, носовых полипов,

буллезного пемфигоида, эозинофильного эзофагита, атопического дерматита, атопического дерматита средней тяжести и тяжелого атопического дерматита; и

б) введения субъекту терапевтически эффективного количества антигенсвязывающего белка по 1, 2, 3, 4, 5 или 40;

таким образом обеспечивая лечение заболевания у субъекта.

71. Способ по 70, в котором количество антигенсвязывающего белка составляет от примерно 2 до примерно 600 мг.

72. Способ по 71, в котором антигенсвязывающий белок вводят один раз каждые 3 месяца или один раз каждые 6 месяцев.

73. Способ по 70, 71 или 72, в котором субъект имеет абсолютное количество эозинофилов в крови, выбранное из группы, состоящей из 200 клеток на мкл или более и 350 клеток на мкл или более.

74. Способ лечения заболевания у пациента, включающий этапы:

а) идентификации субъекта, имеющего заболевание, выбранное из группы, состоящей из астмы, легкой астмы, астмы средней тяжести, тяжелой астмы, легкой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы средней тяжести, тяжелой эозинофильной астмы, неконтролируемой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы, субэозинофильной астмы, хронической обструктивной болезни легких, эозинофильного гранулематоза с полиангиитом, гиперэозинофильного синдрома, носовых полипов, буллезного пемфигоида, эозинофильного эзофагита, атопического дерматита, атопического дерматита средней тяжести и тяжелого атопического дерматита; и

б) введения субъекту терапевтически эффективного количества антитела по 6, 7, 8, 9, 10, 11, 42, 44, 46 и 48;

таким образом обеспечивая лечение заболевания у субъекта.

75. Способ по 74, в котором количество антитела составляет от примерно 2 до примерно 600 мг.

76. Способ по 75, в котором антитело вводят один раз каждые 3 месяца или один раз каждые 6 месяцев.

77. Способ по 74, 75 или 76, в котором субъект имеет абсолютное количество эозинофилов в крови, выбранное из группы, состоящей из 200 клеток на мкл или более и 350 клеток на мкл или более.

78. Способ лечения заболевания у пациента, включающий этапы:

а) идентификации субъекта, имеющего заболевание, выбранное из группы, состоящей из астмы, легкой астмы, астмы средней тяжести, тяжелой астмы, легкой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы средней тяжести, тяжелой эозинофильной астмы, неконтролируемой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы, субэозинофильной астмы, хронической обструктивной болезни легких, эозинофильного гранулематоза с полиангиитом, гиперэозинофильного синдрома, носовых полипов, буллезного пемфигоида, эозинофильного эзофагита, атопического дерматита, атопического дерматита средней тяжести и тяжелого атопического дерматита; и

б) введения субъекту терапевтически эффективного количества композиции по 49, 50, 51, 52, 53 или 54;

таким образом обеспечивая лечение заболевания у субъекта.

79. Способ по 78, в котором количество композиции обеспечивает дозу антигенсвязывающего белка от примерно 2 до примерно 600 мг.

80. Способ по 79, в котором композицию вводят один раз каждые 3 месяца или один раз каждые 6 месяцев.

81. Способ по 78, 79 или 80, в котором субъект имеет абсолютное количество эозинофилов в крови, выбранное из группы, состоящей из 200 клеток на мкл или более и 350 клеток на мкл или более.

82. Способ лечения заболевания у пациента, включающий этапы:

а) идентификации субъекта, имеющего заболевание, выбранное из группы, состоящей из астмы, легкой астмы, астмы средней тяжести, тяжелой астмы, легкой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы средней тяжести, тяжелой эозинофильной астмы, неконтролируемой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы, субэозинофильной астмы, хронической обструктивной болезни легких, эозинофильного гранулематоза с полиангиитом, гиперэозинофильного синдрома, носовых полипов, буллезного пемфигоида, эозинофильного эзофагита, атопического дерматита, атопического дерматита средней тяжести и тяжелого атопического дерматита; и

б) введения субъекту терапевтически эффективного количества композиции по 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 65, 65, 66, 67, 68 или 69;

таким образом обеспечивая лечение заболевания у субъекта.

83. Способ по 82, в котором количество композиции обеспечивает дозу антигенсвязывающего белка от примерно 2 мг до примерно 600 мг.

84. Способ по 83, в котором антитело вводят один раз каждые 3 месяца или один раз каждые 6 месяцев.

85. Способ по 82, 83 или 84, в котором субъект имеет абсолютное количество эозинофилов в крови, выбранное из группы, состоящей из 200 клеток на мкл или более и 350 клеток на мкл или более.

86. Способ лечения астмы от легкой до средней степени тяжести у субъекта, включающий этапы:

а) идентификации субъекта, имеющего диагноз астмы от легкой до средней степени тяжести; и

б) введения субъекту терапевтически эффективного количества антитела, содержащего переменную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 5, аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 6, и аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 7; и переменную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 8, аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 9, и

аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 10;

таким образом обеспечивая лечение астмы от легкой до средней степени тяжести.

87. Способ по 86, в котором переменная область тяжелой цепи дополнительно содержит аминокислотную последовательность FR4 тяжелой цепи, показанную в SEQ ID NO: 21.

88. Способ по 87, в котором антитело содержит Fc-домен тяжелой цепи, имеющий остаток тирозина в положении 252, остаток треонина в положении 254 и остаток глутаминовой кислоты в положении 256, причем амино-конец Fc-домена тяжелой цепи соединен с карбокси-концом переменной области тяжелой цепи.

89. Способ по 88, в котором антитело содержит последовательность переменной области тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 3; и последовательность переменной области легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 4.

90. Способ по 89, в котором доза антитела составляет от примерно 2 мг до примерно 600 мг.

91. Способ по 90, в котором антитело вводят один раз каждые 3 месяца или один раз каждые 6 месяцев.

92. Способ по 90, в котором антитело вводят подкожно.

93. Способ по 86, 87, 88, 89, 90, 91 или 92, в котором субъект имеет абсолютное количество эозинофилов в крови, выбранное из группы, состоящей из 200 клеток на мкл или более и 350 клеток на мкл или более.

94. Способ лечения астмы от легкой до средней степени тяжести у субъекта, включающий этапы:

а) идентификации субъекта, имеющего диагноз астмы от легкой до средней степени тяжести; и

б) введения субъекту терапевтически эффективного количества антитела, содержащего тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1;

таким образом обеспечивая лечение астмы от легкой до средней степени тяжести.

95. Способ по 94, в котором доза антитела составляет от примерно 2 мг до примерно 600 мг.

96. Способ по 95, в котором антитело вводят один раз каждые 3 месяца или один раз каждые 6 месяцев.

97. Способ по 96, в котором антитело вводят подкожно.

98. Способ по 94, 95, 96 или 97, в котором субъект имеет абсолютное количество эозинофилов в крови, выбранное из группы, состоящей из 200 клеток на мкл или более и 350 клеток на мкл или более.

99. Способ лечения астмы от легкой до средней степени тяжести у субъекта, включающий этапы:

а) идентификации субъекта, имеющего диагноз астмы от легкой до средней степени тяжести; и

б) введения субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей антитело, содержащее тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и фармацевтически эффективный носитель;

таким образом обеспечивая лечение астмы от легкой до средней степени тяжести.

100. Способ по 92, в котором фармацевтически эффективный носитель содержит водный жидкий состав при pH от примерно 5,5 до примерно 6,0, содержащий примерно 40 мМ гистидина, примерно 180 мМ трегалозы, примерно 100 мМ аргинина, примерно 8 мМ метионина, примерно 0,02% объемной массы полисорбата 80 и примерно 0,05 мМ ЭДТА.

101. Способ по 100, в котором доза антитела составляет от примерно 2 мг до примерно 600 мг.

102. Способ по 101, в котором фармацевтическую композицию вводят один раз каждые 3 месяца или один раз каждые 6 месяцев.

103. Способ по 102, в котором фармацевтическую композицию вводят подкожно.

104. Способ по 99, 100, 101, 102 или 103, в котором субъект имеет абсолютное количество эозинофилов в крови, выбранное из группы, состоящей из 200 клеток на мкл или более и 350 клеток на мкл или более.

105. Способ лечения тяжелой астмы у пациента, включающий этапы:

а) идентификации субъекта, имеющего диагноз тяжелой астмы; и

б) введения субъекту терапевтически эффективного количества антитела, содержащего переменную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 5, аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 6, и аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 7; и переменную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 8, аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 10;

таким образом обеспечивая лечение тяжелой астмы.

106. Способ по 105, в котором переменная область тяжелой цепи дополнительно содержит аминокислотную последовательность FR4 тяжелой цепи, показанную в SEQ ID NO: 21.

107. Способ по 106, в котором антитело содержит Fc-домен тяжелой цепи, имеющий остаток тирозина в положении 252, остаток треонина в положении 254 и остаток глутаминовой кислоты в положении 256, причем амино-конец Fc-домена тяжелой цепи соединен с карбокси-концом переменной области тяжелой цепи.

108. Способ по 107, в котором антитело содержит последовательность переменной области тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность,

показанную в SEQ ID NO: 3; и последовательность вариабельной области легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 4.

109. Способ по 108, в котором доза антитела составляет от примерно 2 мг до примерно 600 мг.

110. Способ по 109, в котором антитело вводят один раз каждые 3 месяца или один раз каждые 6 месяцев.

111. Способ по 110, в котором антитело вводят подкожно.

112. Способ по 105, 106, 107, 108, 109, 110 или 111, в котором субъект имеет абсолютное количество эозинофилов в крови, выбранное из группы, состоящей из 200 клеток на мкл или более и 350 клеток на мкл или более.

113. Способ лечения тяжелой астмы у пациента, включающий этапы:

а) идентификации субъекта, имеющего диагноз тяжелой астмы; и

б) введения субъекту терапевтически эффективного количества антитела, содержащего тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1;

таким образом обеспечивая лечение тяжелой астмы.

114. Способ по 113, в котором доза антитела составляет от примерно 2 мг до примерно 600 мг.

115. Способ по 114, в котором антитело вводят один раз каждые 3 месяца или один раз каждые 6 месяцев.

116. Способ по 115, в котором антитело вводят подкожно.

117. Способ по 113, 114, 115 или 116, в котором субъект имеет абсолютное количество эозинофилов в крови, выбранное из группы, состоящей из 200 клеток на мкл или более и 350 клеток на мкл или более.

118. Способ лечения тяжелой астмы у пациента, включающий этапы:

а) идентификации субъекта, имеющего диагноз тяжелой астмы; и

б) введения субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей антитело, содержащее тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и фармацевтически эффективный носитель;

таким образом обеспечивая лечение тяжелой астмы.

119. Способ по 118, в котором фармацевтически эффективный носитель содержит водный жидкий состав при pH от примерно 5,5 до примерно 6,0, содержащий примерно 40 mM гистидина, примерно 180 mM трегалозы, примерно 100 mM аргинина, примерно 8 mM метионина, примерно 0,02% объемной массы полисорбата 80 и примерно 0,05 mM ЭДТА.

120. Способ по 119, в котором доза антитела составляет от примерно 2 мг до примерно 600 мг.

121. Способ по 120, в котором фармацевтическую композицию вводят один раз

каждые 3 месяца или один раз каждые 6 месяцев.

122. Способ по 121, в котором фармацевтическую композицию вводят подкожно.

123. Способ по 118, 119, 120, 121 или 122, в котором субъект имеет абсолютное количество эозинофилов в крови, выбранное из группы, состоящей из 200 клеток на мкл или более и 350 клеток на мкл или более.

124. Способ лечения у субъекта atopического дерматита от средней до тяжелой степени, включающий этапы:

a) идентификации субъекта, имеющего по меньшей мере один из признаков, выбранный из группы, состоящей из:

i) диагноза atopического дерматита в соответствии с критериями Ханифина и Райка, пересмотренными Эйхенвальдом;

ii) предварительного диагноза atopического дерматита, поставленного более двух лет назад или примерно два года назад до начала лечения;

iii) общего балла по оценке медицинского работника, равного трем или более;

iv) поражения atopическим дерматитом, превышающим или равным примерно 10% площади поверхности тела;

v) показателя тяжести и площади, пораженной экземой, превышающих или равных 16;

vi) абсолютного количества эозинофилов в крови, превышающего или равного 150 клеткам на мкл, превышающего или равного 200 клеткам на мкл, превышающего или равного 300 клеткам на мкл или превышающего или равного 350 клеткам на мкл;

и vii) по меньшей мере одного состояния до лечения, выбранного из группы, состоящей из: 1) неадекватного ответа в течение шести месяцев или более на лекарство от atopического дерматита для местного применения; 2) плохой переносимости лекарства от atopического дерматита для местного применения; 3) побочного эффекта от приема лекарства от atopического дерматита для местного применения; и 4) неадекватного ответа на нефармакологическое лечение от atopического дерматита; и

b) введения субъекту терапевтически эффективного количества антитела, содержащего переменную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 5, аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 6, и аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 7; и переменную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 8, аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 10;

таким образом обеспечивая лечение atopического дерматита у субъекта.

125. Способ по 124, в котором переменная область тяжелой цепи дополнительно содержит аминокислотную последовательность FR4 тяжелой цепи, показанную в SEQ ID NO: 21.

126. Способ по 125, в котором антитело содержит Fc-домен тяжелой цепи,

имеющий остаток тирозина в положении 252, остаток треонина в положении 254 и остаток глутаминовой кислоты в положении 256, причем амино-конец Fc-домена тяжелой цепи соединен с карбокси-концом варибельной области тяжелой цепи.

127. Способ по 126, в котором антитело содержит последовательность варибельной области тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 3; и последовательность варибельной области легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 4.

128. Способ по 127, в котором доза антитела составляет от примерно 2 мг до примерно 600 мг.

129. Способ по 128, в котором антитело вводят один раз каждые 3 месяца или один раз каждые 6 месяцев.

130. Способ по 128, в котором антитело вводят подкожно.

131. Способ по 128, в котором антитело вводят внутривенно.

132. Способ лечения у субъекта atopического дерматита от средней до тяжелой степени, включающий этапы:

а) идентификации субъекта, имеющего по меньшей мере один из признаков, выбранный из группы, состоящей из:

i) диагноза atopического дерматита в соответствии с критериями Ханифина и Райка, пересмотренными Эйхенвальдом;

ii) предварительного диагноза atopического дерматита, поставленного более двух лет назад или примерно два года назад до начала лечения;

iii) общего балла по оценке медицинского работника, равного трем или более;

iv) поражения atopическим дерматитом, превышающим или равным примерно 10% площади поверхности тела;

v) показателя тяжести и площади, пораженной экземой, превышающих или равных 16;

vi) абсолютного количества эозинофилов в крови, превышающего или равного 150 клеткам на мкл, превышающего или равного 200 клеткам на мкл, превышающего или равного 300 клеткам на мкл или превышающего или равного 350 клеткам на мкл;

и vii) по меньшей мере одного состояния до лечения, выбранного из группы, состоящей из: 1) неадекватного ответа в течение шести месяцев или более на лекарство от atopического дерматита для местного применения; 2) плохой переносимости лекарства от atopического дерматита для местного применения; 3) побочного эффекта от приема лекарства от atopического дерматита для местного применения; и 4) неадекватного ответа на нефармакологическое лечение от atopического дерматита; и

b) введения субъекту терапевтически эффективного количества антитела, содержащего тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1;

таким образом обеспечивая лечение atopического дерматита у субъекта.

133. Способ по 132, в котором доза антитела составляет от примерно 2 мг до примерно 600 мг.

134. Способ по 133, в котором антитело вводят один раз каждые 3 месяца или один раз каждые 6 месяцев.

135. Способ по 134, в котором антитело вводят подкожно.

136. Способ по 132, 133, 134 или 135, в котором субъект имеет абсолютное количество эозинофилов, выбранное из группы, состоящей из 200 клеток на мкл или более и 150 клеток на мкл или более, 200 клеток на мкл или более и 350 клеток на мкл или более.

137. Способ лечения у субъекта атопического дерматита от средней до тяжелой степени, включающий этапы:

а) идентификации субъекта, имеющего по меньшей мере один из признаков, выбранный из группы, состоящей из:

i) диагноза атопического дерматита в соответствии с критериями Ханифина и Райка, пересмотренными Эйхенвальдом;

ii) предварительного диагноза атопического дерматита, поставленного более двух лет назад или примерно два года назад до начала лечения;

iii) общего балла по оценке медицинского работника, равного трем или более;

iv) поражения атопическим дерматитом, превышающим или равным примерно 10% площади поверхности тела;

v) показателя тяжести и площади, пораженной экземой, превышающих или равных 16;

vi) абсолютного количества эозинофилов в крови, превышающего или равного 150 клеткам на мкл, превышающего или равного 200 клеткам на мкл, превышающего или равного 300 клеткам на мкл или превышающего или равного 350 клеткам на мкл;

и vii) по меньшей мере одного состояния до лечения, выбранного из группы, состоящей из: 1) неадекватного ответа в течение шести месяцев или более на лекарство от атопического дерматита для местного применения; 2) плохой переносимости лекарства от атопического дерматита для местного применения; 3) побочного эффекта от приема лекарства от атопического дерматита для местного применения; и 4) неадекватного ответа на нефармакологическое лечение от атопического дерматита; и

б) введения субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей антитело, содержащее тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и фармацевтически эффективный носитель;

таким образом обеспечивая лечение атопического дерматита у субъекта.

138. Способ по 137, в котором фармацевтически эффективный носитель содержит водный жидкий состав при pH от примерно 5,5 до примерно 6,0, содержащий примерно 40 mM гистидина, примерно 180 mM трегалозы, примерно 100 mM аргинина, примерно 8 mM

метионина, примерно 0,02% объемной массы полисорбата 80 и примерно 0,05 мМ ЭДТА.

139. Способ по 138, в котором доза антитела составляет от примерно 2 мг до примерно 600 мг.

140. Способ по 139, в котором фармацевтическую композицию вводят один раз каждые 3 месяца или один раз каждые 6 месяцев.

141. Способ по 140, в котором фармацевтическую композицию вводят подкожно.

142. Способ по 137, 138, 139, 140 или 141, в котором субъект имеет абсолютное количество эозинофилов в крови, выбранное из группы, состоящей из 200 клеток на мкл или более и 350 клеток на мкл или более.

143. Способ уменьшения у субъекта абсолютного количества эозинофилов в крови, включающий этапы:

а) идентификации субъекта, имеющего состояние выбранное из группы, состоящей из астмы, легкой астмы, астмы средней тяжести, тяжелой астмы, легкой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы средней тяжести, тяжелой эозинофильной астмы, неконтролируемой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы, суб-эозинофильной астмы, хронической обструктивной болезни легких, эозинофильного гранулематоза с полиангиитом, гиперэозинофильного синдрома, носовых полипов, буллезного пемфигоида, эозинофильного эзофагита и атопического дерматита; и

б) введения субъекту терапевтически эффективного количества антитела, содержащего переменную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 5, аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 6, и аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 7; и переменную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 8, аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность CDR, показанную в SEQ ID NO: 10;

таким образом уменьшая у субъекта абсолютное количество эозинофилов в крови.

144. Способ по 143, в котором переменная область тяжелой цепи дополнительно содержит аминокислотную последовательность FR4 тяжелой цепи, показанную в SEQ ID NO: 21.

145. Способ по 144, в котором антитело содержит Fc-домен тяжелой цепи, имеющий остаток тирозина в положении 252, остаток треонина в положении 254 и остаток глутаминовой кислоты в положении 256, причем амино-конец Fc-домена тяжелой цепи соединен с карбокси-концом переменной области тяжелой цепи.

146. Способ по 145, в котором антитело содержит последовательность переменной области тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 3; и последовательность переменной области легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 4.

147. Способ по 146, в котором доза антитела составляет от примерно 2 мг до примерно 600 мг.

148. Способ по 147, в котором антитело вводят один раз каждые 3 месяца или один раз каждые 6 месяцев.

149. Способ по 148, в котором антитело вводят подкожно.

150. Способ по 142, 144, 145, 146, 147, 148 или 149, в котором субъект имеет абсолютное количество эозинофилов в крови, выбранное из группы, состоящей из 200 клеток на мкл или более и 350 клеток на мкл или более.

151. Способ по 142, 144, 145, 146, 147, 148 или 149, дополнительно включающий этапы:

a) проведения первого измерения абсолютного количества эозинофилов в крови у субъекта;

b) проведения второго измерения абсолютного количества эозинофилов в крови у субъекта после введения субъекту терапевтически эффективного количества антигенсвязывающего белка; и

c) сравнения первого измерения и второго измерения.

152. Способ по 142, 144, 145, 146, 147, 148 или 149, дополнительно включающий этапы:

a) проведения первого измерения абсолютного количества эозинофилов в крови у субъекта;

b) проведения второго измерения абсолютного количества эозинофилов в крови у субъекта после введения субъекту терапевтически эффективного количества антигенсвязывающего белка; и

c) сравнения первого измерения и второго измерения; причем субъект имеет абсолютное количество эозинофилов в крови, выбранное из группы, состоящей из 200 клеток на мкл или более и 350 клеток на мкл или более.

153. Способ уменьшения у субъекта абсолютного количества эозинофилов в крови, включающий этапы:

a) идентификации субъекта, имеющего состояние выбранное из группы, состоящей из астмы, легкой астмы, астмы средней тяжести, тяжелой астмы, легкой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы средней тяжести, тяжелой эозинофильной астмы, неконтролируемой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы, суб-эозинофильной астмы, хронической обструктивной болезни легких, эозинофильного гранулематоза с полиангиитом, гиперэозинофильного синдрома, носовых полипов, буллезного пемфигоида, эозинофильного эзофагита, атопического дерматита, атопического дерматита средней тяжести и тяжелого атопического дерматита; и

b) введения субъекту терапевтически эффективного количества антитела, содержащего тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1;

таким образом обеспечивая лечение атопического дерматита у субъекта.

154. Способ по 153, в котором доза антитела составляет от примерно 2 мг до

примерно 600 мг.

155. Способ по 154, в котором антитело вводят один раз каждые 3 месяца или один раз каждые 6 месяцев.

156. Способ по 155, в котором антитело вводят подкожно.

157. Способ по 154, 155, 156 или 157, в котором субъект имеет абсолютное количество эозинофилов в крови, выбранное из группы, состоящей из 200 клеток на мкл или более и 350 клеток на мкл или более.

158. Способ по 154, 155, 156 или 157, в котором субъект имеет абсолютное количество эозинофилов в крови, выбранное из группы, состоящей из 200 клеток на мкл или более и 350 клеток на мкл или более.

159. Способ по 154, 155, 156 или 157, дополнительно включающий этапы:

a) проведения первого измерения абсолютного количества эозинофилов в крови у субъекта;

b) проведения второго измерения абсолютного количества эозинофилов в крови у субъекта после введения субъекту терапевтически эффективного количества антигенсвязывающего белка; и

c) сравнения первого измерения и второго измерения.

160. Способ по 154, 155, 156 или 157, дополнительно включающий этапы:

a) проведения первого измерения абсолютного количества эозинофилов в крови у субъекта;

b) проведения второго измерения абсолютного количества эозинофилов в крови у субъекта после введения субъекту терапевтически эффективного количества антигенсвязывающего белка; и

c) сравнения первого измерения и второго измерения; причем субъект имеет абсолютное количество эозинофилов в крови, выбранное из группы, состоящей из 200 клеток на мкл или более и 350 клеток на мкл или более.

161. Способ уменьшения у субъекта абсолютного количества эозинофилов в крови у субъекта, включающий этапы:

a) идентификации субъекта, имеющего состояние выбранное из группы, состоящей из астмы, легкой астмы, астмы средней тяжести, тяжелой астмы, легкой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы средней тяжести, тяжелой эозинофильной астмы, неконтролируемой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы, суб-эозинофильной астмы, хронической обструктивной болезни легких, эозинофильного гранулематоза с полиангиитом, гиперэозинофильного синдрома, носовых полипов, буллезного пемфигоида, эозинофильного эзофагита, атопического дерматита, атопического дерматита средней тяжести и тяжелого атопического дерматита; и

b) введения субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей антитело, содержащее тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и

фармацевтически эффективный носитель;

таким образом уменьшая у субъекта абсолютное количество эозинофилов в крови.

162. Способ по 161, в котором фармацевтически эффективный носитель содержит водный жидкий состав при рН от примерно 5,5 до примерно 6,0, содержащий примерно 40 мМ гистидина, примерно 180 мМ трегалозы, примерно 100 мМ аргинина, примерно 8 мМ метионина, примерно 0,02% объемной массы полисорбата 80 и примерно 0,05 мМ ЭДТА.

163. Способ по 162, в котором доза антитела составляет от примерно 2 мг до примерно 600 мг.

164. Способ по 163, в котором фармацевтическую композицию вводят один раз каждые 3 месяца или один раз каждые 6 месяцев.

165. Способ по 164, в котором фармацевтическую композицию вводят подкожно.

166. Способ по 162, 163, 164, 165 или 166, в котором субъект имеет абсолютное количество эозинофилов в крови, выбранное из группы, состоящей из 200 клеток на мкл или более и 350 клеток на мкл или более.

167. Способ по 162, 163, 164, 165 или 166, дополнительно включающий этапы:

а) проведения первого измерения абсолютного количества эозинофилов в крови у субъекта;

б) проведения второго измерения абсолютного количества эозинофилов в крови у субъекта после введения субъекту терапевтически эффективного количества антигенсвязывающего белка; и

с) сравнения первого измерения и второго измерения.

168. Способ по 162, 163, 164, 165 или 166, дополнительно включающий этапы:

а) проведения первого измерения абсолютного количества эозинофилов в крови у субъекта;

б) проведения второго измерения абсолютного количества эозинофилов в крови у субъекта после введения субъекту терапевтически эффективного количества антигенсвязывающего белка; и

с) сравнения первого измерения и второго измерения; причем субъект имеет абсолютное количество эозинофилов в крови, выбранное из группы, состоящей из 200 клеток на мкл или более и 350 клеток на мкл или более.

169. Композиция по любому из 1–11, 40, 42, 44, 46, 47 или 49–69 для применения при лечении.

170. Композиция по любому из 1–11, 40, 42, 44, 46, 47 или 49–69 для применения при лечении астмы, легкой астмы, астмы средней тяжести, тяжелой астмы, легкой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы средней тяжести, тяжелой эозинофильной астмы, неконтролируемой эозинофильной астмы, эозинофильной астмы, субэозинофильной астмы, хронической обструктивной болезни легких, эозинофильного гранулематоза с полиангиитом, гиперэозинофильного синдрома, носовых полипов, буллезного пемфигоида, эозинофильного эзофагита, атопического дерматита, атопического дерматита средней тяжести и тяжелого атопического дерматита.

## ПРИМЕРЫ

### Пример 1

#### Кинетический анализ 28Y042–7F11–1

Кинетический анализ выполняли для сравнения 28Y042–7F11–1, меполизумаба и GSK3559090A (препарат сравнения на основе молекулы анти-IL–5 mAb IgG1). Результаты суммированы в таблице 16 ниже. Из–за высокого сродства антитела 28Y042–7F11–1, точное определение скорости диссоциации с помощью аппарата Biacore 4000 при 25°C оказалось невозможным; поэтому для вычисления точного сродства связывания 28Y042–7F11–1 с человеческим IL–5 при 25°C использовали анализ KINEXA. Сродство 28Y042–7F11–1 к человеческому IL–5 при 25°C по результатам KINEXA анализа сродства в фазе раствора составляло 10,47 пМ (95% доверительный интервал 0,88 пМ – 31,97 пМ). Это сродство сравнивали со сродством связывания меполизумаба с человеческим IL–5, равным 122,8 пМ (определенным с помощью BIACORE 4000 при 25°C).

Антитело сравнения GSK3559090A анализировали с помощью BIACORE 4000 на связывание с человеческим IL–5 при 25°C, с получением значение сродства связывания ( $K_D$ ) 16,4 пМ. GSK3559090A имеет в 10 раз более высокое значение  $K_D$  для человеческого IL–5, чем меполизумаб, обусловленное главным образом в 20 раз более высокой скоростью ассоциации ( $k_a$ ), наблюдаемой у GSK3559090A по сравнению с меполизумабом.

Сродство к человеческому IL–5 и IL–5 яванского макака у 28Y042–7F11–1 при 37°C определяли с помощью BIACORE T200. Более высокая температура увеличивала скорость диссоциации ( $k_d$ ) 28Y042–7F11–1 настолько, что она находилась на границе диапазона измерения прибора. Сродство 28Y042–7F11–1 к IL–5 человека и яванского макака при 37°C составило 39,13 пМ и 23,93 пМ, соответственно.

Анализ сравнения, выполненный на приборе FORTEBIO OCTET RED384 BLI, показал, что 28Y042–7F11–1 конкурирует с меполизумабом за связывание с человеческим IL–5.

Таблица 16: Краткие сведения по кинетике  $K_D$ . (н.о. – не определено)

Таблица 16.

	Biacore 4000 25°C ( $K_D$ , пМ)	Kinexa 25°C ( $K_D$ , пМ)	Biacore T200 37°C ( $K_D$ , пМ)	Biacore T200 37°C ( $K_D$ , пМ)
	человеческий IL–5	человеческий IL–5	человеческий IL–5	IL–5 яванского макака
Меполизумаб	122,8	н.о.	н.о.	н.о.
28Y042–7F11–1	н.о.	10,5	39,1	23,9
GSK3559090A	16,4	н.о.	н.о.	н.о.

#### Связывание с человеческими Fc–рецепторами

28Y042–7F11–1 имеет приблизительно 13 раз более высокое сродство к человеческому FcRn при pH 6,0 по сравнению с меполизумабом (157 нМ и 2082 нМ,

соответственно), а также связывается с низким сродством при pH 7,4; сродство составляет 16 мкМ при pH 7. Значения  $K_D$ , определенные с помощью BIACORE T200 при 37°C, приведены в таблице 17. Таблица 17: Сравнение сродства связывания 28Y042–7F11–1 и меполизумаба с человеческим FcRn при pH 6,0 и pH 7,4.

Таблица 17.

	Сродство (нМ)	
	pH 6,0	pH 7,4
меполизумаб	2082	не определено
28Y042–7F11–1	157	16160

Анализ связывания 28Y042–7F11–1 с человеческими Fc–рецепторами гамма (FcγR) с помощью системы PROTEON XPR36 продемонстрировал сопоставимость с контрольным антителом, содержащим YTE. Сродство связывания этих YTE–содержащих mAb с FcγR была приблизительно в 1,5 раза ниже, чем у контрольного человеческого IgG1 дикого типа. По отношению к компоненту комплемента C1q сродство 28Y042–7F11–1 также было более низкое, чем у человеческий IgG1 дикого типа (750 нМ и 465 нМ, соответственно).

В отдельном эксперименте 28Y042–7F11–1 продемонстрировал примерно 3–кратное увеличение сродства к неонатальному человеческому рецептору при pH 6,0 по сравнению с человеческим контрольным IgG1 дикого типа (130 нМ и 359 нМ, соответственно), а также низкое сродство связывания с FcRn при pH 7,4 (2650 нМ), тогда как у контрольного антитела дикого типа при таком pH связывание отсутствовало (таблица 18). Эти результаты сопоставимы с результатами контрольного YTE, использованного в эксперименте. В таблице 18 представлены результаты связывания 28Y042–7F11–1 с рекомбинантным человеческим неонатальным рецептором (FcRn), полученные с помощью устройства PROTEON. Контрольный изотип дикого типа и контрольный Fc–дезактивированный изотип происходят от нефункционального (в отношении связывания CDR) антитела, изначально полученного против фактора свертывания крови IX(F9). Контрольный изотип с дезактивированным Fc содержит две точечные мутации в Fc–области (L235 и G237, обе мутированные в аланин), которые снижают взаимодействие с Fc–рецепторами гамма.

Таблица 18.

Антитела	$K_D$ (нМ)	
	человеческий FcRn, pH 6,0	человеческий FcRn, pH 7,4
28Y042–7F11–1	130,0	2650,0
GSK2800528	94,3	1190,0
контрольный изотип IgG1 дикого типа	359,0	NB

контрольный изотип IgG <sub>1</sub> с дезактивированным Fc	314,0	NB
---	-------	----

#### Функциональный тест на культуре клеток TF-1

Оценивали способность 28Y042-7F11-1 ингибировать дозозависимым образом пролиферацию клеток TF-1, опосредованную человеческим IL-5. Клетки TF-1 представляют собой эритролейкемическую клеточную линию, которая была получена для пролиферации в ответ на стимуляцию IL-5 человека и яванского макака.

Анализ эффекта 28Y042-7F11-1 в исследовании пролиферации клеток TF-1 показал, что это антитело является мощным ингибитором IL-5-опосредованной пролиферации клеток TF-1. 28Y042-7F11-1 и меполизумаб оба вызывали дозозависимое ингибирование пролиферации клеток TF-1, индуцированной человеческим IL-5, при тестировании в диапазоне концентраций от 1 нМ до 0,042 пМ (IC<sub>50</sub> 4 пМ и 105 пМ, соответственно, фиг.1). Это свидетельствует о примерно 30-кратном улучшении эффективности 28Y042-7F11-1 по сравнению с меполизумабом, согласно результатам клеточного анализа.

28Y042-7F11-1 и меполизумаб, оба вызывали дозозависимое ингибирование пролиферации клеток TF-1, индуцированной человеческим IL-5, при тестировании в диапазоне концентраций от 1 нМ до 0,042 пМ (IC<sub>50</sub> 0,004 нМ и 0,105 нМ, соответственно).

Дальнейший анализ 28Y042-7F11-1 проводили после того, как подвергли молекулу термическому стрессу путем инкубации в течение 1 недели при 40°C в ацетатном или фосфатном буфере. В этих условиях значение IC<sub>50</sub> для 28Y042-7F11-1 в анализе клеток TF-1 находилось в диапазоне от 4 пМ до 5 пМ, демонстрируя значения, аналогичные полученные для 28Y042-7F11-1 в «нестрессовых» контрольных условиях.

#### Анализ изменения формы эозинофилов и связывания с эндогенным IL-5

Оценивали способность 28Y042-7F11-1 ингибировать IL-5-опосредованное изменение формы эозинофилов в цельной крови человека. Как меполизумаб, так и 28Y042-7F11-1 (10 мкг/мл) продемонстрировали ингибирование изменения формы эозинофилов, опосредованное рекомбинантным IL-5 (10 нг/мл), в то время как контрольные антитела, пасколизумаб и анти-RSV (с дезактивированным Fc), не смогли предотвратить изменение формы эозинофилов, опосредованное IL-5 (фиг. 2).

Способность 28Y042-7F11-1 и меполизумаба (оба в концентрации 1 мкг/мл) связывать нативный IL-5 из супернатанта CD3/CD28-стимулированных мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC) оценивали методом ELISA. 28Y042-7F11-1 и меполизумаб связывали нативный IL-5, тогда как контрольное антитело пасколизумаб связывания не показало. Хотя анализ продемонстрировал связывание с нативным IL-5, он не был дополнительно оптимизирован для определения точных значений EC<sub>50</sub> (фиг. 3).

#### In vitro стабильность 28Y042-7F11-1 в сыворотке человека и яванского макака по данным иммуноанализа

Способность 28Y042-7F11-1 связывать рекомбинантный IL-5 оценивали после инкубации при 37°C в течение 6 недель в объединенной контрольной сыворотке человека



		мл)	мл)	мл)				Кг)	Кг)
<b>28Y042–7F11–1 (0,05 мг/кг) IV</b>	301	493	542	1,30	0,25	598	672	0,092 3	80,1
	302	394	467	1,20	3,00	501	447	0,107	74,8
	351	427	556	1,23	0,25	649	484	0,089 9	81,1
	352	515	573	1,41	0,25	614	630	0,087 3	75,1
	<i>среднее</i>	<b>257</b>	<b>534</b>	<b>1,29</b>	<b>0,25*</b>	<b>590</b>	<b>558</b>	<b>0,094 2</b>	<b>77,8</b>
<b>28Y042–7F11–1 (1 мг/кг) IV</b>	401	9930	9950	24,1	0,25	543	735	0,100	75,1
	402	9400	9430	22,6	0,25	616	748	0,106	81,3
	451	9840	9870	23	0,25	558	745	0,101	77,0
	452	9020	9070	24	0,25	603	749	0,110	85,3
	<i>среднее</i>	<b>9550</b>	<b>9580</b>	<b>23,4</b>	<b>0,25</b>	<b>580</b>	<b>744</b>	<b>0,105</b>	<b>79,7</b>
<b>Меполизу маб (1 мг/кг) IV</b>	201	5140	5190	27,7	0,25	304	374	0,193	76,0
	202	5790	5850	28,9	0,25	307	400	0,171	71,9
	251	5060	5160	30,4	0,25	242	302	0,194	63,8
	252	5390	5540	28,8	0,25	253	308	0,181	62,2
	<i>среднее</i>	<b>5350</b>	<b>5430</b>	<b>29,0</b>	<b>0,25</b>	<b>276</b>	<b>346</b>	<b>0,185</b>	<b>68,5</b>

28Y042–7F11–1–опосредованное подавление эозинофилов

Снижение количества эозинофилов использовали в качестве биомаркера для 28Y042–7F11–1–опосредованной нейтрализации активности IL–5. 28Y042–7F11–1 демонстрирует *in vivo* увеличенную продолжительность подавления эозинофилов по сравнению с меполизумабом у яванского макака (фиг. 5). При дозе 28Y042–7F11–1, составляющей 1/20 дозы меполизумаба, оно демонстрирует эквивалентное или слегка улучшенное подавление эозинофилов, что свидетельствует о том, что 28Y042–7F11–1 по меньшей мере в 20 раз более активен *in vivo* по сравнению с меполизумабом. В течение 24 недель количество эозинофилов в крови до введения дозы составляло  $\leq 50\%$  от значения до введения 28Y042–7F11–1 в дозе 1 мг/кг по сравнению с 4–7 неделями для меполизумаба той же дозы. Показатели эозинофилов в крови начали восстанавливаться примерно на 7 неделе для 28Y042–7F11–1 и на 4 неделе для меполизумаба. Эти данные свидетельствуют о том, что 3–месячное дозирование для человека является достижимым и что также возможно дозирование раз в шесть месяцев.

Уровни бщего IL–5 в сыворотке

Согласно наблюдениям, уровень общего IL–5 (IL–5, находящейся практически исключительно в комплексе с 28Y042–7F11–1 или меполизумабом) увеличивался после

введения дозы и оставался более стабильным в двух группах, получавших 28Y042–7F11–1, по сравнению с группой меполизумаба, в которой уровень комплекса IL–5 начал снижаться гораздо раньше (фиг. 6). Снижение наблюдали через 29 дней исследования (672 часа) в группе, получавшей 1 мг/кг меполизумаба, через 85 дней исследования (2016 часа) в группе, получавшей 0,05 мг/кг 28Y042–7F11–1, и через 113 дней исследования (2688 часов) в группе, получавшей 1 мг/кг 28Y042–7F11–1. Это говорит о том, что меполизумаб имеет более низкое сродство к IL–5 и более короткий период полувыведения по сравнению с 28Y042–7F11–1, который находится в комплексе с IL–5 в течение более продолжительного периода времени.

28Y042–7F11–1 также изучали в некомпартментном фармакокинетическом анализе, в котором 28Y042–7F11–1 выполняли однократное внутривенное и подкожное введение. При внутривенном введении GSK3511294 продемонстрировал увеличенный период полувыведения из сыворотки по сравнению с меполизумабом (24 дня по сравнению с 11,5 днями), а также уменьшение сывороточного клиренса в 1,8 раз (фиг. 4).

#### Способы: функциональный тест на культуре клеток TF–1

Образцы антител и контроли готовили в 96–луночных полипропиленовых планшетах для первоначального скрининга. Антитела разводили в среде для культивирования клеток до конечной концентрации для анализа 200 нМ, затем стерильно фильтровали с помощью фильтровального планшета (многолуночные планшеты Pall Corporation, фильтровальный планшет ACRO PREP 96, 3,0 мкм стекловолоконистая среда/0,2 мкм мембрана BIO–INERT, № 5053). Образцы серийно разводили 1 к 4 во всем планшете с получением 10–точечного ряда в диапазоне концентраций (200 нМ–7,63 пМ). Цель состояла в получении кривой доза–ответ для единичной дозы для первичной оценки значений IC<sub>50</sub> для вариантов. Человеческий цитокин IL–5 (молекулярная масса гомодимера, 28,5 кДа) для стимуляции клеток разводили в среде для культивирования клеток и готовили с конечной концентрацией для анализа 17,5 пМ (0,5 нг/мл), EC<sub>80</sub> для стимуляции человеческого IL–5 в анализе. Человеческий IL–5 добавляли в планшет, содержащий серию разведений антител, и инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре. Клетки TF1 промывали 3 раза PBS для успешного удаления фактора роста, GMCSF (гранулоцитарного макрофагального колониестимулирующего фактора), используемого для размножения клеток. Клетки высевали в 96–луночные планшеты белого цвета с плоским дном для культуры ткани с плотностью  $0,2 \times 10^6$  клеток/лунку. Затем предварительно инкубированные антитело и цитокин добавляли к клеткам и дополнительно инкубировали в течение 3 дней при 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. Планшеты извлекали из инкубатора, и в лунки планшетов добавляли 100 мкл люминесцентного реагента CELLTITER–GLO (Promega, G7571) и инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре на шейкере для планшетов. Затем планшеты считывали на устройстве считывания люминесцентных планшетов ENVISION (Biomax 501510).

В качестве альтернативы, для более детальной оценки значений IC<sub>50</sub> вносили следующие изменения по сравнению с описанным выше методом. Серийные разведения

антител и контролей готовили в 96-луночных полипропиленовых планшетах. Антитела разбавляли до конечной концентрации анализа 1 нМ в среде для культивирования клеток и серийно разводили 1 к 1,7 по всему планшету с получением диапазона концентраций (1 нМ – 0,000418 пМ). Человеческий цитокин IL-5 для стимуляции клеток разводили в среде для культивирования клеток и готовили с конечной концентрацией для анализа 3 пМ.

#### Способы: BIACORE

Связывание с человеческим IL-5 измеряли с помощью BIACORE 4000 (GE Healthcare). Скорость потока пробы в ходе исследования составляла 10 мкл/мин для связывания и регенерации, а 30 мкл/мин использовали для определения кинетики. Белок А иммобилизовали на чипе серии S CM5 (GE Healthcare, BR-1005-30) через связывание первичного амина (GE Healthcare, BR-1000-50). Затем эту поверхность использовали для захвата анти-IL-5-антител в спотах 1 и 5, тогда как споты 2 и 4 использовали в качестве сравнения. Затем поток рекомбинантного человеческого IL-5 пропускали над захваченным антителом при 100 нМ. Использовали 30-минутное время диссоциации, поскольку в предыдущих экспериментах было установлено, что это время необходимо для точного определения скорости диссоциации меполизумаба. Получали две референсные кривые для буфера (т.е. 0 нМ), и для оценки выполняли фитирование данных с помощью программного обеспечения BIACORE 4000, используя модель 1:1. Эксперимент проводили при 25°C, используя HBS-EP (Teknova, H8022) в качестве рабочего буфера и 50 mM NaOH в качестве раствора для регенерации.

Анализ данных показал, что скорости диссоциации антител находились в пределах чувствительности прибора BIACORE 4000, и поэтому вычисление точных скоростей диссоциации при 25°C оказалось невозможным. По этой причине цикл повторяли при 37°C для увеличения скорости диссоциации, что позволило определить точные скорости диссоциации для антител.

#### Способы: Анализ MSD-SET

Анализ MSD-SET (равновесное титрование в растворе MSD) использовали для определения сродства этих антител к человеческому IL-5 при 25°C, поскольку скорости диссоциации оказались слишком медленными для возможности их измерения с помощью BIACORE при этой температуре. MSD-SET определяет фазу раствора, равновесное сродство антител. Метод основан на детектировании свободного антигена в равновесном состоянии в титруемой серии концентраций антител.

Биотинилированный человеческий IL-5 использовали при постоянной концентрации 30 пМ, в то время как образцы антител титровали 1 к 3 от 2,5 нМ до 0,5 пМ с конечным разведением 1:10 при 0,05 пМ в 96-луночном полипропиленовом планшете. Титрованное антитело и IL-5 инкубировали в течение 24 ч при комнатной температуре. Через 24 часа антитела (20 нМ в PBS) наносили на стандартные планшеты для связывания MSD (Meso Scale Discovery, L15XA) в течение 30 минут при комнатной температуре. Затем планшеты блокировали с помощью блокирующего буфера STARTING BLOCK (Thermo Scientific, # 37542) в течение 30 минут при встряхивании со скоростью 700

об/мин, после чего три раза промывали буфером для промывки. Инкубированные растворы добавляли в планшеты MSD в течение 150 секунд при встряхивании со скоростью 700 об/мин с последующей промывкой. Антиген, иммобилизованный на планшете, детектировали стрептавидином, меченным SULFOTAG (Meso Scale Discovery, R32AD-1), путем инкубации на планшете в течение 3 минут. Планшеты трижды промывали промывочным буфером и затем считывали на приборе MSD SECTOR IMAGER с использованием 1х считывающего буфера T с поверхностно-активным веществом (Meso Scale Discovery, R92TC-1). Процент свободного антигена наносили на график в виде функции титрованного антитела с помощью программного обеспечения GRAPHPAD PRISM и приводили к квадратному уравнению.

Сродство с IL-5 яванского макака при 25°C также определяли с помощью анализа MSD-SET. Используемый метод был таким же, как описано выше, но с использованием IL-5 яванского макака с концентрацией 62,5 пМ.

#### Способы: KINEXA анализ 28Y042-7F11-1

Для точного определения сродства связывания 28Y042-7F11-1 с человеческим IL-5 при 25°C, KINEXA (анализ кинетического исключения) использовали в качестве альтернативы анализу MSD-SET, поскольку 95% доверительные интервалы, полученные для 28Y042-7F11-1, показали плохое соответствие данных модели.

Измерение сродства фазы раствора выполняли с помощью прибора Sapidyne KINEXA 3200. Метод был основан на обнаружении свободного антитела в равновесном состоянии в титрованной серии концентраций антигена. Для обнаружения создавали матрицу частиц с использованием NHS-активированных частиц SEPHEROSE (GE Healthcare, 17-0906-01), покрытых человеческим IL-5. Для определения сродства фиксированную концентрацию антитела инкубировали с серией разведений концентраций человеческого IL-5, и оставляли для достижения равновесного состояния связывания перед измерением образцов на приборе KINEXA 3200. Каждый раствор пропускали через aliquоту антигенных частиц, при этом свободное антитело связывалось с частицами, покрытыми антигеном, и затем с помощью античеловеческого антитела IgG (DYLIGHT 649-AFFINIPURE F(ab')<sub>2</sub> фрагмент козьиного античеловеческого IgG; Jackoson Immunoresearch, 109-496-170) выполняли детектирование только что полученных частиц с антигенами, использованными для измерения каждого образца. Данные анализировали с помощью программного обеспечения, встроенного в аппарат KINEXA, в нескольких прогонах, выполненных с различными начальными концентрациями антител, которые были выше и ниже ожидаемого сродства взаимодействия, т.е. 300 пМ и 50 пМ (взаимодействия, обусловленные концентрацией и сродством, соответственно) и с диапазоном концентраций антигена в пределах одного анализа, обеспечивающим насыщение всех имеющихся антител, оставляя почти 100% несвязанными (от 10 нМ до 4,88 пМ для кривой концентрации, от 1 нМ до 0,49 пМ для кривой сродства). Данные из нескольких прогонов объединяли и анализировали с помощью программного обеспечения для проведения анализа «n-plot», встроенного в прибор KINEXA, для определения K<sub>D</sub> и

95% доверительного интервала.

Способы: Конкурентное с меполизумабом связывание 28Y042–7F11–1 с IL–5

Для определения, связывается ли 28Y042–7F11–1 с тем же эпитопом на человеческом IL–5, что и меполизумаб, выполняли конкурентный анализ с помощью биослойного интерферометрического прибора (BLI) FORTEBIO OCTET RED384. Поскольку человеческий IL–5 является димером, использовали формат тандемного анализа, в котором биотинилированный человеческий IL–5 в концентрации 5 мкг/мл в буфере PBSF иммобилизовали на стрептавидиновой поверхности (FORTEBIO, 18–5019). Эту поверхность насыщали меполизумабом при 100 нМ в PBSF, а затем 28Y042–7F11–1 при 100 нМ. Процесс повторяли с насыщением IL–5–поверхности 28Y042–7F11–1 с последующим введением меполизумаба и самосвязывающихся контролей. Анализ проводили при 25°C со скоростью встряхивания на шейкере 1000 об/мин. Данные анализировали с помощью анализа данных на приборе FORTEBIO.

Способы: Анализ SEC

Аналитическую эксклюзионную хроматографию (SEC) выполняли для оценки чистоты (% мономера) и времени удерживания молекулы. Позднее время удерживания может указывать на потенциальные проблемы, связанные с окраской молекул. SEC выполняли на колонке TSK G3000SWXL, 250A, 5 мкм, 30 см x 7,8 мм в системе ВЭЖХ AGILENT 1100. Рабочие условия были следующими: 200 мМ NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 250 мМ NaCl, pH 6,0 при скорости потока 0,5 мл/мин. Нагрузка составляла 20 мкг на образец при времени записи 30 минут. Результаты анализировали с помощью программного обеспечения CHEMSTATION для интеграции пиков.

Способы: Связывание 28Y042–7F11–1 с человеческими Fc–рецепторами, оцененное с помощью PROTEON

Связывание 28Y042–7F11–1 с рекомбинантными растворимыми Fc–рецепторами гамма человека (FcγR) оценивали с помощью биосенсора PROTEON XPR36 (BIORAD). Антитела анализировали против антитела–положительного контроля, содержащего Fc–область человеческого IgG1 дикого типа, и антитела–отрицательного контроля, содержащего две точечные мутации в Fc–области, которые уменьшают взаимодействие с Fc–рецепторами гамма (L235A/G237A). Также было включено дополнительное контрольное антитело, содержащее мутацию YTE в Fc–области (28Y042–7F11–1 также содержит мутацию YTE).

Мышиный антиполигистидиновый IgG (ANTI–TETRA–HIS; Qiagen, 34670) иммобилизовали на биосенсорной микросхеме GLM (Bio–Rad, 176–5012) путем связывания с первичным амином (GE Healthcare, BR–1000–50). Эту поверхность использовали в качестве поверхности захвата меченых полигистидином человеческих Fc–рецепторов гамма (все реактивы, произведенные собственными силами [за исключением CD64–Fc; R&D Systems, 1257–FC]). Тестируемые антитела использовали в качестве аналита и пропускали при концентрации 1024 нМ, 256 нМ, 64 нМ, 16 нМ и 4 нМ, а также 0 нМ (т.е., один буфер), используемой для получения двух опорных кривых связывания.

Между взаимодействиями поверхность мышинных анти-полигистидиновых IgG регенерировали с помощью 100 мМ фосфорной кислоты. Эксперимент проводили при 25°C, используя HBS-EP (Teknova, H8022) в качестве рабочего буфера. Данные анализировали для каждого рецептора отдельно, устанавливая глобальный R-max и используя модель равновесия, присущую программному обеспечению для анализа PROTEON.

Способы: Связывание 28Y042-7F11-1 с человеческим компонентом C1q, оцененное с помощью PROTEON

Связывание 28Y042-7F11-1 с человеческим рекомбинантным растворимым компонентом C1q оценивали с помощью биосенсора PROTEOn XPR36 (BioRad™). Контрольное антитело, содержащее замену YTE в Fc-области, включали в качестве контроля.

Тестируемые антитела иммобилизовали на чипе GLC (Bio-Rad, 176-5011) путем связывания с первичным амином (GE Healthcare, BR-1000-50). Рекомбинантный C1q (Sigma, C1740) пропускали над иммобилизованным антителом при 512 нМ, 128 нМ, 32 нМ, 8 нМ, 2 нМ и 0 нМ (т.е. только в одном буфере), и пустую активированную и дезактивированную проточную кювету использовали в качестве двух опорных кривых связывания. Рабочий буфер для анализа связывания представлял собой HBS-EP (pH 7,4, Teknova, H8022) с 10 мМ CaCl<sub>2</sub>. Данные подгоняли к равновесной модели, присущей программному обеспечению PROTEON XPR36 (BioRad™), с использованием глобального значения R-max.

Способы: FcRn связывание

Сродство связывания 28Y042-7F11-1 и меполизумаба с человеческим FcRn при pH 6,0 и pH 7,4 оценивали с помощью прибора BIACORE T200 при 37°C. Человеческий рекомбинантный IL-5 разбавляли в ацетатном буфере с pH 5,0 и иммобилизовали до уровня 535 RU путем связывания амина на чипе CM5 (GE, BR100530). 28Y042-7F11-1 или меполизумаб иммобилизовали путем пропускания потока (5 мкл/мин) над поверхностью чипа раствора 100 нМ любого из mAb в буфере HBS-EP (Teknova, H8022) в течение 24 секунд. После захвата антитела с помощью иммобилизованного IL-5 выполняли циклы с различными концентрациями (от 0,5 мкМ до 32 мкМ) человеческого FcRn, который пропускали над поверхностью чипа со скоростью 5 мкл/мин в течение времени для контакта 120 секунд с последующей диссоциацией в течение 80 секунд для каждого цикла. По завершении каждого цикла поверхность чипа регенерировали с использованием 10 мМ глицина, pH 1,5, в течение 5 секунд при 50 мкл/мин, а затем 10 мМ NaOH в течение 5 секунд при 50 мкл/мин. Циклы FcRn выполняли для каждой концентрации при pH 6,0 (HBS-EP+, Teknova, Cat:H8022, pH 6,0) и pH 7,4 (HBS-EP). Для человеческого FcRn в расчетах использовали молекулярную массу 42929 Да.

Способы: Связывание с нативным IL-5

Определяли способность 28Y042-7F11-1, меполизумаба и антител отрицательного контроля (пасколизумаб & анти-RSV) связываться с нативным IL-5. 28Y042-7F11-1,

меполизумаб или контрольные антитела, разбавляли до концентрации 1 мкг/мл/200 мкл/лунку в PBS и инкубировали на планшете для ELISA MAXISORP (Nunc, 10394751) в течение ночи при 4°C, затем промывали (во всех этапах промывки использовали 200 мкл/лунку PBS с добавлением 0,05% твина 20). Планшет блокировали 300 мкл/лунку PBS дополненным 1% BSA (Sigma, A9576) в течение 2 часов, перед 1:2 титрованием культуры добавляли супернатант, содержащий 4 нг/мл нативного IL-5. Супернатант инкубировали с антителами в течение 1 часа при комнатной температуре, промывали, затем к смеси в планшете добавляли 100 мкл/лунку биотинилированного анти-IL-5 антитела (Fisher, MM550CB) в концентрации 1 мкг/мл, разведенного в PBS, дополненном 0,5% BSA, в течение 1 ч при комнатной температуре. Стрептавидин-HRP (GE Healthcare, RPN4401V) использовали для обнаружения, разбавляли 1:5500 в PBS, дополненном 0,5% BSA (100 мкл/лунку), и инкубировали в течение 20 минут при комнатной температуре с последующим добавлением 100 мкл/лунку субстрата ТМВ в течение 5 мин, после чего реакцию останавливали, используя 100 мкл/лунку 1М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Величину поглощения измеряли при 450 нм с помощью планшетного ридера SPECTRAMAX (Biomax, 088261; все измерения выполняли в двух экземплярах). Также оценивали контрольные условия с использованием культурального супернатанта, в котором отсутствовал IL-5 или отсутствовало иммобилизованное антитело (28Y042-7F11-1, меполизумаб и антитела отрицательного контроля).

Нативный IL-5 получали путем стимуляции изолированных PBMC человеческими анти-CD3 и анти-CD28 антителами. Кровь (100 мл) от здорового добровольца-донора (человека) получали в гепарине натрия (1000 ME/100 мл). Кровь разбавляли 1:1 с помощью RPMI (Gibco, 31870074), а затем разделяли центрифугированием в градиенте плотности для выделения PBMC с использованием пробирок HISTOPAQUE FICOLL и LEUCOSEP (Greiner, 227290) в соответствии с рекомендациями производителя. После выделения PBMC дважды промывали RPMI (центрифугирование 2×5 мин при 1200 об/мин). После второй промывки клетки ресуспендировали в 50 мл RPMI (с добавлением 10% эмбриональной бычьей сыворотки, пенициллина/стрептомицина и L-глутамина), из образца отбирали 500 мкл и смешивали в соотношении 1:1 с TRYPLE EXPRESS (Gibco, 12604-021) и анализировали на VICELL для подсчета количества клеток. Планшеты предварительно покрывали 1 мкг/мл анти-CD3 (собственного изготовления ОКТ3) и 3 мкг/мл анти-CD28 (собственного изготовления) при 37°C в течение 60 минут с последующей однократной промывкой лунок PBS. Клетки разбавляли до 1×10<sup>6</sup>/мл, и 200 мкл/лунку (2×10<sup>5</sup> клеток) добавляли в лунки, предварительно покрытые анти-CD3/CD28, и инкубировали при 37°C при 5% CO<sub>2</sub> в течение 4 дней. После стимуляции клеточные супернатанты объединяли в 50-мл пробирке Falcon и центрифугировали (5 минут, 1200 об/мин). Супернатант (45 мл) собирали в свежую пробирку Falcon, и сгусток клеток отбрасывали. BSA (667 мкл от Sigma, A9576) добавляли к 40 мл супернатанта (с 0,5% конечной концентрацией) и распределяли поровну между 2 колонками VIVASPIN 20 (Sartorius, VS0112), и центрифугировали при 3600 г (4500 об/мин) в течение 2×10 мин для

получения концентрированного супернатанта. Обогащенные фракции супернатанта объединяли и хранили при 4°C. В качестве контроля в анализе 5 мл исходного супернатанта, который не центрифугировали или куда не добавляли BSA, также хранили при 4°C. Нестимулированные образцы супернатанта центрифугировали аналогично тому, как описано выше, и хранили при 4°C для получения контрольного супернатанта, в котором отсутствовал IL-5. Выполняли количественное определение концентрации IL-5 с помощью набора для анализа ELISA QUANTIKINE (R&D Systems, D5000B).

Способы: Ингибирование IL-5-опосредованного изменения формы эозинофилов с помощью проточной цитометрии

Этот анализ использовали для измерения ингибирования 28Y042-7F11-1 или меполизумабом изменения формы эозинофилов, опосредованного рекомбинантным IL-5, в цельной крови человека с помощью (все точки выполняли в двух экземплярах). Кровь от здоровых добровольцев-доноров (человек; с соответствующим согласием) получали в гепарине натрия (1000 ME/100 мл) из отделения донорства крови GlaxoSmithKline Stevenage. 28Y042-7F11-1, меполизумаб и контрольные антитела (пасколизумаб и анти-RSV) разбавляли до получения конечной используемой в анализе концентрации 10 мкг/мл. Антитела инкубировали с равным объемом рекомбинантного IL-5 (R&D Systems, Lot # 091231202) при конечной концентрации 10 нг/мл при 37°C в течение 1 часа. После инкубации каждый 20 мкл образец комплекса антитело/IL-5 добавляли к 80 мкл цельной крови, полученной от одного из шести доноров, в 96-луночном полипропиленовом планшете с глубокими лунками (Fisher Scientific, 10007621). Планшет инкубировали при 37°C в течение 30 минут, после чего его помещали на лед и фиксировали в течение 2 минут путем добавления 250 мкл/лунку CELL FIX (BD, 340181), разведенного 1:9:30 CELL FIX:вода:PBS (это соотношение дает в 4 раза более слабую концентрацию, чем в рекомендациях производителя, что позволило обеспечить условия, не наносящие ущерба целостности эозинофилов). Затем клетки лизировали ледяным PHARM LYSE (BioLegend, лизисный буфер RBC, 420301) в количестве, соответствующем протоколу производителя. Образцы центрифугировали, и супернатант удаляли перед повторным суспендированием в буфере FACS, и получали данные путем стробирования эозинофилов с помощью CANTO II по их автофлуоресценции в канале PE. Эффект 28Y042-7F11-1, меполизумаба, пасколизумаба и анти-RSV в отсутствие IL-5 также тестировали, используя только PBS. Также тестировали влияние IL-5 на изменение формы эозинофилов в отсутствие любого из антител, используя только PBS.

Способы: Исследование стабильности сыворотки

28Y042-7F11-1 разводили либо в чистой объединенной стерильной человеческой сыворотке (отделение донорства крови GSK Stevenage), либо в чистой объединенной стерильной сыворотке яванского макака (от SeraLabs) с получением 4 мл каждого образца, содержащего 28Y042-7F11-1 с целевой концентрацией 120 мкг/мл. Каждый образец сыворотки (человека или яванского макака) затем разделяли на аликвоты по 5×750 мкл в стерильные 2 мл микроцентрифужные пробирки, и крышки плотно закрывали. Затем одну

аликвоту каждого вида сыворотки сразу помещали на сухой лед и оставляли для заморозки, получая образцы  $T_0$ , а затем переносили в  $-80^{\circ}\text{C}$  условия для хранения. Оставшиеся аликвоты помещали в увлажненный инкубатор для тканевых культур, установленный на  $37^{\circ}\text{C}$  с  $5\% \text{CO}_2$ . Через 1, 2, 4 и 6 недель по 1 аликвоте для каждого вида сыворотки удаляли, замораживали на сухом льду, как указано выше, затем переносили в  $-80^{\circ}\text{C}$  условия для хранения. Анализ стабильности *in vitro* завершали при удалении на хранение 6-недельных образцов.

Образцы, полученные для анализа стабильности сыворотки *in vitro*, тестировали с помощью иммуноанализа путем захвата  $\text{IL-5}$  в MSD (Meso Scale Discovery) для количественного определения 28Y042-7F11-1 в зависимости от времени инкубации сыворотки. Благодаря использованию биотинилированного  $\text{IL-5}$  в качестве реагента захвата происходил захват только молекул с активностью к  $\text{IL-5}$ , который затем детектировали, поэтому любое изменение при восстановлении, обнаруженное с течением времени, представляло собой потерю активности 28Y042-7F11-1. Все образцы тестировали вместе в одном анализе после завершения 6-недельной инкубации.

Иммуноанализ захвата  $\text{IL-5}$  выполняли в 96-луночных стандартных планшетах для связывания MSD (MSD, # L15XA-6), которые покрывали 50 мкл NEUTRAVIDIN (Thermo-Fisher Scientific, # 31000) в концентрации 2 мкг/мл, разведенном в PBS для культуры ткани (Sigma-Aldrich, № D8537). Планшеты оставляли на ночь при  $+4^{\circ}\text{C}$ . Покрытые планшеты промывали с помощью автоматической мойки планшетов (Biotek ELx405), при этом каждую лунку промывали 3 раза по 300 мкл PBS+0,1% Твин-20. После промывки планшеты простукивали над бумажным полотенцем для удаления остатков жидкости. Затем все планшеты блокировали 150 мкл буфера для анализа (PBS+5% BSA (Sigma-Aldrich, # A7030) + 1% Твин-20 (Fisher Scientific, # BP337)). Планшеты инкубировали при комнатной температуре в течение 1 часа на качалке для планшетов (Heidolph TITRAMAX 1000) со скоростью встряхивания примерно 750 об/мин (обычно используемая скорость), и затем промывали, как раньше. Биотинилированный человеческий  $\text{IL-5}$  (реагент GSK) разбавляли до 100 нг/мл в буфере для анализа, и 25 мкл этого раствора добавляли во все лунки заблокированных и промытых планшетов. Затем планшеты инкубировали при комнатной температуре в течение по меньшей мере 1 часа на качалке и затем промывали, как описано ранее. Во время инкубации с биотинилированным  $\text{IL-5}$  получали стандартную кривую для 28Y042-7F11-1 и тестируемых образцов. Стандартную кривую для 28Y042-7F11-1 получали разбавлением до максимальной концентрации 250 нг/мл в буфере для анализа. Затем выполняли серийное разведение с коэффициентом разведения 2,5 в общей сложности для 11 точек разведения, причем 12-й точкой был только буфер для анализа в качестве пустого контроля. Все образцы сыворотки, тестируемые на стабильность, разбавляли буфером для анализа с коэффициентами разведения 2000, 20000 и 200000. Каждый чистый образец разводили, используя минимум 20 мкл между разведениями и используя серийные разведения, не превышающие коэффициент разведения 10 (т.е. коэффициент разведения

2000 получали в результате 3 последовательных 10–кратных разведений с последующим 2–кратным разведением). После завершения инкубации с биотинилированным П–5 и промывки планшетов добавляли 25 мкл 28Y042–7F11–1 в трех экземплярах, а затем 25 мкл каждого тестируемого образца с каждым разведением в двух экземплярах. Затем планшеты инкубировали при комнатной температуре в течение по меньшей мере 1 часа на качалке для планшетов и промывали, как ранее. Для обнаружения связанного 28Y042–7F11–1 мышиный моноклональный античеловеческий Fc SULFOTAG (меченный с помощью немеченого антитела от Southern Biotech, # 9040–01) разбавляли до 500 нг/мл в буфере для анализа и добавляли по 25 мкл во все лунки. Затем планшеты инкубировали при комнатной температуре в течение по меньшей мере 1 часа на качалке для планшетов и промывали, как ранее. Буфер Т для считывания MSD с поверхностно–активным веществом разбавляли дистиллированной водой с получением 1х рабочего раствора, по 150 мкл которого затем добавляли во все лунки. Затем планшеты считывали с помощью MSD–сканера SECTOR 6000. Полученные средние концентрации 28Y042–7F11–1, измеренные в сыворотке человека или яванского макака, нормализовали относительно % концентрации, определенной в образцах T<sub>0</sub>, по формуле:

$$\%T_0 = [\text{концентрация в тестируемом образце}/\text{концентрация в образце } T_0] * 100.$$

Для сравнения данных по стабильности сыворотки, полученных для 28Y042–7F11–1, их наносили на график вместе с данными, полученными ранее для меполизумаба и для контрольного антитела, специфического к П–13. Установленная стабильность сыворотки, используемая для этих молекул, была идентична описанной выше, за исключением того, что использовались временные точки 0, 2, 4 и 6 недель, и партия использованной сыворотки человека и яванского макака отличалась. Образцы меполизумаба анализировали аналогично тому, как описано выше, за исключением того, что использовалась стандартная кривая меполизумаба, которая начиналась с 500 нг/мл, и образцы тестировали, используя только коэффициент разведения 1000. Анализ образцов контрольных антител, специфических к П–13, выполняли аналогично тому, как описано выше, за исключением того, что стандартная кривая антитела начиналась с 500 нг/мл, образцы тестировали, используя только коэффициента разведения 1000, и для данных, представленных в настоящем описании, использовали анализ захвата П–13, в котором вместо биотинилированного П–5 использовали биотинилированный П–13 (внутренний реагент GSK) в концентрации 100 нг/мл в буфере для анализа. Данные нормализовали относительно значения при T<sub>0</sub>, как описано выше.

#### Способы: РК/PD яванского макака in vivo

Исследование включало 4 группы яванских макаков (*Macaca flavicularis*, 2–5 лет, вес 2–6 кг, специально выведенного наива Маврикийского происхождения), каждая из которых состояла из 2 самцов и 2 самок. Яванских макаков размещали в загонах по 4 животных одного пола на клетку с обогащенной средой, способствующей социальному взаимодействию, игре и изучению. Во время исследования каждое животное имело доступ в среднем к 200 г/сутки стандартного рациона (PMI Nutrition International,

сертифицированная диета для приматов № 5S48 (25% белка) и Special Diets Services (SDS) Mazuri Expanded Short (MP (E) short SQC)) на протяжении всего исследования и к воде без ограничения. Выполняли подсчет всех гематологических клеток, включая количество эозинофилов, до введения дозы, а затем каждые 1 или 2 недели после введения дозы (в течение 6 месяцев). Животным вводили внутривенную болюсную инъекцию 28Y042–7F11–1 (0,05 мг/кг или 1 мг/кг), меполизумаба (1 мг/кг) или носителя в день 1. Дополнительно к количеству гематологических клеток также измеряли РК тестируемого вещества и общего IL–5.

#### Способы: Данные РК

Животным вводили испытуемое вещество в день 1 и брали образцы (см. таблицу 20 и таблицу 21) путем забора крови из бедренной вены без добавления антикоагулянта. Сбор образцов выполняли как можно позже во второй половине дня (между 13 и 15 часами), чтобы он совпал с гематологическим (эозинофильным) графиком забора крови. Образцы оставляли для коагуляции в течение по меньшей мере 1 часа при температуре окружающей среды, а затем центрифугировали при 2500 g в течение 10 минут при 4°C. Полученную сыворотку отделяли, переносили в стандартные пробирки Sarstedt с уникальной маркировкой и сразу замораживали на сухом льду, затем хранили при –80°C.

Концентрацию 28Y042–7F11–1 и меполизумаба в образцах сыворотки яванского макака определяли с помощью иммуноанализа, используя платформу GYROLAB Work Station (Gyros, P0004943). Биотинилированный рекомбинантный человеческий IL–5 для захвата (реагента, полученного в лаборатории) и стандарты 28Y042–7F11–1 (в сыворотке яванского макака) разводили в буфере REXXIP A (Gyros, P0004820), а античеловеческие IgG, меченные ALEXA–647, для детектирования (клон JDC–10) разбавляли в буфере REXXIP F (Gyros, P0004825). Анализ подтверждали в диапазоне 30–10000 нг/мл для 28Y042–7F11–1 и 100–10000 нг/мл для меполизумаба на CD BIOAFFY 1000 (Gyros, P0004253). Значения концентрации в сыворотке для 28Y042–7F11–1 находились в ожидаемом диапазоне. В таблице 20 приведен график забора крови яванского макака для анализа РК и общего IL–5. Объем крови для экстракции составлял 0,7 мл (0,5 мл, где имеется значок \*). В таблице 21 приведены графики забора проб для гематологического анализа.

Таблица 20.

Временные точки забора образцов крови (Время после введения дозы в часах) с момента окончания инъекции в день 1; [День №]									
0,25 ч [1]	1ч [1]	3ч [1]	6ч [1]	24ч [2]	48ч [3]	96ч [5]	168ч [8]	336ч [15]	672ч [29]
1008ч [43]	1344ч [57]	1680ч [71]*	2016ч [85]	2688ч [113]	3360ч [141]	4032ч [169]	4368ч [183]	4704ч [197]	5040ч [211]

5376ч	5712ч	6048ч	6384ч
[255]	[239]	[253]	[267]

Таблица 21.

Временные точки забора образцов крови (Время после введения дозы в часах) с момента окончания инъекции в день 1; [День №]									
25ч [2]	168ч [8]	336ч [15]	672ч [29]	1008ч [43]	1176ч [50]	1344ч [57]	1512ч [64]	1680ч [71]	1848ч [78]
2016ч [85]	2184ч [92]	2376ч [100]	2520ч [106]	2688ч [113]	3024ч [127]	3360ч [141]	3696ч [155]	4032ч [169]	4368ч [183]
4704ч [197]	5040ч [211]	5376ч [225]	5712ч [239]	6048ч [253]	6384ч [267]				

Способы: Данные относительно уровня общего IL-5

Животным вводили дозы, брали образцы крови, которые обрабатывали, как описано для сбора данных РК. Стандартные кривые IL-5 яванского макака (конечная концентрация 2,44–10000 пг/мл) получали при серийном разведении 1 к 4 с 2х конечной концентрацией в объединенной сыворотке яванского макака (SeraLab, S-118-D). Четыре контрольных QC-меченных образца IL-5 также готовили в требуемой 2х конечной концентрации (с учетом разведения 1:2 коктейлем антител) с использованием объединенной сыворотки яванского макака (5000, 500, 50 и 0 пг/мл IL-5). Затем каждый стандартный QC-меченный/контрольный образец сыворотки переносили (50 мкл) в новый 96-луночный полипропиленовый планшет. Коктейль антител для захвата и детектирования готовили, используя конъюгат крысиного античеловеческого антитела к IL-5 с биотином (Southern Biotech, 10118-08) с конечной концентрацией 0,5 мкг/мл в качестве mAb для захвата, а крысиное mAb к человеческому IL-5, меченное сульфогруппой (Southern Biotech, 10118-14 (MSD, меченный сульфогруппой, получали в лаборатории)) с конечной концентрацией 0,5 мкг/мл в качестве mAb для детектирования. Антитела для захвата и детектирования готовили в буфере для анализа (RK/CI буфер: [6,4 mM ЭДТА, 5,1 mM EGTA, 50 mM HEPES, 149,2 mM NaCl, 1% Тритон X-100, 1% БСА, pH 7,4]) с 2х конечной концентрацией с учетом разведения 1:2 в стандарте/образце/контроле. Коктейль антител (50 мкл) добавляли к каждому стандартному/QC-меченному контрольному/исследуемому образцу сыворотки и инкубировали в течение 3 ч при комнатной температуре в условиях встряхивания (600 об/мин) в темноте. MSD-планшет со стрептавидином с наночастицами золота (Meso Scale Discovery, L15SA-1) блокировали 150 мкл/лунку блокирующим MSD-буфером (3% MSD Blocker A (Meso Scale Discovery, R93BA-1) в PBS и инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре в условиях встряхивания (600 об/мин). После 3-часовой инкубации коктейля антител и

стандартных/QC–меченных/тестируемых образцов 25 мкл/лунка сыворотки в двух экземплярах (или в трех экземплярах для QC–меченных контролей) переносили на блокированный и промытый (SKAN WASHER 300, Skatron Instruments) MSD планшет со стрептавидином с наночастицами золота. Затем планшет инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре в условиях встряхивания (600 об/мин). После инкубации планшет промывали (SKAN WASHER 300, Skatron Instruments). Готовили буфер Т для считывания (2х) и 150 мкл/лунка добавляли в каждую лунку MSD планшета со стрептавидином с наночастицами золота. Затем осуществляли количественный анализ электрохемилюминесценции с помощью MSD Sector S 600 (модель 1201) в течение 15 минут.

#### Способы: Подсчет эозинофилов

Уменьшение количества эозинофилов использовали в качестве биомаркера 28Y042–7F11–1–опосредованной активности нейтрализации П–5. Перед введением исследуемого вещества панель из 39 животных подвергали предварительному скринингу для определения уровня эозинофилов (дни –51 и –44), и для дальнейшего исследования отбирали животных с уровнями эозинофилов ( $\geq 180$  эозинофилов/мкл). Животных с более высоким количеством эозинофилов отбирали, исходя из предположения, что они обеспечат более длинное окно для анализа для измерения уровня подавления эозинофилов. Предполагалось, что из-за того, что животные содержались в неволе и жили в условиях чистой комнаты, они имели более низкое исходное количество эозинофилов, чем дикие животные, и в случае воздействия лекарства эти более низкие значения эозинофилов могут упасть ниже порогового уровня, позволяющего количественное определение. На этапе предварительного скрининга также стало очевидным, что у некоторых животных наблюдается значительное колебание в количестве эозинофилов. Причина такой изменчивости неизвестна, но может быть объяснена множеством факторов, таких как: окружающая среда, стресс или гормональные изменения.

После отбора для исследования 16 животных, их снова поместили в исследовательские загон (по 4 животных одного пола на загон) и дали время для акклиматизации в новом окружении. Во время акклиматизации до введения дозы выполнили 3 гематологических исследования (дни –21, –14 и –7). Животным вводили испытуемое вещество в первый день и отбирали пробы путем забора 0,5 мл крови из бедренной вены с использованием ЭДТА в качестве антикоагулянта. Сбор образцов выполняли как можно позже во второй половине дня (между 1 и 3 часами) для контроля суточных изменений уровня эозинофилов в крови. После сбора образцы обрабатывали в течение 60 минут после окончательного сбора образцов в каждой временной точке, и выполняли количественный анализ с помощью гематологического анализатора ADVIA 120 (Siemens), используя как метод пероксидазы, так и метод базофилы/дольчатость.

#### **Пример 2**

28Y042–7F11–1 также оценивали в анализе токсичности GLP (10 и 100 мг/кг/неделя) при 4–недельной однократной дозе и 26–недельных повторных дозах. В

этих исследованиях 28Y042–7F11–1 вводили подкожно яванским макакам. Фаза по уменьшению дозы в 26–недельном исследовании продолжается (май 2017 года), поэтому в настоящем описании приведен промежуточный отчет, в котором представлены данные, полученные во время предварительной обработки, выполненной до окончания периода дозирования. Системные воздействия, полученные в этом исследовании, представлены в таблице 22. Для проведения этих исследований и соответствующего анализа использовали стандартные методы. В таблице 22 приведена сравнительная оценка среднего системного ответа у яванского макака после подкожного введения 28Y042–7F11–1. В таблице 23 приведены средние фармакокинетические параметры 28Y042–7F11–1, полученные у яванского макака после однократного IV или SC введения. В таблице 24 приведены допустимые пределы безопасности при сравнении данных, полученных в анализе NOAEL для яванского макака, с прогнозируемыми данными для человека для подкожно вводимых доз («безопасное покрытие»).

Таблица 22.

длительность	Доза (мг/кг)	Пол (М/Ж)	AUC (мкг*ч/мл) <sup>a</sup>		C <sub>max</sub> (мкг/мл)		T <sub>max</sub> (ч)	
			День 1	Неделя 14	День 1	Неделя 14	День 1	Неделя 14
Однократная доза 4– неделя <sup>b</sup>	10	(М/Ж)	58900	NA	131	NA	84	NA
	100	(М/Ж)	551000	NA	1200	NA	84	NA
Повторная доза 26– неделя <sup>b, c</sup>	10	(М/Ж)	104000 (85100 – 138000 )	116000 0 (40300 – 185000 )	125 (113– 153)	149 (101– 221)	120	120
	<b>100</b>	<b>(М/Ж)</b>	<b>837000</b> <b>(67100</b> <b>0–</b> <b>983000</b> <b>)</b>	<b>112000</b> <b>0</b> <b>(89800</b> <b>0–</b> <b>129000</b> <b>0)</b>	<b>1200</b> <b>(1110</b> <b>–</b> <b>1279)</b>	<b>1390</b> <b>(1090–</b> <b>1610)</b>	<b>72</b>	<b>96</b>
Пояснение:								
а. AUC (0–t) = площадь под кривой зависимости концентрации в плазме от времени от 0 до 672 ч (4 недели) после введения одной дозы и от 0 до 2016 ч (12 недель) после повторного введения.								

б. n=3/пол/группа; оба пола объединены, в связи с отсутствием заметных различий между полами в воздействии 28Y042–7F11–1

с. 5/пол/группа в дозе 10 мг/кг и n=3/пол/группа в дозе 100 мг/кг; оба пола объединены, в связи с отсутствием заметных различий между полами в воздействии 28Y042–7F11–1. Первую дозу лекарственного вещества вводят в день 1; вторую дозу вводят на неделе 14

Отсутствие наблюдаемых уровней нежелательных явлений (NOAEL) выделено **жирным шрифтом**.

Значения в скобках представляют диапазон.

$C_{\max}$  = максимальная концентрация

NA – не определено

$T_{\max}$  = время до наблюдаемой максимальной концентрации

Таблица 23.

Параметр	Внутривенная		Подкожная
	0,05	1	1
Доза (мг/кг)	0,05	1	1
$C_{\max}$ (мкг/мл)	1,29	23,4	12,5
$AUC_{0-4}$ (мкг*ч/мл)	457	9550	9270
CL (мл/ч/кг)	0,0942	0,105	0,0974 <sup>1</sup>
$V_{ss}$ (мл/кг)	77,8	79,7	74,0 <sup>2</sup>
$T_{1/2}$ (дни)	25	24	22
Биодоступность (%)	NA	NA	111

NA – не определено

1. CL/f

2.  $V_z/F$

Таблица 24.

Прогнозируемая $C_{\max}$ и AUC у человека				Безопасное покрытие (vs. NOAEL для обезьян)		
Доза (мг)	Доза (мг/кг) <sup>1</sup>	$C_{\max}$ (мкг/мл)	AUC (мкг*ч/мл)	Покрытие дозы <sup>2</sup>	Покрытие $C_{\max}$	Покрытие AUC
2	0,03	0,226	323	3500x	6156x	3471x
10	0,14	1,13	1613	700x	1231x	694x
30	0,43	3,39	4840	233x	410x	231x
100	1,43	11,3	16132	70x	123x	69x
300	4,29	33,9	48396	23x	41x	23x

1 – предполагаемый субъект весом 70 кг; 2 – покрытие дозы (выраженной в мг/кг)

**Пример 3**Информация относительно списка последовательностей

Подчеркивание ниже обозначает последовательности CDR, согласно определению CDR по Кабат, в переменных областях тяжелой цепи и переменных областях легкой цепи антител или в последовательностях нуклеиновых кислот, кодирующих эти последовательности CDR. Например, в SEQ ID NO: 1 каркасная область и CDR представлены в виде обычного текста для каркасной области 1, в виде подчеркнутого текста – для CDR1, обычного текста – для каркасной области 2, подчеркнутого текста – для CDR2, обычного текста – для каркасной области 3, подчеркнутого текста – для CDR3 и в виде обычного текста – для каркасной области 4 в направлении от аминоконцевальной части до карбокси-концевальной части последовательности. Эта схема используется, например, в SEQ ID NO: 1–4. Аминоконцевые остатки метионина, показанные в этих последовательностях, могут быть отщеплены. Таким образом, последовательности, показывающие в настоящем описании аминоконцевой остаток метионина, также необходимо рассматривать как расщепленные варианты этих белков, в которых отсутствует такой аминоконцевой остаток метионина. Последовательности нуклеиновых кислот представлены в виде последовательностей ДНК нуклеиновых кислот и включают остатки «t» нуклеиновой кислоты, соответствующую последовательность РНК также следует рассматривать как являющуюся раскрытой с учетом того, что остатки «t» нуклеиновой кислоты также следует рассматривать как раскрывающие остаток «u» нуклеиновой кислоты. Кроме того, 5'-проксимальный стартовый кодон «atg» и 3'-проксимальные стоп-кодоны «taa», «tag» и «tga» опущены в приведенных ниже последовательностях нуклеиновой кислоты кДНК.

**ПОЛНОРАЗМЕРНАЯ ТЯЖЕЛАЯ ЦЕПЬ 28Y042–7F11–1****SEQ ID NO: 1**

QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTVSGFSLTGGSSVHWVRQPPGKGLEWLGVIWASGGTDYN  
SALMSRLSISKDTSRNQVVL TMTNMDPVDTATYYCARDPPSGLLRDYLWGRGTLVTVSSA  
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLY  
 SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL  
 FPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV  
 VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ  
 VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFN  
 SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

**ПОЛНОРАЗМЕРНАЯ ЛЕГКАЯ ЦЕПЬ 28Y042–7F11–1**

**SEQ ID NO: 2**

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSOSLLNSGNQKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYGASTRE  
SGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQNVHSFPFTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIF  
 PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTL  
 TLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

**28Y042-7F11-1 VH****SEQ ID NO: 3**

QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTVSGFSLTGSSVHWVRQPPGKGLEWLGVIWASGGTDYN  
SALMSRLSISKDTSRNQVVLMTNMDPVDATYYCARDPPSGLLRDYLWGRGTLVTVSS

**28Y042-7F11-1 VL****SEQ ID NO: 4**

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSOSLLNSGNQKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYGASTRE  
SGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQNVHSFPFTFGGGTKLEIKR

**28Y042-7F11-1 CDRH1****SEQ ID NO: 5**

GSSVH

**28Y042-7F11-1 CDRH2****SEQ ID NO: 6**

VIWASGGTDYNSALMS

**28Y042-7F11-1 CDRH3****SEQ ID NO: 7**

DPPSGLLRDYL

**28Y042-7F11-1 CDRL1****SEQ ID NO: 8**

KSSQSLNSGNQKNYLA

**28Y042-7F11-1 CDRL2****SEQ ID NO: 9**

GASTRES

**28Y042-7F11-1 CDRL3****SEQ ID NO: 10**

QNVHSFPFT

**ЧЕЛОВЕЧЕСКИЙ IL-5 (ЗРЕЛЫЙ БЕЛОК)****SEQ ID NO: 11**

IPTEIPTSALVKETLALLSTHRTLLIANETLRIPVPVHKNHQLCTEEIFQGIGTLESQTVQGGT  
 VERLFKNLSLIKKYIDGQKKKCGEERRRVNQFLDYLQEFGLGVMNTEWIIES

**ИЗОФОРМА 1 АЛЬФА СУБЪЕДИНИЦЫ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО РЕЦЕПТОРА  
 IL-5 (ЗРЕЛЫЙ БЕЛОК)**

**SEQ ID NO: 12**

DLLPDEKISLLPPVNFTIKVTGLAQVLLQWKPNDQEQRNVNLEYQVKINAPKEDDYETRIT  
 ESKCVTILHKGFSASVRTILQNDHSLASSWASAEHAPPGSPGTSIVNLCTTNTTEDNYSR  
 LRSYQVSLHCTWLVGTDAPEDTQYFLYYRYGSWTEECQEYSKDTLGRNIACWFPRTFILSK  
 GRDWLAVLVNGSSKHSAIRPFDQLFALHAIDQINPPLNVTAEIEGTRLSIQWEKPVSAFPIHC  
 FDYEVKIHNRNGYLQIEKLMTNAFISIIDDLISKYDVQVRAAVSSMCREAGLWSEWSQPIY  
 VGNDHKPLREWFVIVIMATICFILLILSLICKICHLWIKLFPPIPAKSNIKDLFVTTNYEKAG  
 SSETIEVICYIEKPGVETLEDSVF

**ДНК, КОДИРУЮЩАЯ ПОЛНОРАЗМЕРНУЮ ТЯЖЕЛУЮ ЦЕПЬ 28Y042–7F11–1, С ЛИДЕРНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬЮ**

**SEQ ID NO: 13**

atgggctggtcctgcatcatcctgtttctggtggccaccgccaccgggtgtgcacagccaggtgacctgagggagagcggccccgccctggtg  
 aagccacacagacctcactctgacctgaccgtgagcggcttcagcctgaccggctctagcgtccactgggtgagggagccccccggcaa  
 gggcctggagtggtggcgtgatctgggcaagcggggggacggactacaactcggccctgatgagcaggctcctcatcagcaaggacac  
 cagccggaaccaggtggtgctgacctgaccaacatggacccctggacaccgccacctattactgcgccagggacctccctccggcctgctg  
 tgaggctggactactggggcaggggaactagtaccgtgtccagcggcagcaccagggccccagcgtgtccccctggccccagcag  
 caagagcaccagcggcgccacagccgccctggctgctggaaggactactccccgagccctgaccgtgtcctggaacagcggagc  
 cctgaccagcggcgtgcacacctccccgccctgctgagagcagcggcctgtacagcctgagcagcgtggtgaccgtgccagcagcagc  
 ctgggcaccagacctacatctgtaacgtgaaccacaagccagcaacaccaaggtggacaagcgggtggagcccaagagctgtgacaaga  
 cccacacctgccccctgcccctgccccgagctgctgggaggccccagcgtgttctgttcccccaagcctaaggacacctgtacatca  
 ccagagaaccggaggtgacctgtgtggtggatgtgagccacgagggacctgaggtgaagtcaactgttacgtggacggcgtggaggtg  
 cacaatgccaagaccaagcccagggagggagcagtaacaacagcacctaccgggtggtgtccgtgctgaccgtgctgcaccaggattggctga  
 acggcaaggagtacaagtgaagggtgtccaacaagccctgcctgccccctatcagaaaccatcagcaaggccaaggccagcccagaga  
 gccccaggtgtacacctgccccctagcagagaggagatgaccaagaaccaggtgtccctgacctgcctggtgaagggtcttaccaccagc  
 acatgccctggagtgaggagagcaacggccagcccagagaacaactacaagaccacccccctgtgctgacagcagatggcagcttctctctg  
 tacagcaagctgacctggacaagagcagatggcagcagggcaacgtgtcagctgctccctgatgcacgagggcctgcacaatcactacac  
 ccagaagagcctgagcctgtccccctggcaag

**ДНК, КОДИРУЮЩАЯ ПОЛНОРАЗМЕРНУЮ ЛЕГКУЮ ЦЕПЬ 28Y042–7F11–1, С ЛИДЕРНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬЮ**

**SEQ ID NO: 14**

atgggctggtcctgcatcatcctgtttctggtggccaccgccaccgggtgtgcacagcagacatcgtgatgaccagctccccgattcactggcctg  
 gagcctgggcgagagggccaccatcaactgcaagagcagccagagcctctgaacagcggcaaccagaagaactacctggcctgtgacca  
 gcagaaaccggccagcccccaagctgctgatctatggcctccaccaggagagcggcgtgccagacaggtttagcggcagcggcag  
 cggcaccgacttaccctgacaatcagcagcctgcaggccgaggacgtggccctgtactactgccagaacgtccacagctccccctcacctc  
 ggccgggggaaccaagctggagatcaagcgtacggctggccgccccagcgtgttcatcttccccccagcagatgagcagctgaagagcggca  
 ccgccagcgtggtgtgctgctgaacaacttccccgggagccaaggtgcagtggaaggtggacaatgccccctgcagagcggcaacag  
 ccaggagagcgtgaccgagcaggacagcaaggactccacctagacctgagcagcaccctgacctgagcaaggccgactacgagaagc  
 acaaggtgtacgcctgtgaggtgaccaccagggcctgtccagccccgtgaccaagagcttcaaccggggcgagtgcc

**ДНК, КОДИРУЮЩАЯ ВАРИАБЕЛЬНУЮ ОБЛАСТЬ ТЯЖЕЛОЙ ЦЕПИ 28Y042–7F11–1**

**SEQ ID NO: 15**

caggtgacctgagggagagcggccccgccctggtgaagccacacagacctcactctgacctgaccgtgagcggcttcagcctgaccg  
 gctctagcgtccactgggtgagggcagccccccgcaaggccctggagtggtggcgtgatctggcaagcggggggacggactacaact  
 cggccctgatgagcaggctctccatcagcaaggacaccagccggaaccaggtggtgctgaccatgaccaacatggacccccgtggacaccg  
 cacctattactgcgccagggacctccctccggcctgctgaggtcggactactggggcaggggaactagtggacctgtccagc

**ДНК, КОДИРУЮЩАЯ ВАРИАБЕЛЬНУЮ ОБЛАСТЬ ЛЕГКОЙ ЦЕПИ 28Y042–7F11–1**

**SEQ ID NO: 16**

gacatcgtgatgaccagctctcccgattcactggccgtgagcctgggagagggccaccatcaactgcaagagcagccagagcctcctgaa  
 cagcggcaaccagaagaactacctggcctgggtaccagcagaaccggccagcccccaagctgctgatctatggcgctccaccagggag  
 agcggcgtgccagacaggttagcggcagcggcagcggcaccgacttcaccctgacaatcagcagcctgcagggcaggacgtggccgtg  
 tactactgccagaacgtccacagctcccccttcaccttcggcgggggaaccaagctggagatcaagcgt

**ДНК, КОДИРУЮЩАЯ ПОЛНОРАЗМЕРНУЮ ТЯЖЕЛУЮ ЦЕПЬ 28Y042-  
7F11-1**

**SEQ ID NO: 17**

caggtgaccctgagggagagcggccccgccctgggtaagcccacacagaccctcactctgacctgcaccgtgagcggcttcagcctgaccg  
 gctctagcgtccactgggtgagggagccccccggcaagggcctggagtggtggcgtgatctgggcaagcggggggacggactacaact  
 cggccctgatgagcaggtctccatcagcaaggacaccagccggaaccaggtggtgctgacctgaccaacatggaccccgtggacaccgc  
 cacctattactgcgcccagggaccctccctccggcctgctgaggtctgactactggggcaggggaactagtaccgtgtccagcggcagca  
 ccaagggccccagcgtgtccccctggccccagcagcaagagcaccagcggcggcacagccgccctgggctgctgggtaaggactactt  
 ccccagaccgtgaccgtgtcctggaacagcggagccctgaccagcggcgtgacacacctccccgccgtgctgcagagcagcggcctgtac  
 agcctgagcagcgtgtgaccgtgcccagcagcagcctgggcaaccagactacatctgtaacgtgaaccacaagcccagcaaccacaag  
 tggacaagcgggtggagcccaagagctgtgacaagaccacacctgccccctgccccgagctgctgggagggccccagcgtgtt  
 cctgttccccccaagcctaaggacaccctglacatcaccagagaaccagggtgacctgtgtggtggatgtgagccacgaggaccctga  
 ggtgaagttcaactggtacgtggagcggcgtggaggtgcacaatgccaagaccaagcccagggaggagcagtacaacagcacctaccgggt  
 ggtgtccgtgctgaccgtgctgaccaggtggctgaacggcaaggagtacaaggtgtaaggtgtccaacaagggcctgctgccccctacga  
 gaaaaccatcagcaagccaagggccagccccagagagccccaggtgtacacctgccccctagcagagaggagatgaccaagaaccagg  
 tgcctgacctgctgtgaaagggcttctaccccagcagatcggcgtggagtgggagagcaacggccagcccagagaacaactacaagac  
 cccccctgtgctggacagcagatggcagcttctctgtacagcaagctgaccgtggacaagagcagatggcagcagggcaacgtgtca  
 gctgctccgtgatgcagaggccctgcacaatcactacaccagaagagcctgagcctgtccccctggcaag

**ДНК, КОДИРУЮЩАЯ ПОЛНОРАЗМЕРНУЮ ЛЕГКУЮ ЦЕПЬ 28Y042-  
7F11-1**

**SEQ ID NO: 18**

gacatcgtgatgaccagctctcccgattcactggccgtgagcctgggagagggccaccatcaactgcaagagcagccagagcctcctgaa  
 cagcggcaaccagaagaactacctggcctgggtaccagcagaaccggccagcccccaagctgctgatctatggcgctccaccagggag  
 agcggcgtgccagacaggttagcggcagcggcagcggcaccgacttcaccctgacaatcagcagcctgcagggcaggacgtggccgtg  
 tactactgccagaacgtccacagctcccccttcaccttcggcgggggaaccaagctggagatcaagcgtacgggtggccccccagcgtgtc  
 atcttccccccagcagatgagcagctgaagagcggcaccgcccagcgtggtgtgctgctgtaacaacttctacccccgggagggccaaggtgca  
 gtggaaggtggacaatgccctgcagagcggcaacagccaggagagcgtgaccgagcagggacagcaaggactccacctacagcctgagca  
 gcacctgacctgagcaagggcgaactacgagaagcacaaggtgtacgcctgtgaggtgaccaccagggcctgtccagccccgtgaccaa  
 gagcttcaaccggggcagtgctc

**ЛИДЕРНАЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ТЯЖЕЛОЙ ЦЕПИ 28Y042-7F11-1****SEQ ID NO: 19**

MGWSCILFLVATATGVHS

**ЛИДЕРНАЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ТЯЖЕЛОЙ ЦЕПИ 28Y042-7F11-1****SEQ ID NO: 20**

MGWSCILFLVATATGVHS

**ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ FR4 ТЯЖЕЛОЙ ЦЕПИ 28Y042-7F11-1****SEQ ID NO: 21**

WGRGTLVTVSS

Теперь, когда настоящее изобретение полностью описано, для специалиста в данной области техники будет очевидно, что в изобретение может быть внесено множество изменений и модификаций без отклонения от сущности или объема

прилагаемой формулы изобретения.

Материал в текстовом файле ASCII с названием «PU66209P\_US\_SeqList [.]», созданный 26 мая 2017 года и имеющий размер 21 851 байт, полностью включен в настоящий документ в качестве ссылки.

**ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Антигенсвязывающий белок, содержащий переменную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDRH1, показанную в SEQ ID NO: 5, аминокислотную последовательность CDRH2, показанную в SEQ ID NO: 6, и аминокислотную последовательность CDRH3, показанную в SEQ ID NO: 7; и переменную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDRL1, показанную в SEQ ID NO: 8, аминокислотную последовательность CDRL2, показанную в SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность CDRL3, показанную в SEQ ID NO: 10.

2. Антигенсвязывающий белок по п.1, в котором переменная область тяжелой цепи дополнительно содержит аминокислотную последовательность FR4 тяжелой цепи, показанную в SEQ ID NO: 21.

3. Антигенсвязывающий белок по п.2, содержащий Fc-домен тяжелой цепи, имеющий остаток тирозина в положении 252, остаток треонина в положении 254 и остаток глутаминовой кислоты в положении 256, причем амино-конец Fc-домена тяжелой цепи соединен с карбокси-концом переменной области тяжелой цепи.

4. Антигенсвязывающий белок, содержащий последовательность переменной области тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 3; и последовательность переменной области легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 4.

5. Антигенсвязывающий белок по п.4, содержащий Fc-домен тяжелой цепи, имеющий остаток тирозина в положении 252, остаток треонина в положении 254 и остаток глутаминовой кислоты в положении 256, причем амино-конец Fc-домена тяжелой цепи соединен с карбокси-концом переменной области тяжелой цепи.

6. Антитело, содержащее тяжелую цепь и легкую цепь, причем

а) тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDRH1, показанную в SEQ ID NO: 5, аминокислотную последовательность CDRH2, показанную в SEQ ID NO: 6, и аминокислотную последовательность CDRH3, показанную в SEQ ID NO: 7; и

б) легкая цепь содержит переменную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность CDRL1, показанную в SEQ ID NO: 8, аминокислотную последовательность CDRL2, показанную в SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность CDRL3, показанную в SEQ ID NO: 10.

7. Антитело по п. 6, в котором переменная область тяжелой цепи дополнительно содержит аминокислотную последовательность FR4 тяжелой цепи, показанную в SEQ ID NO: 21.

8. Антитело по п.7, в котором тяжелая цепь содержит Fc-домен тяжелой цепи, имеющий остаток тирозина в положении 252, остаток треонина в положении 254 и остаток глутаминовой кислоты в положении 256.

9. Антитело, содержащее тяжелую цепь и легкую цепь, причем

а) тяжелая цепь содержит последовательность вариабельной области тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 3; и

б) легкая цепь содержит последовательность вариабельной области легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 4.

10. Антитело по п.9, в котором тяжелая цепь содержит Fc-домен тяжелой цепи, имеющий остаток тирозина в положении 252, остаток треонина в положении 254 и остаток глутаминовой кислоты в положении 256.

11. Антитело, содержащее тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 2.

12. Пептидная цепь, содержащая аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 3.

13. Пептидная цепь, содержащая аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1.

14. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую вариабельную область тяжелой цепи по п. 1, и нуклеиновую кислоту, кодирующую вариабельную область легкой цепи антигенсвязывающего белка по п. 1.

15. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую вариабельную область тяжелой цепи по п. 2, и нуклеиновую кислоту, кодирующую вариабельную область легкой цепи по п. 2.

16. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую Fc-домен тяжелой цепи, соединенный с карбокси-концом вариабельной области тяжелой цепи по п. 3, и нуклеиновую кислоту, кодирующую вариабельную область легкой цепи по п. 3.

17. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую вариабельную область тяжелой цепи по п. 6, и нуклеиновую кислоту, кодирующую вариабельную область легкой цепи антигенсвязывающего белка по п. 6.

18. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую вариабельную область тяжелой цепи по п. 7, и нуклеиновую кислоту, кодирующую вариабельную область легкой цепи по п. 7.

19. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую Fc-домен тяжелой цепи, соединенный с карбокси-концом вариабельной области тяжелой цепи по п. 8, и нуклеиновую кислоту, кодирующую вариабельную область легкой цепи по п. 8.

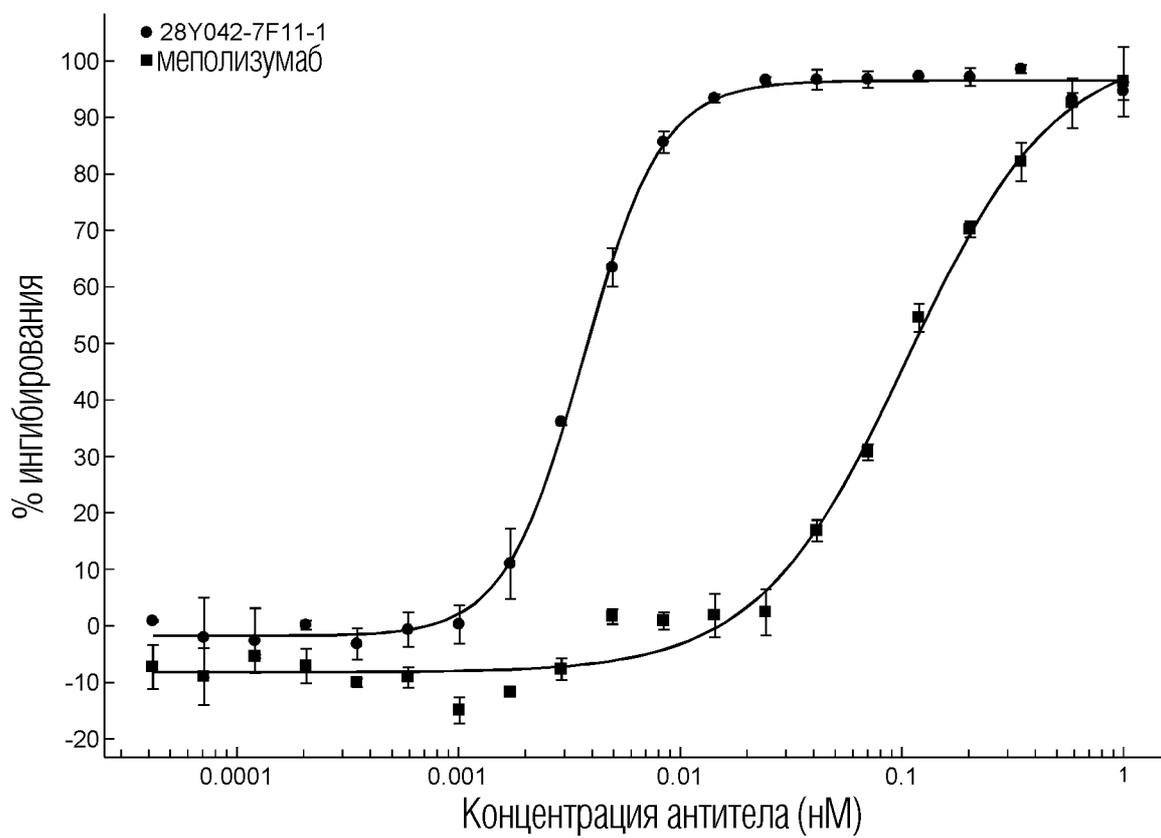
20. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 3, и нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 4.

21. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 2.

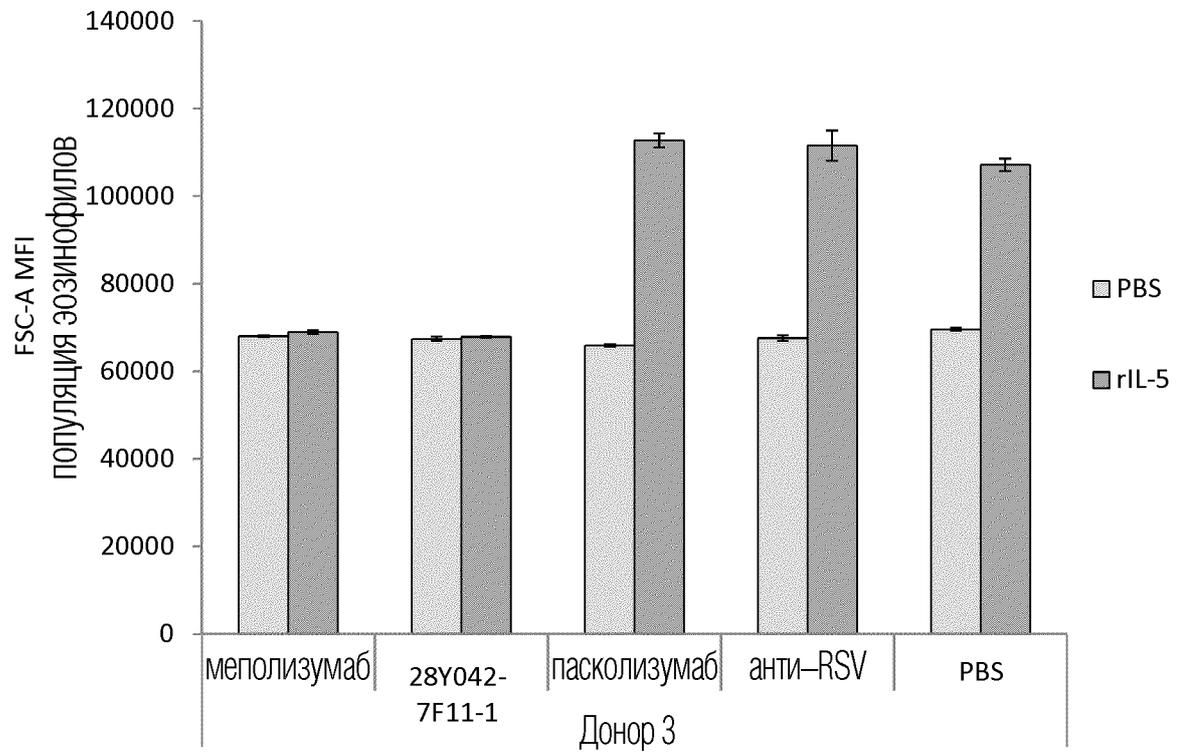
22. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 3.

23. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1.
24. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, имеющую последовательность, показанную в SEQ ID NO: 15, и нуклеиновую кислоту, имеющую последовательность, показанную в SEQ ID NO: 16.
25. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, имеющую последовательность, показанную в SEQ ID NO: 17, и нуклеиновую кислоту, имеющую последовательность, показанную в SEQ ID NO: 18.
26. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, имеющую последовательность, показанную в SEQ ID NO: 13, и нуклеиновую кислоту, имеющую последовательность, показанную в SEQ ID NO: 14.
27. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, имеющую последовательность, показанную в SEQ ID NO: 15.
28. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, имеющую последовательность, показанную в SEQ ID NO: 17.
29. Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту, имеющую последовательность, показанную в SEQ ID NO: 13.
30. Композиция, содержащая по меньшей мере одно, выбранное из группы, состоящей из: а) нуклеиновой кислоты, кодирующей вариабельную область тяжелой цепи по п.1; б) нуклеиновой кислоты, кодирующей вариабельную область тяжелой цепи по п.2; и с) нуклеиновой кислоты, кодирующей Fc-домен тяжелой цепи, соединенный с карбокси-концом вариабельной области тяжелой цепи по п. 3.

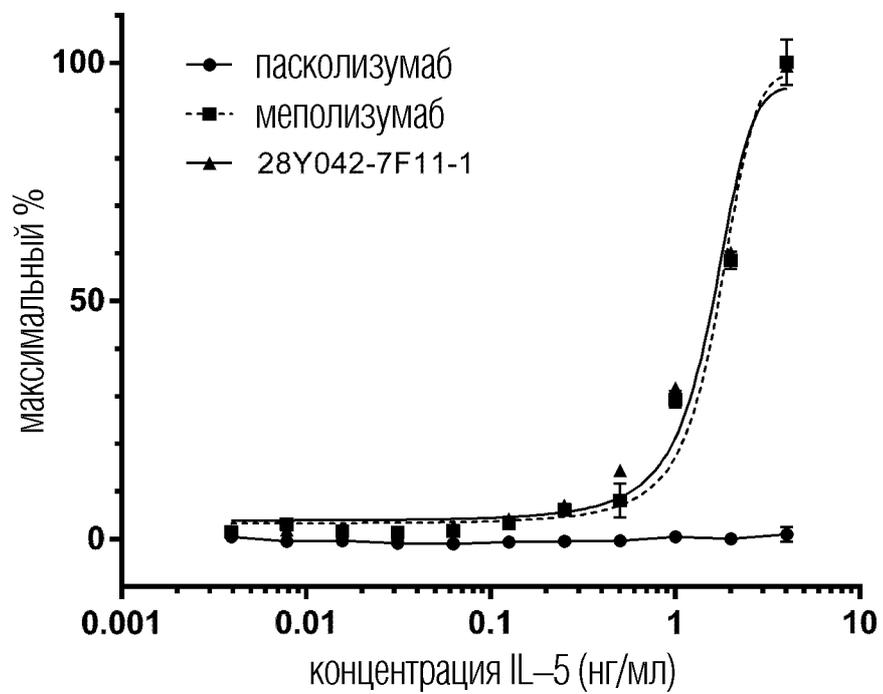
ФИГ. 1



ФИГ. 2

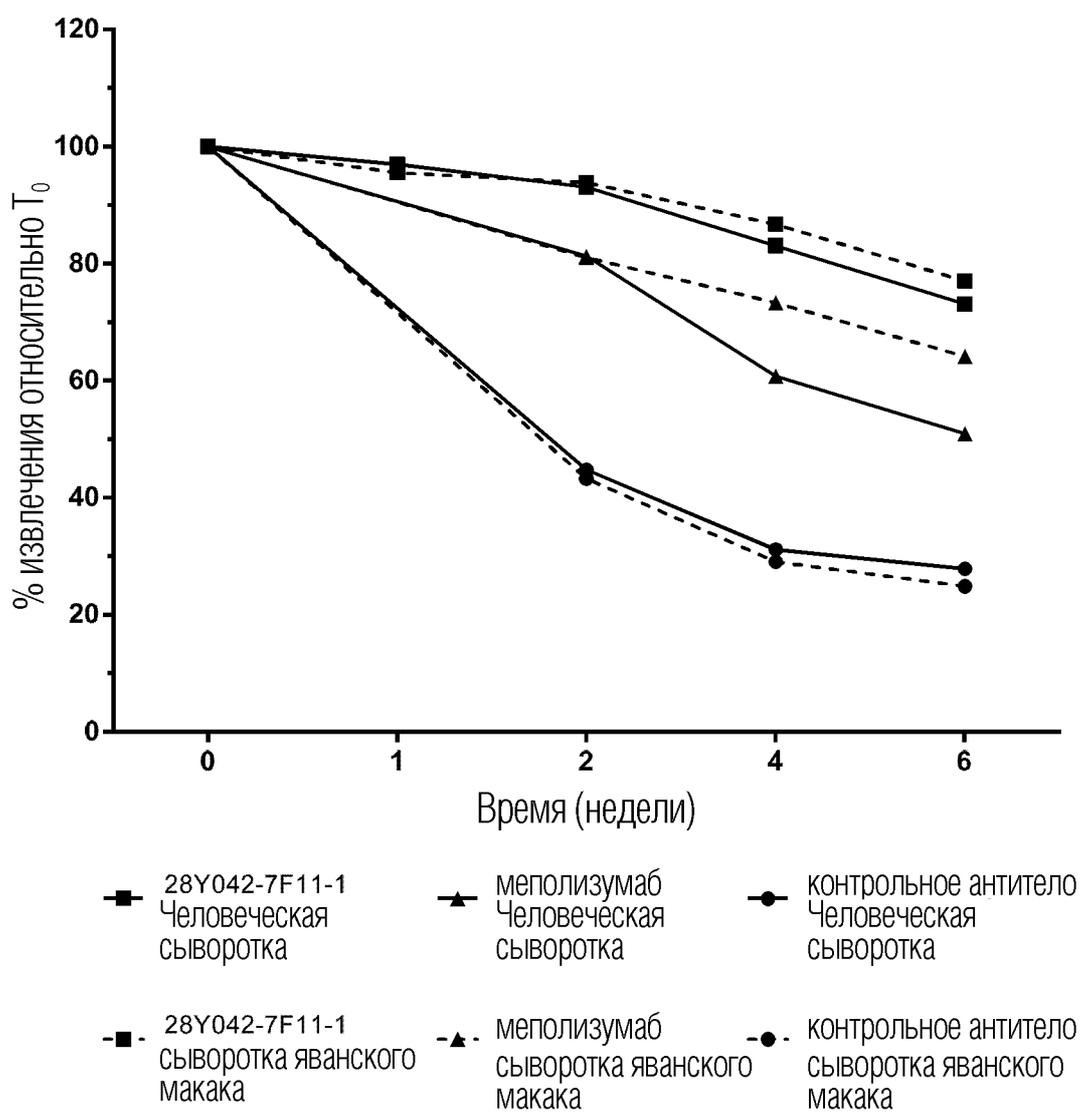


ФИГ. 3



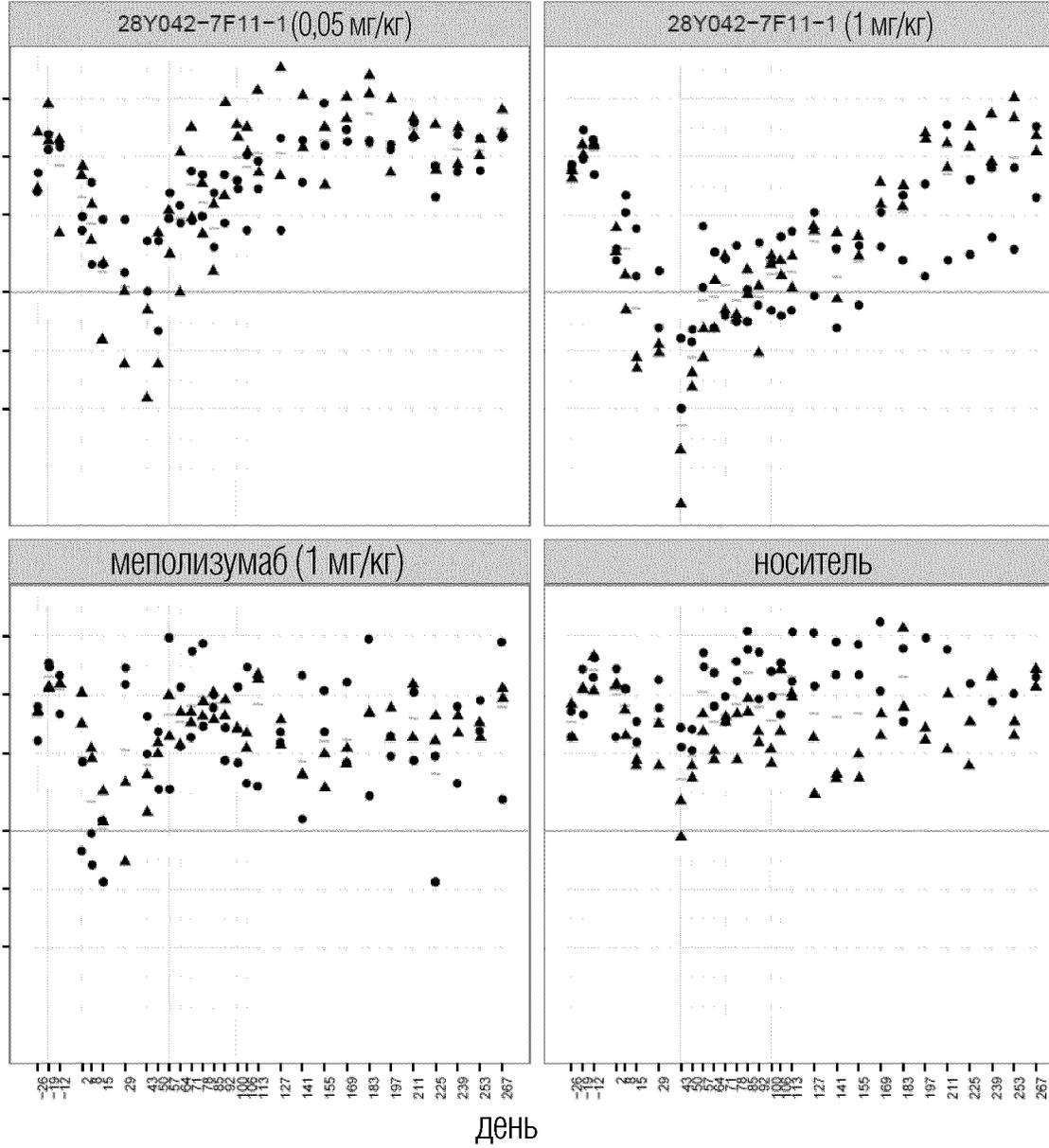
## ФИГ. 4

стабильность 28Y042-7F11-1, меполизумаба  
и контрольного антитела в сыворотке



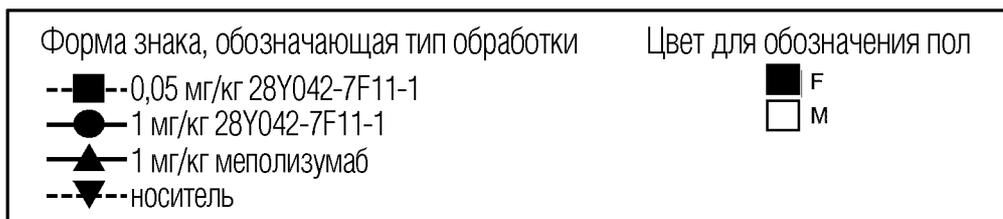
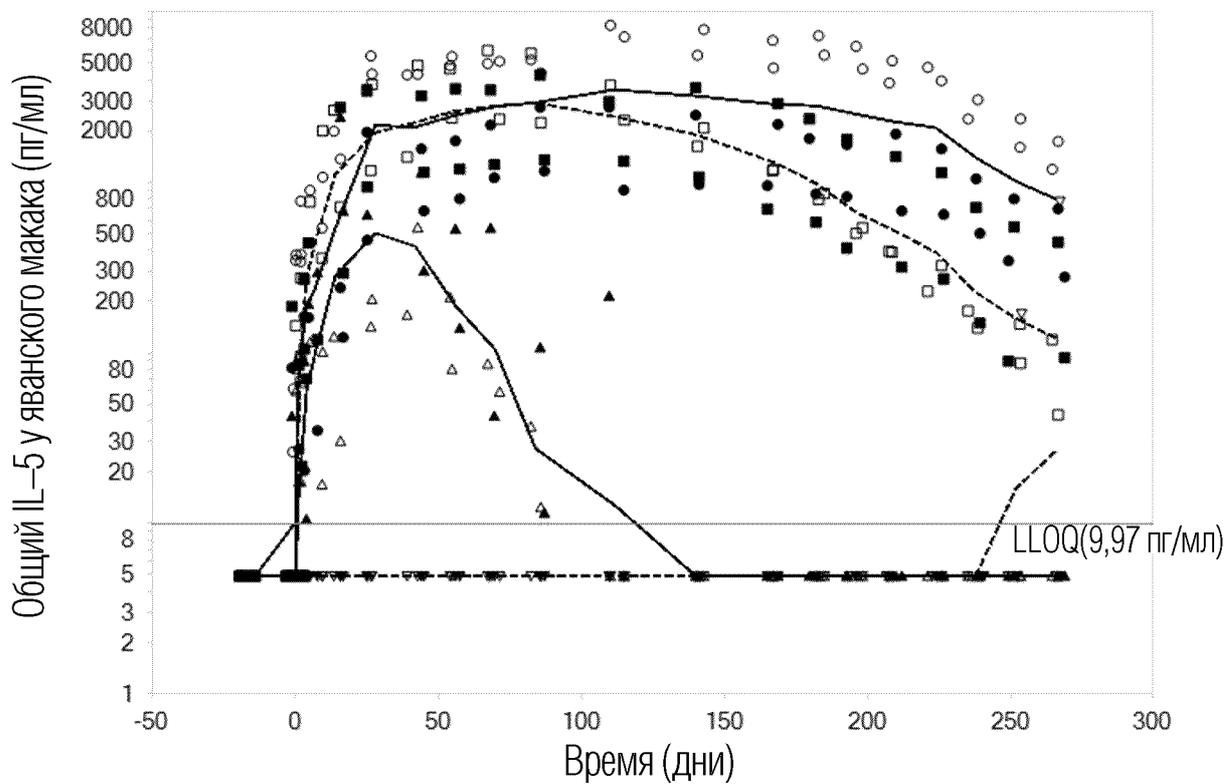
ФИГ. 5

Отношение Eos/сутки в период: День 12–День 26 до введения  
(логарифмическая шкала)

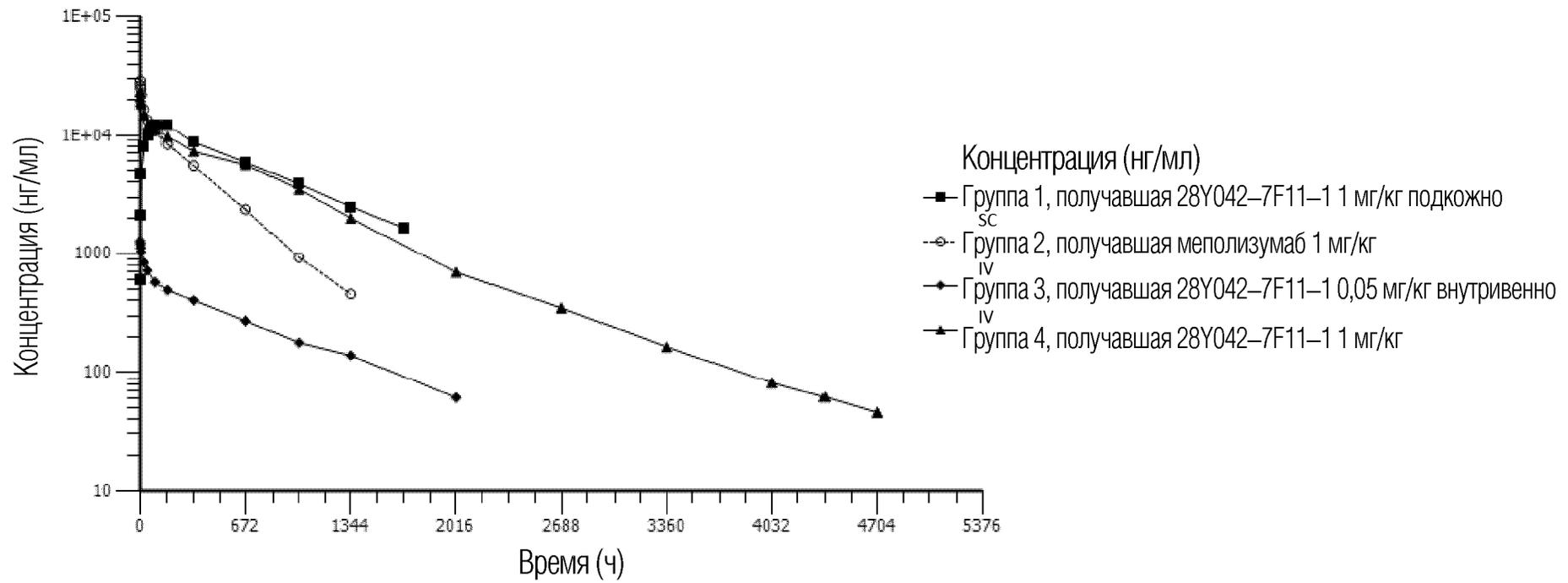


ПОЛ  
● Ж  
▲ М

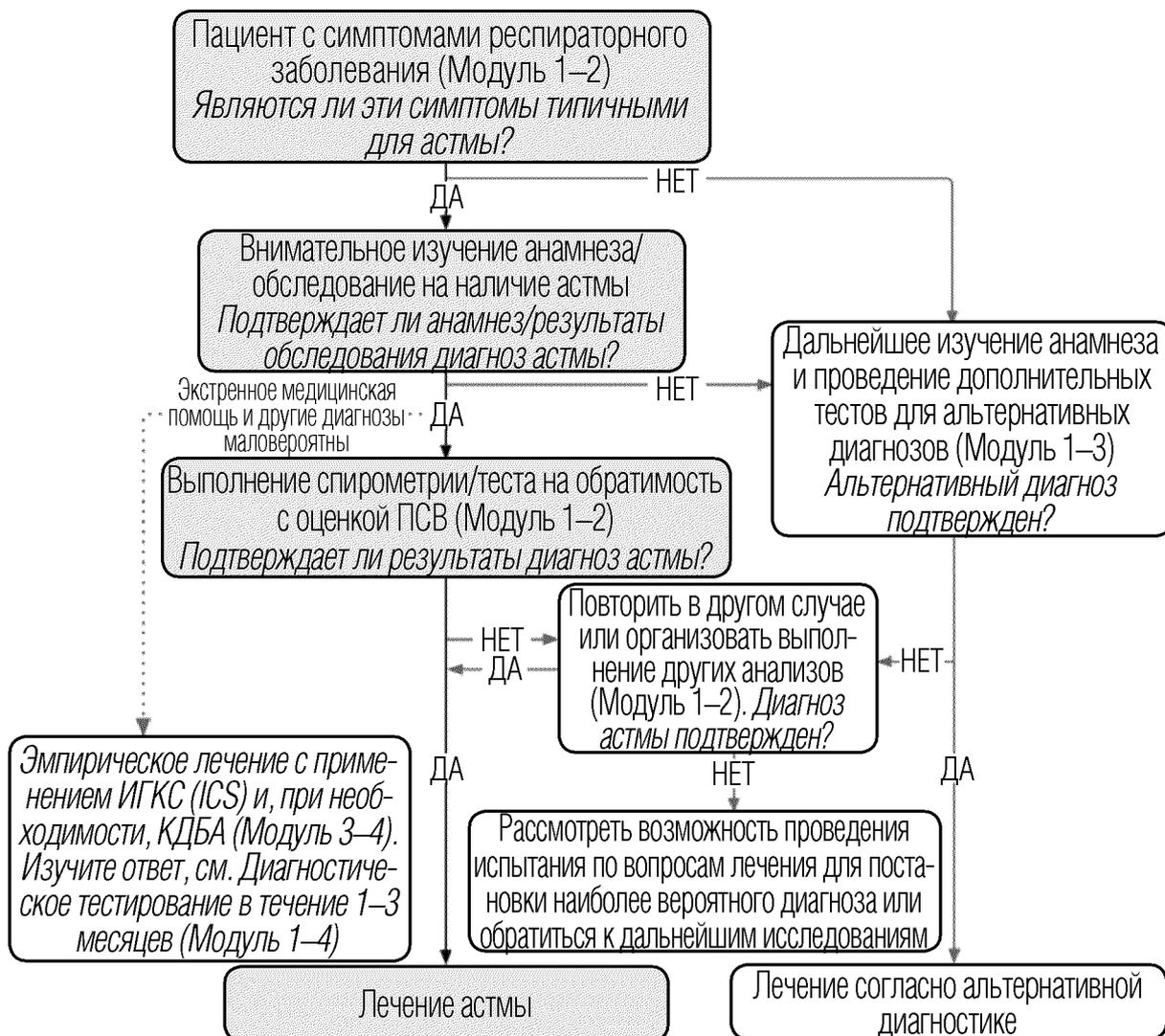
ФИГ. 6



ФИГ. 7



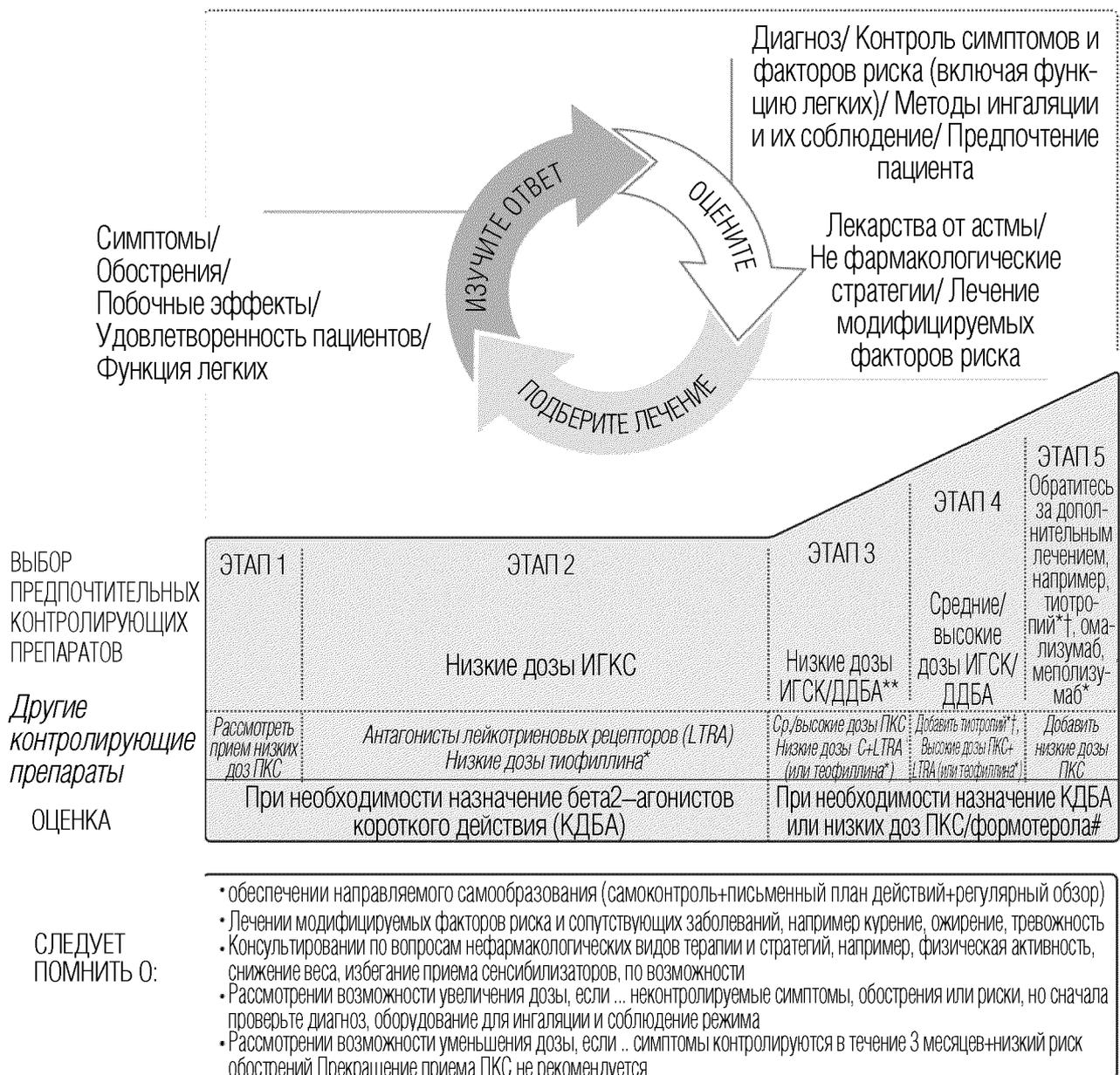
ФИГ. 8



ИГСК: ингаляционные кортикостероиды; ПСВ: пиковая скорость выдоха (самое высокое из трех показаний). При измерении ПСВ каждый раз используйте один и тот же счетчик, так как значение может меняться до 20% между различными счетчиками. КДБА – бета–агонист короткого действия

Обратимость при приеме бронходилататора может быть утрачена во время серьезных обострений или вирусных инфекций. Если обратимость при приеме бронходилататора отсутствует на начальном этапе, следующий этап зависит от возможности проведения тестов и срочности оказания необходимого лечения. См. Модуль 1–4 для диагностики астмы у пациентов, уже получающих контролируемую терапию.

## ФИГ. 9



ИГКС: ингаляционные кортикостероиды; ДДБА: бета2-агонист длительного действия; ср.: средняя доза; ПКС: пероральные кортикостероиды. См. Модуль 3–6 для низких, средних и высоких доз ПКС для взрослых, подростков и детей 6–11 лет.

\* Не рекомендуется для детей младше 12 лет. \*\* Для детей 6–11 лет предпочтительным этапом 3 лечения является прием средней дозы ПКС. # Низкая доза ПКС/формотерол – это лекарство, которое помогает пациентам, которым назначены низкие дозы будесонида/формотерола или низкие дозы беклометазона/формотерола в качестве поддерживающей и облегчающей терапии. † Тиотропий, вводимый с помощью жидкостного ингалятора, является дополнительным лечением для пациентов с анамнезом обострений; не показан детям <12 лет.