

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202291848** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.09.22

(51) Int. Cl. **C07K 16/36** (2006.01)
A61P 7/10 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2020.12.03

**(54) ПРИМЕНЕНИЕ АНТИТЕЛА К ФАКТОРУ XII ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ИЛИ
ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ НАСЛЕДСТВЕННОГО АНГИОТЕКА**

(31) **62/943,117; 63/093,975**

(32) **2019.12.03; 2020.10.20**

(33) **US**

(86) **PCT/AU2020/051321**

(87) **WO 2021/108862 2021.06.10**

(71) Заявитель:
КСЛ ИННОВЕЙШН ПТИ ЛТД (AU)

(72) Изобретатель:

**Прагст Инго (DE), Паваскар Дипти,
Юрашек Тереза, Чжан Ин (US)**

(74) Представитель:

**Веселицкий М.Б., Кузенкова Н.В.,
Каксис Р.А., Белоусов Ю.В., Куликов
А.В., Кузнецова Е.В., Соколов Р.А.,
Кузнецова Т.В. (RU)**

(57) В настоящем изобретении описано антитело к FXII, которое содержит (I) V_H, содержащую CDRH1, который содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 1; CDRH2, который содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 2; и CDRH3, который содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 3; и (II) V_L, содержащую CDRL1, который содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 4; CDRL2, который содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 5; и CDRL3, который содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 6, предназначенное для применения в способе лечения или предупреждения наследственного ангиотека (HAE) у индивидуума, в котором антитело вводят индивидууму подкожно.

A1

202291848

202291848

A1

ПРИМЕНЕНИЕ АНТИТЕЛА К ФАКТОРУ XII ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ИЛИ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ НАСЛЕДСТВЕННОГО АНГИОТЕКА

5

Настоящее изобретение относится к антителу к FXII, предназначенному для применения в способе лечения или предупреждения наследственного ангиотека (НАЕ) у индивидуума, в котором антитело вводят индивидууму подкожно.

Предпосылки создания изобретения

10 Фактор XII (фактор Хагемана, FXII) представляет собой сывороточный гликопротеин с молекулярной массой примерно 80 кДа. Помимо самоактивации под воздействием отрицательно заряженных поверхностей, фактор XII дополнительно активируется калликреином посредством протеолитического расщепления с образованием альфа-фактора XIIa, который затем дополнительно
15 превращается, например, под действием трипсина, в бета-фактор XIIa (FXIIa-β). Альфа-фактор XIIa состоит из N-концевой тяжелой цепи с молекулярной массой примерно 50 кДа, которая содержит контактный (субстрат-связывающий) домен, и C-концевой легкой цепи с молекулярной массой примерно 28 кДа, которая содержит каталитический центр. Тяжелая и легкая цепи соединены с помощью
20 дисульфидной связи. FXIIa-β представляет собой активную форму FXII с молекулярной массой примерно 30 кДа, состоящую из полной легкой цепи и фрагмента с молекулярной массой 2000 Да тяжелой цепи, которые сцеплены с помощью дисульфидной связи.

Наследственный ангиотек представляет собой редкое генетическое
25 нарушение, которое согласно классификации включает 3 типа заболевания (Rosen и др., Science 148, 3672, 1965, сс. 957-958; Bork и др., Lancet, 356, 9225, 2000, сс. 213-217), в том числе НАЕ типа 1, НАЕ типа 2 и НАЕ с нормальным уровнем ингибитора C1-эстеразы (nC1-INH). НАЕ типа 1 и типа 2 вызываются мутациями в гене SERPING1 и характеризуются количественным снижением
30 концентраций ингибитора C1-эстеразы (C1-INH) в плазме (тип 1) и присутствием в плазме в нормальных концентрациях C1-INH с нарушенной функцией (тип 2) (Zuraw и др., N Engl J Med, 363, 6, 2010, сс. 513-522; Cicardi и др., Allergy, 69, 5, 2014, сс. 602-616). НАЕ типа 1 и типа 2 вместе объединяют в

группу НАЕ с дефицитом C1-INH (C1-INH НАЕ). Ингибитор C1-эстеразы представляет собой ингибитор сериновой протеазы, который регулирует образование брадикинина (БК) контактной системой плазмы, и представляет собой основной ингибитор ряда протеаз контактной системы плазмы, включая FXII и калликреин (Davis и др., *Thromb Haemost*, 104, 5, 2010, сс. 886-893). Избыточное образование БК в результате патологической активации управляемой фактором XII (FXII) контактной системы плазмы встречается постоянно при острых эпизодах НАЕ (Björkqvist и др., *Thromb Haemost*, 110, 3, 2013, сс. 399-407) (см. фиг. 1).

НАЕ с нормальным уровнем C1-INH (nC1-INH) представляет собой наследственное нарушение, не ассоциированное с дефицитом C1-INH, но ассоциированное с миссенс-мутациями, делециями или инсерциями пар оснований гена FXII (Cicardi и др., *Allergy*, 69, 5, 2014, сс. 602-616), миссенс-мутацией гена плазминогена (Bork и др., *Allergy*, 73, 2, 2018, сс. 442-450), (Dewald, *Biochem Biophys Res Commun*, 498, 1, 2018, сс. 193-198), или вызываемое неизвестным генетическим дефектом (Cicardi и др., *Allergy*, 69, 5, 2014, сс. 602-616).

Клинически приступы НАЕ, возникающие у пациентов с НАЕ, характеризуются локальным отеком кожи (т.е. отеком конечностей, отеком лица и отеком половых органов), болью в животе и иногда угрожающими жизни приступами отека гортани (Bork, *Exp Rev Clin Immunol*, 4, 1, 2008, сс. 13-20). Предполагаемая встречаемость C1-INH НАЕ обычно оценивается как 1:50000, в то время как встречаемость nC1-INH НАЕ неизвестна (Cicardi и др., *N Engl J Med*, 363, 6, 2010, сс. 523-531; Nasr и др., *Exp Rev Clin Immunol*, 12, 1, 2016, сс. 19-31).

Современные варианты лечения НАЕ можно разделять на острое лечение приступов и профилактику. Острое и профилактическое лечение НАЕ базируется на блокаде производства БК посредством направленного воздействия на различные белки пути калликреина-кинина. Лечение, которое выбирают в случае острого приступа НАЕ, представляет собой быстрое внутривенное (IV) введение концентрата C1-INH (Bork, *Exp Rev Clin Immunol*, 4, 1, 2008, сс. 13-20; Gompels и др., *Clin Exp Immunol*, 139, 3, 2005, сс. 379-394; Longhurst, *Int J Clin Practice*, 59, 5, 2005, сс. 594-599). В последнее время к спектру лекарственных

средств, доступных для лечения острых приступов НАЕ, добавлены соединения, включающие ингибитор калликреина и антагонист БК-рецептора (Cicardi и др., N Engl J Med, 363, 6, 2010, сс. 532-541; Cicardi и др., N Engl J Med, 363, 6, 2010, сс. 523-531).

5 В настоящее время одобренными концентратами C1-INH для лечения острых приступов НАЕ внутривенно являются полученный из плазмы Berinert® и рекомбинантный Ruconest®. Альтернативно этому, в случае острого приступа НАЕ можно вводить подкожно ингибитор калликреина Kalbitor® (икатибант) или ингибитор антагониста рецептора брадикинина B2 Firazyg® (экаллантид),
10 Варианты профилактического лечения НАЕ ограничены полученным из плазмы Cinryze® (IV) HAEGARDA/Berinert 2000/3000 (SC). В самое последнее время в качестве альтернативного варианта для профилактики одобрен продукт, представляющий собой антитело к калликреину, Takhzygo® (ланаделумаб, SC).

Несмотря на доступные варианты лечения острых приступов НАЕ и
15 профилактическое лечение НАЕ все еще существуют неудовлетворенные медицинские потребности в частности в области профилактики. Ограничениями современной профилактической терапии являются профиль неблагоприятных побочных действий (ослабленные андрогены), отсутствие действия (антифибринолитики) или частота введения (IV или SC) C1-INH. Кроме того, в
20 случае получаемых из плазмы C1-INH-продуктов время от времени могут возникать проблемы с поставками, и по этой причине по-прежнему требуются альтернативные варианты лечения.

В WO 2013/014092 и WO 2017/015431 описаны различные антитела к FXII и их применение для лечения различных заболеваний, включая (но не
25 ограничиваясь только им) НАЕ. Отсутствуют экспериментальные данные *in vivo*, данные о безопасности для пациентов или какие-либо данные о клинических исследованиях в отношении НАЕ.

В WO 2017/173494 описаны также антитела к FXII, включая (но не ограничиваясь только ими) антитела, применяемые в контексте настоящего
30 изобретения. НАЕ не упоминается в WO 2017/173494.

И, наконец, остается неизвестным, будет ли МАт к фактору XII обладать эффективностью в отношении лечения или предупреждения НАЕ.

В целом, хотя новые методы лечения обеспечивают улучшенные профилактические клинические результаты, существует необходимость в дополнительных методах профилактического лечения НАЕ, прежде всего тех, мишенью которых являются новые фармакологические пути.

5 Краткое изложение сущности изобретения

Настоящее изобретение относится к антителу к FXII, которое содержит

10 (I) V_H, содержащую CDRH1, который содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 1; CDRH2, который содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 2; и CDRH3, который содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 3; и

15 (II) V_L, содержащую CDRL1, который содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 4; CDRL2, который содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 5; и CDRL3, который содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 6;

предназначенному для применения в способе лечения или предупреждения наследственного ангиоотека (НАЕ) у индивидуума, в котором антитело вводят индивидууму подкожно.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения антитело к FXII содержит V_H, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO: 7, и V_L, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO: 8.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения антитело к FXII представляет собой антитело в виде IgG, предпочтительно IgG4.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения антитело к FXII содержит последовательность тяжелой цепи, которая представлена в SEQ ID NO: 9, и последовательность легкой цепи, которая представлена в SEQ ID NO: 10.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения тяжелая цепь содержит дополнительный лизин, сцепленный с последней аминокислотой в SEQ ID NO: 9.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения антитело к FXII вводят в количестве, достаточном для поддержания концентрации антитела на уровне по меньшей мере 5 мкг/мл между двумя последовательными введениями антитела.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения антитело вводят в дозе от 70 мг до 700 мг один раз каждые 1-3 месяца, предпочтительно один раз каждые 1-2 месяца.

5 В предпочтительном варианте осуществления изобретения антитело вводят в дозе от 150 мг до 250 мг, предпочтительно от 170 мг до 220 мг, более предпочтительно 200 мг.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения антитело вводят в дозе от 50 мг до 150 мг, предпочтительно от 70 мг до 130 мг, более предпочтительно 100 мг.

10 В предпочтительном варианте осуществления изобретения антитело вводят каждые 1-2 месяца, предпочтительно один раз каждый месяц.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения индивидуум представляет собой больного человека, который имеет НАЕ, предполагается, что имеет НАЕ или имеет риск его возникновения.

15 В предпочтительном варианте осуществления изобретения способ включает введение ударной дозы антитела к FXII.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения введение ударной дозы представляет собой внутривенное введение антитела к FXII в дозе от 30 мг до 400 мг, предпочтительно от 100 до 300 мг, более предпочтительно
20 примерно 200 мг.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения введение ударной дозы представляет собой подкожное введение антитела к FXII в дозе от 70 мг до 700 мг, предпочтительно от 200 до 500 мг, наиболее предпочтительно примерно 400 мг.

25 В предпочтительном варианте осуществления изобретения антитело к FXII вводят индивидууму только подкожно.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения введение антитела к FXII снижает риск приступа НАЕ предпочтительно более чем на 85%, более предпочтительно более чем на 90% и еще более предпочтительно более
30 чем на 95% или более чем на 98%.

Подробное описание изобретения

Согласно изобретению «антитело к FXII» связывается и ингибирует активированную форму FXII, а именно, FXIIa-бета (бета-фактор XIIa), но связывается также с FXII и FXIIa (альфа-фактор XIIa).

5 Понятие «антитело» в его наиболее широком смысле представляет собой полипептид, содержащий переменную область иммуноглобулина, которая специфически распознает эпитоп на антигене. Понятие «антитело» включает также фрагмент антитела, который сохраняет способность связываться с FXIIa и FXII. Предпочтительными антигенсвязывающими фрагментами являются Fab-
10 фрагмент, Fab'-фрагмент, F(ab')₂-фрагмент, Fv-фрагмент, одноцепочечное антитело, одноцепочечный Fv-фрагмент, стабилизированный дисульфидом Fv-белок или димер одноцепочечного Fv-фрагмента. Антитела, которые подпадают под объем изобретения, представляют собой также химерное антитело, гуманизированное антитело, муринизированное антитело или биспецифическое
15 антитело. Методы получения указанных фрагментов и антител хорошо известны в данной области (см., например, Harlow & Lane: Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, 1988).

Антитела, как правило, состоят из двух идентичных тяжелых цепей и двух идентичных легких цепей, каждая из которых имеет переменную область на ее
20 N-конце (V_H- и V_L-область). Как правило, V_H- и V_L-область должны быть объединены с образованием антигенсвязывающего центра. Однако описаны также однодоменные антитела, в которых присутствует и связывается с антигеном только одна переменная область.

Как правило, антитело содержит две тяжелые цепи и две легкие цепи,
25 соединенные дисульфидными связями. Известно 5 основных изотипов антител (IgG, IgM, IgE, IgA, IgD), некоторые из которых встречаются в виде мультимеров основной структуры антитела. Изотип определяется константной областью тяжелых цепей. Известно два типа легких цепей, лямбда и каппа.

Понятие «антитело» в контексте настоящего описания включает интактные
30 антитела (известные также как полноразмерные антитела или антитела, которые содержат и переменные, и константные домены тяжелых и легких цепей), а также их варианты и участки, которые сохраняют способность связываться с антигеном. Они включают фрагменты антител, такие как Fab-фрагменты, F(ab')₂-

фрагменты, Fab'-фрагменты, одноцепочечные Fv-фрагменты или стабилизированные дисульфидом Fv-фрагменты. Таким образом, применение понятия «антитело или его антигенсвязывающий фрагмент» в настоящем описании является лишь мерой предосторожности, поскольку, под само понятие «антитело» уже подпадают антитело и его антигенсвязывающие фрагменты.

Понятия «полноразмерное антитело», «интактное антитело» или «цельное антитело» используют взаимозаменяемо для обозначения антитела, находящегося в его практически интактной форме, в отличие от антигенсвязывающего фрагмента антитела. В частности, цельные антитела включают антитела, тяжелые и легкие цепи которых включают Fc-область. Константные домены могут представлять собой константные домены, имеющие последовательность дикого типа (например, константные домены, имеющие человеческую последовательность дикого типа) или варианты их аминокислотной последовательности.

Каждая тяжелая и легкая цепь состоит из вариабельной области и константной области. Вариабельные области содержат каркасные остатки и гипервариабельные участки, которые называют также определяющими комплементарность участками или CDR.

В контексте настоящего описания «вариабельная область» относится к участкам легкой и/или тяжелой цепей антитела, указанного в настоящем описании, которая обладает способностью специфически связываться с антигеном, и она включает аминокислотные последовательности определяющих комплементарность участков (CDR); т.е. CDR1, CDR2 и CDR3, и каркасных участков (FR). Приведенные в качестве примеров вариабельные области содержат три или четыре FR (например, FR1, FR2, FR3 и необязательно FR4) в сочетании с тремя CDR.

В контексте настоящего описания понятие «определяющий комплементарность участок» (синоним CDR; т.е. CDR1, CDR2 и CDR3) относится к аминокислотным остаткам вариабельного домена антитела, присутствие которых необходимо для связывания антигена. Каждый вариабельный домен, как правило, содержит три CDR-участка, которые обозначают как CDR1, CDR2 и CDR3. Положение каркасных участков и CDR определяют согласно Кэботу; база данных Кэбота доступна онлайн (Kabat E.A.,

Wu T.T., Perry H.M., Gottesman K.S., Foeller C. Sequences of proteins of immunological interest, 5-ое изд., изд-во U.S. Department of Health and Human services, NIH, Bethesda, MD, 1991). CDR-участки являются важными для связывания с эпитопом и поэтому определяют специфичность антитела.

5 «Каркасные участки» (FR) представляют собой остатки варибельного домена, отличные от остатков CDR.

«Моноклональное антитело» представляет собой антитело, образованное одним клоном В-лимфоцитов или клеточной линией, сконструированной для экспрессии одного антитела.

10 «Химерное антитело» представляет собой антитело с варибельными областями из одного вида, трансплантированными в константные области из другого вида. «Гуманизированное» антитело представляет собой антитело, в которое CDR-участки из другого вида, например, мышинового моноклонального антитела, трансплантированы в каркасный участок человеческого антитела.

15 Аналогично этому, «муринизированное» антитело представляет собой антитело, в которое CDR-участки из другого вида, например, человеческого моноклонального антитела, трансплантированы в каркасный участок мышинового антитела. Человеческое антитело представляет собой антитело, полностью полученное из организма человека, т.е. содержащее человеческие CDR в
20 человеческом каркасном участке и любую константную область, пригодную для введения человеку.

Антитело «зародышевой линии» представляет собой антитело, в котором соматические мутации, которые интродуцировали изменения в каркасные остатки, заменены на исходную последовательность, присутствующую в геноме.

25 «Антигенсвязывающий фрагмент» относится к любому фрагменту антитела, который сохраняет способность специфически связываться с эпитопом антигена, с которым связывается антитело. Они включают (но не ограничиваясь только ими) Fab, F(ab')₂ или одноцепочечные Fv-фрагменты.

«Аффинность связывания» относится к аффинности антитела к его
30 антигену. Ее можно измерять различными методиками, например, согласно методике, основанной на применении поверхностного плазмонного резонанса (BiaCore®).

«Эпитоп» представляет собой антигенную детерминанту, он определяется остатками или конкретными химическими структурами, с которыми антитело вступает в контакт на антигене.

«Идентичность последовательности» относится к сходству аминокислотных последовательностей. Получают наилучшее возможное выравнивание двух последовательностей, и идентичность последовательности определяется процентным содержанием идентичных остатков. Для выравнивания последовательностей доступны стандартные методы, например, алгоритмы Needleman и Wunsch (J Mol Biol 48, 1970, с. 443), Smith и Waterman (Adv Appl Math 2, 1981, с. 482), Pearson и Lipman (Proc Natl Acad Sci USA 85, 1988, с. 2444) и др. Приемлемое программное обеспечение поступает в продажу, например, набор программного обеспечения GCG (Devereux и др., Nucl Acids Res 12, 1984, с. 387), с помощью которого выравнивание можно получать, используя, например, GAP или BESTFIT с их задаваемыми по умолчанию параметрами, или созданные на их основе программы. Алгоритм Blast, впервые описанный Altschul с соавторами (J. Mol. Biol. 215, 1990, с. 403), но в дальнейшем уточненный для включения выравниваний с использованием брешей (Blast 2), доступный из различных источников, таких как EBI, NCBI, также позволяет осуществлять выравнивание и вычисление % идентичности между двумя последовательностями.

«Специфическое связывание» относится к связыванию, практически только с одним антигеном.

«FXII/FXIIa» относится либо к одному, либо к обоим факторам, таким как фактор XII и активированный фактор XII (FXIIa). Таким образом, «ингибитор FXII/FXIIa» включает ингибиторы одного или обоих FXII и FXIIa. Кроме того, антитела к FXII/FXIIa включают антитела, которые связываются и ингибируют один или оба FXII и FXIIa.

«Лечить» или «лечение» означает уменьшение любого из симптомов, ассоциированных с НАЕ, прежде всего уменьшение серьезности и/или частоты приступов НАЕ.

«Предупреждать» или «предупреждение» означает предупреждение любого из симптомов, ассоциированных с НАЕ, включая ухудшение течения заболевания.

Как это более подробно будет описано в прилагаемых примерах, при создании настоящего изобретения неожиданно впервые было установлено, что антитела к FXII, применяемые в контексте настоящего изобретения, обладают очень высокой активностью в отношении снижения количества приступов у пациентов с наследственным ангиоотеком (НАЕ). Фактически, антитела, применяемые в контексте настоящего изобретения, обладают способностью практически полностью предупреждать указанные приступы НАЕ, даже при подкожном введении. Повторное введение антител к FXII, предлагаемых в настоящем изобретении, в течение определенного периода времени и, тем самым поддержание концентрации антител в крови, приводит к значительному снижению количества приступов НАЕ. Таким образом, антитела, применяемые в контексте настоящего изобретения, являются ценными средствами для предупреждения или лечения НАЕ.

Таким образом, одним из объектов настоящего изобретения является антитело к FXII, которое содержит

(I) V_H , содержащую CDRH1, который содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 1; CDRH2, который содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 2; и CDRH3, который содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 3; и

(II) V_L , содержащую CDRL1, который содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 4; CDRL2, который содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 5; и CDRL3, который содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 6;

предназначенное для применения в способе лечения или предупреждения НАЕ у индивидуума, в котором антитело вводят индивидууму подкожно.

Последовательности CDR представлены также на фиг. 10.

Предпочтительно связывание антитела, применяемого в контексте настоящего изобретения, с человеческим фактором XIIa-бета характеризуется величиной K_D , более низкой чем $10^{-7}M$, более предпочтительно более низкой чем $3 \times 10^{-8}M$, более предпочтительно более низкой чем $10^{-8}M$, еще более предпочтительно более низкой чем $3 \times 10^{-9}M$, наиболее предпочтительно $10^{-9}M$ или даже $5 \times 10^{-10}M$.

Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент может относиться к любому изотипу, включая IgG, IgM, IgE, IgD или IgA, и любому их подтипу.

Предпочтительно антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предлагаемый в изобретении, представляет собой человеческий IgG или его вариант, предпочтительно человеческий IgG4 или его вариант. Методы переключения типа антитела хорошо известны в данной области. Молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую V_H- или V_L-область, выделяют и функционально связывают с нуклеотидной последовательностью, кодирующей другую C_H или C_L соответственно, из константной области молекулы иммуноглобулина другого класса.

В настоящее описание включены указанные белки и/или антитела, содержащие константную область антитела. Они включают антигенсвязывающие фрагменты антитела, слитые с Fc.

Последовательности константных областей, которые можно применять для создания белков, представленных в настоящем описании, можно получать из целого ряда различных источников. В некоторых примерах константная область или ее участок имеют происхождение из человеческого антитела. Константная область или ее участок могут иметь происхождение из антитела любого класса, включая IgM, IgG, IgD, IgA и IgE, и любого изотипа антитела, включая IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

В одном из вариантов осуществления изобретения константная область представляет собой константную область человеческого изотипа IgG4 или стабилизированную константную область IgG4.

В одном из вариантов осуществления изобретения Fc-область константной области обладает пониженной способностью индуцировать эффекторную функцию, например, по сравнению с нативной Fc-областью или Fc-областью дикого типа человеческого IgG1 или IgG3. В одном из вариантов осуществления изобретения эффекторная функция представляет собой антитело-обусловленную клеточнозависимую цитотоксичность (ADCC) и/или антитело-обусловленный клеточнозависимый фагоцитоз (ADCP), и/или комплементзависимую цитотоксичность (CDC). Методы оценки уровня эффекторной функции содержащего Fc-область белка хорошо известны в данной области.

В одном из вариантов осуществления изобретения Fc-область представляет собой Fc-область IgG4 (т.е. из константной области IgG4), например, Fc-область человеческого IgG4. Последовательности приемлемых Fc-областей IgG4 должны быть очевидны специалисту в данной области и/или являются доступными в публичных базах данных (например, доступны в National Center for Biotechnology Information).

В одном из вариантов осуществления изобретения константная область представляет собой стабилизированную константную область IgG4. Под понятием «стабилизированная константная область IgG4» подразумевается константная область IgG4, которую модифицировали для уменьшения обмена Fab-плеча или тенденции к осуществлению Fab-обмена, или образования полуантитела или тенденции к образованию полуантитела. Понятие «обмен Fab-плеча» относится к типу белковой модификации человеческого IgG4, при котором тяжелая цепь IgG4 и присоединенная легкая цепь (полумолекула) заменяются на пару тяжелая-легкая цепь из другой молекулы IgG4. Таким образом, молекулы IgG4 могут приобретать два различных Fab-плеча, распознающих два различных антигена (что приводит к образованию биспецифических молекул). Обмен Fab-плеча происходит в естественных условиях *in vivo* и его можно индуцировать *in vitro* с использованием очищенных кровяных клеток или восстановителей, таких как восстановленный глутатион. «Полуантитело» образуется при диссоциации антитела IgG4-изотипа с образованием двух молекул, каждая из которых содержит одну тяжелую цепь и одну легкую цепь.

В одном из вариантов осуществления изобретения стабилизированная константная область IgG4 содержит пролин в положении 241 шарнирной области согласно системе Кэбота (Kabat и др., Sequences of Proteins of Immunological Interest Washington DC United States Department of Health and Human Services, 1987 и/или 1991). Это положение соответствует положению 228 шарнирной области согласно системе EU-нумерации (Kabat и др., Sequences of Proteins of Immunological Interest Washington DC United States Department of Health and Human Services, 2001 и Edelman и др., Proc. Natl. Acad. Sci USA, 63, 1969, сс. 78-85). В человеческом IgG4 указанный остаток, как правило, представляет собой серин. В результате замены серина на пролин шарнирная

область IgG4 содержит последовательность CPPC. В этой связи специалисту должно быть очевидно, что «шарнирная область» представляет собой богатую пролином часть константной области тяжелой цепи антитела, которая связывает Fc- и Fab-области, что придает подвижность двум Fab-плечам антитела.

- 5 Шарнирная область включает остатки цистеина, которые участвуют в образовании дисульфидных связей между тяжелыми цепями. Как правило, ее определяют как простирающуюся от Glu226 до Pro243 человеческого IgG1 в соответствии с системой нумерации Кэбота. Шарнирные области других изотипов IgG можно выравнивать с последовательностью IgG1 путем
- 10 размещения первого и последнего остатков цистеина, образующих дисульфидные (S-S) связи между тяжелыми цепями в тех же самых положениях (см., например, WO 2010/080538).

- Дополнительными вариантами стабилизированных антител IgG4-изотипа являются антитела, в которых аргинин в положении 409 в константной области
- 15 тяжелой цепи человеческого IgG4 (согласно системе EU-нумерации) заменен на лизин, треонин, метионин или лейцин (например, согласно описанному в WO 2006/033386). В дополнительном или альтернативном варианте Fc-область константной области может содержать остаток, выбранный из группы, которая состоит из: аланина, валина, глицина, изолейцина и лейцина в положении,
- 20 соответствующем 405 (согласно системе EU-нумерации). Необязательно шарнирная область содержит пролин в положении 241 (т.е. последовательность CPPC) (описанную выше).

- В другом варианте осуществления изобретения Fc-область представляет собой область, модифицированную таким образом, чтобы она обладала
- 25 пониженной эффекторной функцией, т.е. представляла собой «неиммуностимулирующую Fc-область». Например, Fc-область представляет собой Fc-область IgG1, содержащую замену в одном или нескольких положениях, выбранных из группы, которая состоит из положений 268, 309, 330 и 331. В другом варианте осуществления изобретения Fc-область представляет
- 30 собой Fc-область IgG1, содержащую одну или несколько следующих замен E233P, L234V, L235A и делецию G236 и/или одну или несколько из следующих замен A327G, A330S и P331S (Armour и др., Eur J Immunol. 29, 1999, сс. 2613-2624; Shields и др., J Biol Chem. 276(9), 2001, сс. 6591-604). Дополнительные

примеры неиммуностимулирующих Fc-областей описаны, например, у Dall'Acqua и др., J Immunol. 177, 2006, сс. 1129-1138; и/или у Hezareh, J Virol; 75, 2001, сс. 12161-12168).

В другом варианте осуществления изобретения Fc-область представляет собой химерную Fc-область, например, содержащую по меньшей мере один C_H2-домен из антитела IgG4-изотипа и по меньшей мере один C_H3-домен из антитела IgG1-изотипа, при этом Fc-область содержит замену в одном или нескольких аминокислотных положениях, выбранных из группы, которая состоит из положений 240, 262, 264, 266, 297, 299, 307, 309, 323, 399, 409 и 427 (EU-нумерация) (которые описаны, например, в WO 2010/085682). Примеры замен включают 240F, 262L, 264T, 266F, 297Q, 299A, 299K, 307P, 309K, 309M, 309P, 323F, 399S и 427F.

В настоящем описании подразумевается также присутствие дополнительных модификаций в антителе.

Например, антитело содержит одну или несколько аминокислотных замен, которые удлиняют время полужизни белка. Например, антитело содержит Fc-область, которая содержит одну или несколько аминокислотных замен, которые повышают аффинность Fc-области к неонатальному рецептору Fc-области (FcRn). Например, Fc-область обладает повышенной аффинностью к FcRn при более низком значении pH, например, примерно при pH 6,0, что облегчает связывание Fc/FcRn в эндосоме. В одном из примеров Fc-область обладает повышенной аффинностью к FcRn примерно при pH 6 по сравнению с аффинностью примерно при pH 7,4, что облегчает повторное высвобождение Fc (и, следовательно, молекул, содержащих Fc-область) в кровь после клеточного рециклинга. Указанные аминокислотные замены являются ценными для удлинения времени полужизни белка в результате снижения клиренса из крови.

Примеры аминокислотных замен включают T250Q и/или M428L или T252A, T254S и T266F или M252Y, S254T и T256E или H433K и N434F согласно системе EU-нумерации. Дополнительные или альтернативные аминокислотные замены описаны, например, в US 2007/0135620 или US 7083784.

Более предпочтительно антитело, предлагаемое в изобретении, представляет собой человеческий IgG1 или человеческий IgG4, сконструированный для повышенного связывания с человеческим неонатальным

Fc-рецептором при более низком значении pH, например, при pH 6, что приводит к удлинению времени полужизни антитела в человеческой сыворотке. Известны методы скрининга в отношении оптимальных вариантов Fc с целью оптимизации связывания FcRn (см., например, Zalevsky и др., Nature Biotech 28, 2010, сс. 157-159).

В предпочтительном варианте осуществления изобретения антитело, применяемое в контексте настоящего изобретения, представляет собой антитело зародышевой линии, описанное выше.

Другие предпочтительные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, предлагаемые в изобретении, содержат константные области иммуноглобулинов млекопитающих, например, константные области изотипов млекопитающих, таких как IgG, IgM, IgE, IgD или IgA, и любых их подтипов. Предпочтительно антитело представляет собой IgG млекопитающих, включая мышинный IgG, свиной IgG, коровий IgG, лошадиный IgG, кошачий IgG, собачий IgG и IgG приматов или их варианты. Указанные антитела могут представлять собой химерные антитела, в которых человеческие переменные области, предлагаемые в изобретении, объединены с константой областью иммуноглобулина выбранного вида. В альтернативном варианте антитело или его антигенсвязывающий фрагмент можно получать путем трансплантации человеческих CDR-участков, указанных в настоящем описании, в каркасные остатки иммуноглобулина выбранного вида.

Предпочтительно антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, предлагаемые в изобретении, находятся в зрелой форме, т.е. не имеют сигнального пептида; однако антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, включающие сигнальные пептиды, также подпадают под объем изобретения.

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения антитело к FXII содержит V_H , которая содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 7, и V_L , которая содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 8. Предпочтительно антитело к FXII представляет собой антитело зародышевой линии.

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения антитело к FXII содержит последовательность тяжелой цепи, представленную в SEQ ID NO: 9, и последовательность легкой цепи, представленную в SEQ ID NO: 10. Эти

последовательности представляют собой полноразмерные тяжелые и легкие цепи антитела CSL312, которое представляет собой антитело зародышевой линии, описанное выше. Предпочтительно согласно настоящему изобретению константная(ые) область(и) этих тяжелых и легких цепей включают

5 модификации, описанные выше.

Аминокислотная последовательность указанного особенно предпочтительного антитела представлена также на фиг. 10.

В данной области известно, что в зависимости от метода получения
10 концевой лизин тяжелой цепи часто отщепляется по меньшей мере от некоторых плечей антитела. Таким образом, под объем настоящего изобретения подпадают как последовательность тяжелой цепи антитела, которая не содержит концевой лизин, представленная в SEQ ID NO: 9, так и последовательность тяжелой цепи антитела, которая содержит дополнительный лизин, сцепленный с последней аминокислотой SEQ ID NO: 9, а также популяции антител, содержащие
15 нерасщепленные, частично расщепленные и полностью расщепленные виды.

Как должно быть очевидно, подразумевается, что любое обсуждение антитела, указанного в описании, включает любые варианты антитела, образовавшиеся в процессе получения и/или хранения. Например, в процессе получения или хранения антитело может быть дезамидировано (например, по
20 остатку аспарагина или глутамина) и/или иметь измененное гликозилирование, и/или иметь остаток глутамина, превращенный в пироглутамин, и/или иметь N-концевой или C-концевой остаток, удаленный или «обрезанный, усеченный», и/или иметь часть или всю сигнальную последовательность не полностью процессированную и, как следствие, сохраняющуюся на конце антитела. Должно
25 быть очевидно, что композиция, содержащая конкретную аминокислотную последовательность, может представлять собой гетерогенную смесь заданной или закодированной последовательности и/или варианты заданной или закодированной последовательности.

Антитело, применяемое в контексте настоящего изобретения, можно
30 получать с помощью любого метода, хорошо известного в данной области. Например, антитело можно получать путем интродукции нуклеиновой кислоты, кодирующей антитело, в приемлемую клетку, например, линию клеток млекопитающего, такую как CHO, HEK293, MDCK, COS, HeLa, или линию

клеток миеломы, такую как NS0. Другой приемлемой клеточной линией является клеточная линия насекомого, предназначенная для применения с бакуловирусом, например, SF9-клетки, SF21-клетки или HighFiveTM-клетки. Еще одной клеткой является клетка дрожжей, таких как сахаромицеты, например, *S. cerevisiae* или *Pichia pastoris*. Можно применять также бактериальные клетки-хозяева, такие как *E. coli*. Методы интродукции ДНК в соответствующих клеток-хозяев хорошо известны в данной области. Например, когда клетка-хозяин представляет собой линию клеток млекопитающего, то можно применять такие методики, как липофекция или электропорация.

Метод получения антитела может включать культивирование клеток-хозяев, например, клеточной линии или дрожжевой клетки, предлагаемой в изобретении, в соответствующих условиях, позволяющих осуществлять экспрессию антитела. Затем антитело можно очищать. Антитело может секретироваться клеткой-хозяином и затем его можно легко очищать из супернатанта культуры. Методики очистки антител хорошо известны в данной области, и включают такие методики, как осаждение сульфатом аммония, гель-фильтрация, аффинная хроматография, ионообменная хроматография и др.

При экспрессии в *E. coli* антитела или их антигенсвязывающие фрагменты можно получать в тельцах включения. Методы выделения телец включения и рефолдинга экспрессированного белка хорошо известны в данной области.

Таким образом, настоящее изобретение относится также к антителу к FXII, предназначенному для применения в способе лечения или предупреждения наследственного ангиоотека (НАЕ) у индивидуума, в котором антитело вводят подкожно индивидууму и в котором антитело к FXII получают путем интродукции нуклеиновой кислоты, кодирующей описанное выше антитело к FXII, в клетку, предпочтительно нуклеиновых кислот, указанных в SEQ ID NO: 11 и 12, антитело к FXII получают в клетке и затем очищают.

Нуклеиновые кислоты, указанные в SEQ ID NO: 11 и 12, кодируют полипептиды, имеющие SEQ ID NO: 9 и 10.

Согласно настоящему изобретению антитело вводят индивидууму подкожно. Методы получения препаративных форм антител для подкожного введения хорошо известны в данной области и включают приготовление фармацевтической композиции, содержащей антитело.

Например, для приготовления фармацевтической композиции для подкожного введения антитело можно смешивать с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями, разбавителями или эксципиентами. Например, можно применять стерильную воду или физиологический солевой раствор. Можно включать также другие субстанции, такие как рН-забуферивающие растворы, снижающие вязкость агенты или стабилизаторы.

В данной области известно широкое разнообразие фармацевтически приемлемых эксципиентов и носителей. Указанные фармацевтические носители и эксципиенты, а также пригодные фармацевтические препаративные формы подробно описаны в нескольких публикациях (см., например, «Pharmaceutical Formulation Development of Peptides and Proteins», Frokjaer и др., изд-во Taylor & Francis, 2000 или «Handbook of Pharmaceutical Excipients», 3-е изд., Kibbe и др., изд-во Pharmaceutical Press, 2000; A. Gennaro, «Remington: The Science and Practice of Pharmacy», 20-ое изд., изд-во Lippincott, Williams, & Wilkins; Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, под ред. Н. С. Ansel и др., 7-ое изд., изд-во Lippincott, Williams, & Wilkins, 1999; и Handbook of Pharmaceutical Excipients, под ред. А. Н. Kibbe и др., 3-е изд., изд-во Amer. Pharmaceutical Assoc, 2000). В частности, фармацевтическую композицию, включающую антитело, предлагаемое в изобретении, можно приготавливать в лиофилизированной или стабильной растворимой форме. Полипептид можно лиофилизировать с использованием различных процедур, известных в данной области. Лиофилизированные препаративные формы восстанавливают перед применением, добавляя один или несколько фармацевтически приемлемых разбавителей, таких как стерильная вода для инъекций или стерильный физиологический солевой раствор.

Предназначенные для подкожного введения фармацевтические композиции, содержащие антитело, можно вводить в дозах и с помощью методов, хорошо известных в данной области. Количество и график введения должны определяться лечащим врачом или ветеринаром для достижения желаемых целей и должны обеспечивать доставку безопасной и терапевтически эффективной дозы в кровь индивидуума, подлежащего лечению.

В одном варианте осуществления изобретения антитело к FXII вводят в количестве, обеспечивающим поддержание концентрации антитела в крови

между двумя последовательными введениями антитела, на уровне по меньшей мере примерно 3, 5, 7 или 10 мкг/мл, предпочтительно примерно 5 мкг/мл.

Как видно из примеров и прежде всего из фиг. 5, введение антитела к FXII в количестве 75 мг, 200 мг или 600 мг позволяет получать концентрации антитела в крови, составляющие по меньшей мере примерно 3 мкг/мл, в процессе одного цикла лечения, т.е. в течение периода времени между двумя введениями антитела. Даже при таких низких концентрациях антитела в крови, в частности, в стационарном состоянии, наблюдается значительное снижение количества приступов НАЕ. Кроме того, как продемонстрировано на фиг. 5, максимальная концентрация антитела к FXII в крови после введения в количестве 75 мг или 200 мг не должна превышать примерно 20 мкг/мл.

Таким образом, в одном из вариантов осуществления изобретения антитело к FXII вводят в количестве, обеспечивающем достижение максимальной концентрации антитела в крови примерно 20 мкг/мл.

В другом варианте осуществления изобретения антитело к FXII вводят в количестве, снижающем активность FXII, включая активность его активированных форм, до уровня, характерного для здоровых индивидуумов. Таким образом, антитело к FXII вводят в количестве, требуемом для нормализации активности FXII, включая активность его активированных форм.

Следующим объектом настоящего изобретения является также антитело к FXII, предназначенное для применения в способе лечения или предупреждения наследственного ангиоотека (НАЕ) у индивидуума, в котором антитело вводят индивидууму подкожно и в котором антитело к FXII вводят в количестве, требуемом для снижения активности FXII, включая активность его активированных форм, до уровня, характерного для здоровых индивидуумов.

Согласно настоящему изобретению умеренное ингибирование FXII-опосредованной активности калликреина в конце цикла дозирования в стационарном состоянии способствует получению эффективных результатов. Таким образом, в следующем варианте осуществления изобретения антитело к FXII вводят в количестве, достаточном для ингибирования меньшей чем примерно на 60%, примерно на 50%, примерно на 40% или примерно на 30% FXII-опосредованной активности калликреина между двумя последовательными введениями антитела.

Антитело к FXII можно вводить в дозе, составляющей примерно от 70 мг до 700 мг, примерно от 75 мг до 150 мг, примерно от 150 мг до 250 мг, примерно от 300 мг до 350 мг, примерно от 350 мг до 700 мг, примерно от 170 мг до 220 мг, предпочтительно в дозе, составляющей примерно 75 мг, примерно 100 мг, примерно 150 мг, примерно 170 мг, примерно 200 мг, примерно 300 мг, примерно 340 мг или примерно 600 мг, предпочтительно в дозе, составляющей примерно 100 мг или примерно 200 мг.

Антитело к FXII можно вводить один раз каждые 1-3 месяца, один раз каждые 1-2 месяца, один раз каждый месяц. Его можно вводить также один раз каждые две, три, четыре, пять, шесть, семь или восемь недель.

Согласно изобретению антитело к FXII можно вводить в дозе от 70 мг до 700 мг один раз каждые 1-3 месяца, от 70 мг до 700 мг один раз каждые 1-2 месяца, от 70 мг до 700 мг один раз каждые 2 месяца, от 70 мг до 700 мг один раз каждые шесть недель, от 70 мг до 700 мг один раз каждый месяц, от 75 мг до 150 мг один раз каждые 1-3 месяца, от 75 мг до 150 мг один раз каждые 1-2 месяца, от 75 мг до 150 мг один раз каждые 2 месяца, от 75 мг до 150 мг один раз каждые шесть недель, от 75 мг до 150 мг один раз каждый месяц, от 150 мг до 250 мг один раз каждые 1-2 месяца, от 150 мг до 250 мг один раз каждые 2 месяца, от 150 мг до 250 мг один раз каждые шесть недель, от 150 мг до 250 мг один раз каждый месяц, от 170 мг до 220 мг один раз каждые 1-2 месяца, от 170 мг до 220 мг один раз каждые 2 месяца, от 170 мг до 220 мг один раз каждые шесть недель, от 170 мг до 220 мг один раз каждый месяц, 75 мг один раз каждые 1-2 месяца, 75 мг один раз каждые 2 месяца, 75 мг один раз каждые шесть недель, 75 мг один раз каждый месяц, 100 мг один раз каждые 1-2 месяца, 100 мг один раз каждые 2 месяца, 100 мг один раз каждые шесть недель, 100 мг один раз каждый месяц, 200 мг один раз каждые 1-2 месяца, 200 мг один раз каждые 2 месяца, 200 мг один раз каждые шесть недель, 200 мг один раз каждый месяц.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения антитело вводят в дозе, составляющей примерно от 150 мг до 250 мг, предпочтительно примерно от 170 мг до 220 мг, более предпочтительно примерно 200 мг, один раз каждые 1-3 месяца, предпочтительно один раз каждые 1-2 месяца, предпочтительно один раз каждый месяц.

В альтернативном предпочтительном варианте осуществления изобретения антитело вводят в дозе, составляющей примерно от 50 мг до 150 мг, предпочтительно примерно от 70 мг до 130 мг, более предпочтительно примерно 100 мг, один раз каждые 1-3 месяца, предпочтительно один раз каждые 1-2
5 месяцев, предпочтительно один раз каждый месяц.

В другом альтернативном предпочтительном варианте осуществления изобретения антитело вводят в дозе, составляющей примерно от 300 мг до 350 мг, предпочтительно примерно 300 мг или 340 мг, один раз каждые 1-3 месяца, предпочтительно один раз каждые 2 месяца.

10 Согласно предпочтительному варианту осуществления изобретения индивидуум представляет собой человека, предпочтительно больного человека который имеет НАЕ, предполагается, что имеет НАЕ, или имеет риск его возникновения.

Согласно изобретению антитело к FXII вводят индивидууму подкожно в
15 процессе осуществления способа лечения или предупреждения НАЕ. Предпочтительно это предусматривает, что антитело к FXII вводят индивидууму только подкожно. Альтернативно этому, предусматривается, что способ включает также другой путь введения, такой как внутривенное, внутриаартериальное, внутрикожное, внутрибрюшинное, оральное,
20 трансмукозальное, эпидуральное или подоболочечное введение, предпочтительно внутривенное введение.

В одном из вариантов осуществления изобретения способ включает введение ударной дозы антитела к FXII. Указанная ударная доза может представлять собой такую же дозу, что и доза, применяемая для следующего
25 введения, или может представлять собой более высокую или более низкую дозу. Кроме того, указанную ударную дозу можно вводить подкожно или ее можно вводить с помощью указанного выше пути введения, предпочтительно внутривенно. Ударную дозу можно вводить одновременно с началом следующего введения или незадолго до него (т.е. в пределах примерно недели).

30 В случае подкожного введения ударной дозы указанная ударная доза предпочтительно должна быть такой же и применяться в то же время, что и последующая первая доза. Это приводит к тому, что первая дозировка удваивается по сравнению с последующими дозировками. В случае

внутривенного введения ударной дозы начальная доза, как правило, должны быть ниже, чем последующие дозы, например, составлять примерно 25%, 50% или 75% от последующих доз. Предпочтительно ударную дозу вводят незадолго до последующих доз.

5 В предпочтительном варианте осуществления изобретения введение ударной дозы представляет собой внутривенное введение антитела к FXII в дозе, составляющей примерно от 30 мг до 400 мг, предпочтительно от 100 до 300 мг, более предпочтительно 200 мг. Например, в случае последующего подкожного введения примерно 75 мг, ударная доза может оставлять примерно от 30 мг до 60
10 мг, в случае последующего подкожного введения примерно 100 мг, ударная доза может оставлять примерно от 40 мг до 70 мг, в случае последующего подкожного введения примерно 200 мг, ударная доза может оставлять примерно от 80 мг до 130 мг, и в случае последующего подкожного введения примерно 600 мг, ударная доза может оставлять примерно от 240 мг до 700 мг.

15 В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения введение ударной дозы представляет собой подкожное введение антитела к FXII в дозе, составляющей примерно от 70 мг до 700 мг, предпочтительно от 200 до 500 мг, более предпочтительно 400 мг. Например, в случае последующего подкожного введения примерно 75 мг, вводимая одновременно ударная доза может оставлять
20 примерно 75 мг (т.е. при первом введении подкожно вводят общую дозу, составляющую 150 мг), в случае последующего подкожного введения примерно 100 мг, вводимая одновременно ударная доза может оставлять примерно 100 мг, в случае последующего подкожного введения примерно 200 мг, вводимая одновременно ударная доза может оставлять примерно 200 мг, и в случае
25 последующего подкожного введения примерно 600 мг, вводимая одновременно ударная доза может оставлять примерно 600 мг.

При создании настоящего изобретения и как описано в примерах, удалось продемонстрировать, что путем введения антитела, применяемого в контексте настоящего изобретения, можно существенно снижать количество приступов
30 НАЕ.

Таким образом, в предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения введение антитела к FXII снижает риск приступа НАЕ предпочтительно более чем на 85%, предпочтительно более чем на 90% и еще

более предпочтительно более чем на 95% или более чем на 98%.

Предпочтительно указанное снижение рассматривается относительно необработанных индивидуумов.

Следующим объектом настоящего изобретения является также способ
5 лечения или предупреждения наследственного ангиоотека (НАЕ) у индивидуума, где указанный способ включает подкожное введение указанного индивидууму антитела к FXII, содержащего (I) V_H , которая содержит CDRH1, содержащий последовательность, представленную в SEQ ID NO: 1; CDRH2, содержащий последовательность, представленную в SEQ ID NO: 2; и CDRH3, содержащий
10 последовательность, представленную в SEQ ID NO: 3; и (II) V_L , которая содержит CDRL1, содержащий последовательность, представленную в SEQ ID NO: 4; CDRL2, содержащий последовательность, представленную в SEQ ID NO: 5; и CDRL3, содержащий последовательность, представленную в SEQ ID NO: 6. Антитело к FXII предпочтительно вводят индивидууму в терапевтически
15 активном количестве.

Все варианты осуществления изобретения, описанные выше касательно других объектов изобретения, относятся также к данному объекту изобретения.

Изобретение дополнительно описано с помощью прилагаемых чертежей и примеров, которые предназначены для иллюстрации, но не для ограничения
20 объема настоящего изобретения.

Краткое описание чертежей

На чертежах показано:

на фиг. 1 – схематическое изображение контактной системы, содержащей FXII, калликреин и брадикинин, и объяснение механизма действия антитела к
25 FXII;

на фиг. 2 – описание доз и схемы эскалации доз в исследовании фазы 1, описанном в примере 1;

на фиг. 3 – данные о концентрации в крови CSL312 после внутривенного (IV) или подкожного (SC) введения антитела к FXII CSL312 здоровым
30 индивидуумам;

на фиг. 4 –схематическое изображение плана исследования фазы 2, описанного в примере 2;

на фиг. 5 – усредненные (SD) ФК-профили, полученные при оценке концентрации в плазме антитела CSL312 (нг/мл) во время периода лечения 1 после введения антитела в концентрации 75 мг (точка), 200 мг (треугольник) или 600 мг (квадрат) соответственно в период между днем 63 и днем 91 в качестве примера стационарного состояния (ФК-популяция). Примечание: ФК обозначает фармакокинетику. ФК-популяция состоит из всех индивидуумов, для которых получена по меньшей мере одна поддающаяся измерению концентрация CSL312. На оси x отложено время в днях, прошедшее с момента первого введения CSL312 в день 1;

на фиг. 6 - усредненные (SD) ФД-профили, полученные при оценке FXII-опосредованной активности калликреина во время периода лечения 1 после введения антитела в концентрации 0 (плацебо, окружность), 75 мг (точка), 200 мг (треугольник) или 600 мг (квадрат) соответственно между днем 63 и днем 91 в качестве примера стационарного состояния (% от исходного уровня) (ФД-популяция). Примечание: ФК обозначает фармакодинамику. ФД-популяция состоит из всех индивидуумов, для которых получены данные по меньшей мере одного измерения ФД. На оси x отложено время с момента первого введения CSL312 в момент времени 0, который соответствует дню визита 1;

на фиг. 7 – независящее от времени соотношение между FXII-опосредованной активностью калликреина и концентрацией CSL312 в крови;

на фиг. 8 – данные о средней частоте приступов после введения антитела CSL312 в концентрации 0 мг (плацебо), 75 мг, 200 мг или 600 мг соответственно;

на фиг. 9 - режимы дозирования в планируемом исследовании фазы 3 и соответствующая прогнозируемая частота приступов;

на фиг. 10 – аминокислотные последовательности тяжелой и легкой цепей CSL312. Соответствующие CDR-последовательности подчеркнуты. С-концевой лизин тяжелой цепи обозначен звездочкой, указывающей на то, что он закодирован, но может быть частично или полностью удален после трансляции;

на фиг. 11 - схематическое изображение плана исследования фазы 3, описанного в примере 3.

Описание перечня последовательностей

SEQ ID NO: 1 обозначает аминокислотную последовательность CDR1 переменного домена антитела к FXII CSL312.

SEQ ID NO: 2 обозначает аминокислотную последовательность CDR2
вариабельного домена антитела к FXII CSL312.

SEQ ID NO: 3 обозначает аминокислотную последовательность CDR3
вариабельного домена антитела к FXII CSL312.

5 SEQ ID NO: 4 обозначает аминокислотную последовательность CDR1
вариабельного домена антитела к FXII CSL312.

SEQ ID NO: 5 обозначает аминокислотную последовательность CDR2
вариабельного домена антитела к FXII CSL312.

10 SEQ ID NO: 6 обозначает аминокислотную последовательность CDR3
вариабельного домена антитела к FXII CSL312.

SEQ ID NO: 7 обозначает аминокислотную последовательность
вариабельного домена тяжелой цепи антитела к FXII CSL312.

SEQ ID NO: 8 обозначает аминокислотную последовательность
вариабельного домена легкой цепи антитела к FXII CSL312.

15 SEQ ID NO: 9 обозначает аминокислотную последовательность
вариабельного домена тяжелой цепи антитела к FXII CSL312.

SEQ ID NO: 10 обозначает аминокислотную последовательность
вариабельного домена легкой цепи антитела к FXII CSL312.

20 SEQ ID NO: 11 обозначает нуклеотидную последовательность,
кодирующую тяжелую цепь антитела к FXII CSL312.

SEQ ID NO: 12 обозначает нуклеотидную последовательность,
кодирующую тяжелую цепь антитела к FXII CSL312.

Примеры

Пример 1

25 Одноцентровое рандомизированное двойное слепое плацебо-
контролируемое исследование с однократной возрастающей дозой фазы 1
проводили на здоровых людях для изучения безопасности, переносимости и
эффективности возрастающих доз CSL312 после однократной IV-инфузии или
SC-инъекции. Тяжелая и легкая цепи CSL312 представлены на фиг. 10.

План исследования

30 CSL312 представляет собой полностью человеческое IgG4/лямбда
рекомбинантное моноклональное антитело, которое специфически связывается с
каталитическим доменом активированного FXII (FXIIa и β FXIIa) и эффективно

ингибирует его каталитическую активность. CSL312 ингибирует производство брадикинина (БК) *in vitro* и ослабляет образование отека *in vivo* на моделях опосредованного БК отека. CSL312 ослабляет экспрессию медиаторов воспаления.

- 5 В целом, 48 испытуемых произвольно включали в одну из 8 когорт (5 IV-когорт и 3 SC-когорты) (фиг. 2). Каждая из когорт состояла из 6 испытуемых (4 обработанных действующим веществом и 2 обработанных плацебо). Испытуемым в каждой из 5 IV-когорт вводили однократно внутривенно CSL312 в дозах 0,1, 0,3, 1, 3 или 10 мг/кг или плацебо (буфер для изучаемого состава).
- 10 Испытуемым в каждой из 3 SC-когорт вводили однократно путем подкожных инъекций CSL312 SC в дозах 1, 3 или 10 мг/кг или плацебо (буфер для изучаемого состава). (см. фиг. 2: Схема дозирования и эскалации доз).

Сентинельное дозирование (предварительное дозирование для оценки опасности) применяли для каждой IV-когорты и первой SC-когорты.

- 15 Произвольно отбирали первых двух включенных в опыт испытуемых (испытуемые-индикаторы опасности) и вводили им либо CSL312 (1 испытуемый), либо плацебо (1 испытуемый), и осуществляли мониторинг в течение 48 ч. Затем главный исследователь и медицинский наблюдатель оценили данные о безопасности за 48-часовой период мониторинга. После того, как не
- 20 было выявлено никаких проблем с безопасностью, произвольно отбирали еще 4 испытуемых, и они получили либо CSL312, либо плацебо (соотношение 3:1); дозирование указанных 4 испытуемых начинали минимум через 48 ч после дозирования второго испытуемого-индикатора опасности.

Анализ безопасности и результаты:

- 25 Обобщение всех сведений о нежелательных явлениях (АЕ) показало, что они ограничены только АЕ, связанными с лечением (ТЕАЕ). Испытуемых, которые имели одно и то же ТЕАЕ (в контексте предпочтительного понятия) более одного раза, учитывали только один раз для этого явления для общего количества испытуемых, но все случаи одного и того же явления учитывали при
- 30 подсчете количества явлений.

Данные о гематологии, биохимии и коагуляции суммировали при каждом запланированном посещении, оценивая фактические значения и изменения по сравнению с исходным уровнем. Частоту встречаемости антител к

лекарственному препарату (ADA) в данный момент времени обобщали для всех испытуемых, которые получали CSL312. Осуществляли краткие описания наблюдаемых значений и изменений по сравнению с исходным уровнем для параметров электрокардиограммы в 12 отведениях и оценки жизненно важных показателей.

В целом, 43/48 испытуемых (89,6%) имели по меньшей мере одно TEAE. Среди обработанных CSL312 испытуемых TEAE встречались чаще (30/32 испытуемых [93,8%], всего 106 случаев) по сравнению с обработанными плацебо испытуемыми (13/16 испытуемых [81,3%], всего 50 случаев). Большинство из TEAE, обнаруженных после обработки CSL312 или плацебо, имели степень серьезности, соответствующую степени 1 (100/106 случаев [94,3%] при обработке CSL312 и 45/50 случаев [90,0%] при обработке). Менее трети всех TEAE были оценены как связанные с CSL312 или плацебо (31/106 случаев [29,2%] с CSL312 и 14/50 случаев [28,0%] с плацебо). За исключением 3 TEAE, которые сохранялись у 3 пациентов, получающих плацебо, все TEAE в последствии восстанавливались или устранялись.

Никаких зависящих от дозы тенденций не обнаружено касательно частоты и серьезности TEAE. Отсутствовали сообщения о случаях смерти, серьезных АЕ или АЕ, приводящих к прекращению участия в исследовании.

Установлено, что реакции в месте инфузии/инъекции чаще встречались у испытуемых, которые получали CSL312 (18/32 испытуемых [56,3 %], 21 случай), по сравнению с испытуемыми, которые получали плацебо (5/16 испытуемых [31,3%], 9 случаев), прежде всего, это касается случаев, обнаруженных в SC-когортах. В целом, в IV-когортах доля испытуемых, имеющих реакции в месте инфузии, была одинаковой при обработке CSL312 и плацебо (30,0% для обеих вариантов обработки). В SC-когортах у всех испытуемых, получающих SC CSL312, обнаружен по меньшей мере 1 случай реакции в месте инъекции по сравнению с 33,3% испытуемых, получающих SC плацебо. Все реакции в месте инфузии/инъекции имели степень 1 и в последствии восстанавливались или устранялись.

Не обнаружены случаи тромбозмболии, кровотечения или анафилаксии.

Отсутствовали какие-либо клинически значимые тенденции с позиции гематологии, биохимии, анализа мочи, коагуляции или результатов оценки

активности комплемента. Хотя у отдельных испытуемых обнаружены аномальные лабораторные показатели, никаких проблем с безопасностью выявлено не было.

5 Ни один из протестированных испытуемых не давал положительную реакцию на антитела к CSL312 на исходном уровне и в любой момент времени в течение опыта.

Не обнаружены какие-либо клинически значимые тенденции при оценке электрокардиограммы или жизненно важных показателей.

Фармакокинетический анализ и результаты:

10 ФК-параметры и концентрации CSL312 в плазме обобщены для описания активности лечения. Все ФК-параметры рассчитывали с использованием фактического времени отбора образцов. Сводная статистика для данных о зависимости концентрации от времени включала количество испытуемых в анализируемой популяции, количество фактических наблюдений и процент значений ниже предела количественной оценки (BLQ) по отношению к общему количеству наблюдений.

Пропорциональную зависимость от дозы оценивали отдельно для IV-доз и SC-доз для таких ФК-параметров, как C_{max} , AUC_{0-inf} и AUC_{0-t} . Пропорциональную зависимость от исследуемой дозы анализировали с помощью модели мощности. Линейная пропорциональная зависимость между ФК-параметрами и дозой могла считаться установленной, если 90%-ный доверительный интервал (CI) находился в пределах заданного критического интервала от 0,85 до 1,15 для IV-инфузий или от 0,7 до 1,3 для SC-инъекций.

25 ФК-параметры AUC_{0-inf} и AUC от времени 0 до последнего поддающегося количественной оценке момента времени после введения дозы (AUC_{0-last}) для испытуемых, получающих IV-инфузию CSL312, сравнивали с AUC_{0-inf} и AUC_{0-last} для испытуемых, получающих SC-инъекцию CSL312. Сравнения проводили для одинаковых доз, применяемых для IV- и SC-введений (т.е., 1 мг/кг IV и 1 мг/кг SC и т.д.), а также между объединенными IV-дозами и объединенными SC-дозами с использованием модели дисперсионного анализа.

30 После однократных IV-инфузий концентрации CSL312 в плазме, как правило, достигали максимума в конце инфузии (через 1 ч), за исключением дозы 0,1 мг/кг, при которой концентрация достигала максимума примерно через

4 ч. Средняя величина периода полувыведения ($t_{1/2}$) составляла примерно от 14 до 20 дней для всех IV-доз (см. фиг. 3А).

После однократных SC-инъекций CSL312 в дозах 1, 3 или 10 мг/кг концентрации в плазме достигали максимума примерно через 7 дней (168 ч), 5
5 дней (120 ч) и 7 дней (168 ч) соответственно. Средняя величина $t_{1/2}$ составляла примерно от 18 до 20 дней для всех SC-доз (см. фиг. 3Б).

При применении однократных доз CSL312 обнаружено зависящее от дозы увеличение $C_{\max}$ и AUC CSL312 при введении как путем IV-инфузии в дозах 0,1, 0,3, 1, 3 и 10 мг/кг, так и SC-инъекции в дозах 1, 3 и 10 мг/кг.

10 Общее сравнение объединенных SC-доз и объединенных IV-доз позволило установить, что биодоступность нормализованного по дозе $AUC_{0-\infty}$ составляло 49,7%.

Таким образом, можно сделать заключение о том, что антитело CSL312 было безопасным и хорошо переносилось при введении в виде однократной IV-
15 инфузии или однократной SC-инъекции в дозах вплоть до 10 мг/кг здоровым мужчинам. Для CSL312 установлена линейная ФК при введении в виде однократной IV-инфузии или SC-инъекции с уровнем абсолютной биодоступности, составляющим ~50% и величиной $t_{1/2}$ ~18 дней после SC-инъекции.

20 Пример 2

Многоцентровое рандомизированное плацебо-контролируемое параллельное исследование фазы 2 проводили для изучения клинической эффективности, фармакокинетики, фармакодинамики и безопасности CSL312 в качестве профилактики приступов наследственного ангиоотека (НАЕ) у
25 испытуемых с C1-INH НАЕ.

План исследования

Многократные подкожные дозы CSL312 вводили пациентам с НАЕ, применяя следующие дозы: 75 мг, 200 мг или 600 мг. Исследование включало период скрининга (≤ 4 недель), период «обкатки» (контрольный период) (≤ 8
30 недель), период лечения 1 (~13 недель), период лечения 2 (~44 недели) и период последующего наблюдения (~14 недель). Обзор основного плана исследования, включая контрольный период и рандомизированный период лечения 1, представлен на фиг. 4.

После скрининга соответствующих требованиям испытуемых включали в начальный контрольный период продолжительностью по меньшей мере 4 недели и вплоть до 8 недель, для подтверждения статуса их основного заболевания и оценки возможности их участия в периоде лечения 1. Испытуемые с C1-INH НАЕ прекращали участие в контрольном периоде и начали участие в периоде лечения 1, когда они соответствовали заранее установленным критериям, включая наличие ≥ 2 приступов НАЕ в течение состоящего из последовательных 4-недель периода во время контрольного периода.

В целом, 32 испытуемых с C1-INH НАЕ, отобранные для участия в слепом периоде лечения 1, произвольно распределяли для лечения с помощью одного из следующих режимов лечения слепым методом:

- одна ударная доза 40 мг CSL312 внутривенно (IV), затем через ~1 неделю 75 мг CSL312 подкожно [SC] каждые 4 недели [q4wk] в течение 12 недель (9 пациентов);

- одна ударная доза 100 мг CSL312 IV, затем через ~1 неделю 200 мг CSL312 SC q4wk в течение 12 недель (8 пациентов);

- одна ударная доза 300 мг CSL312 IV, затем через ~1 неделю 600 мг CSL312 SC q4wk в течение 12 недель (7 пациентов);

- одна ударная доза плацебо IV, затем через ~1 неделю плацебо SC q4wk в течение 12 недель (8 пациентов).

Все 32 пациента завершили участие в периоде лечения 1 и начали принимать участие в периоде лечения 2. Исследователи оценивали и документировали случаи приступов НАЕ на основе данных, сообщаемых испытуемыми в электронном дневнике (eDiary). Оценивали также безопасность, ФК/ФД-параметры и применяли в случае необходимости средства для лечения НАЕ.

Испытуемых, завершивших 13-недельный период лечения 1, отбирали для участия в периоде лечения 2. Испытуемые, которые продолжали участие в открытом периоде лечения 2, получали CSL312 (200 мг или 600 мг) q4wk SC, согласно назначению. Исследователи продолжали оценивать и документировать случаи приступов НАЕ на основе данных, сообщаемых испытуемыми в eDiary. Продолжали оценивать также безопасность и ФК-параметры. Период лечения 2 проводили в открытом режиме для всех испытуемых.

Все испытуемые, включая тех, которые прекратили участие в опыте, осуществляли в течение периода последующего наблюдения визит ~ через 14 недель после последнего визита каждого испытуемого в период лечения.

Выбор доз

5 Выбор доз для фазы 2 основывался на данных о безопасности, ФК и ФД, полученных при осуществлении исследования фазы 1 с однократной возрастающей дозой, которую вводили здоровым добровольцам (пример 1). Ключевая конечная точка ФД, применяемая для выбора доз, представляла собой FXIIa-опосредованную активность калликреина. Ингибирующую способность

10 CSL312 изучали с использованием биомаркера калликреин-кининовой системы. Активность калликреина дает информацию об участии CSL312 в патофизиологии НАЕ. Образцы плазмы активировали *ex vivo*, имитируя приступ НАЕ и возникающую в результате FXII-опосредованную амплификацию калликреин-кининового пути. FXIIa расщепляет прекалликреин с образованием

15 калликреина, активность которого можно измерять с помощью хромогенных пептидных субстратов. Сделано предположение о том, что ингибирование FXIIa-опосредованной активности калликреина, до соответствующего конкретного % целевого ингибирования, может обеспечивать защиту от приступов НАЕ. Точный % целевого FXIIa-опосредованного ингибирования калликреина для

20 предупреждения приступов НАЕ неизвестен. Создавали ФК/ФД-модель для количественной оценки взаимосвязи между концентрациями CSL312 в плазме и FXIIa-опосредованной активностью калликреина при осуществлении исследования фазы 1 с однократной возрастающей дозой, которую вводили здоровым добровольцам. Смоделированная взаимосвязь свидетельствовала о

25 повышении ингибирования FXIIa-опосредованной активности калликреина при повышении концентрации CSL312. Основываясь на взаимосвязи между концентрацией CSL312 в плазме и FXIIa-опосредованной активностью калликреина, выбраны уровни % целевого ингибирования, включающие ≥ 30 , ≥ 50 и $\geq 90\%$, для получения информации по всему спектру кривой, позволяющей

30 осуществлять надежную оценку доз в этом исследовании. Моделирование с использованием окончательной ФК/ФД- модели позволило установить, что фиксированные дозы 75 мг, 200 мг и 600 мг, вводимые каждые 4 недели, должны приводить к тому, что по меньшей мере у 75% пациентов будет достигнут %

целевого ингибирования FХIIa-опосредованной активности калликреина, составляющий ≥ 30 , ≥ 50 и $\geq 90\%$ соответственно.

Исследуемая популяция

Для включения в контрольный период (период «обкатки») испытуемые должны соответствовать всем следующим критериями включения:

1. Предоставленное письменное информированное согласие.
2. Мужчина или женщина.
3. Возраст от ≥ 18 до ≤ 65 лет в момент предоставления письменного информированного согласия.

4. Клинический диагноз C1-INH НАЕ, основанный на следующих критериях:

- Для C1-INH НАЕ (типа 1):

- Документированный клинический анамнез, соответствующий НАЕ (эпизоды подкожного или слизистого отека, не вызывающие зуда, без сопутствующей крапивницы).

- Концентрация антигена C1-INH или его функциональная активность $< 50\%$ от нижнего предела референтного диапазона, что указано в медицинской карте испытуемого.

- Концентрация антигена C4 ниже нижнего предела референтного диапазона, что указано в медицинской карте испытуемого.

- Для C1-INH НАЕ (типа 2):

- Документированный клинический анамнез, соответствующий НАЕ (эпизоды подкожного или слизистого отека, не вызывающие зуда, без сопутствующей крапивницы).

- Функциональная активность C1-INH $< 50\%$ от нижнего предела референтного диапазона, что указано в медицинской карте испытуемого.

- Концентрация антигена C4 ниже нижнего предела референтного диапазона, что указано в медицинской карте испытуемого.

5. Для испытуемых с C1-INH НАЕ: ≥ 4 приступов НАЕ в течение состоящего из последовательных 2-месячев периода в течение 3 месяцев до скрининга, что указано в медицинской карте испытуемого.

Примечание: для испытуемых, подвергающихся какой-либо профилактической терапии НАЕ в течение 3 месяцев до скрининга, ≥ 4

приступов НАЕ могло быть задокументировано в течение любого состоящего из последовательных 2-месячев периода в течение 3 месяцев до начала профилактической терапии.

5 6. Готовность прекратить использование препаратов C1-INH, андрогенов или антифибринолитических средств для плановой профилактики приступов НАЕ в первый день контрольного периода, после оценки исследователем их способности адекватно осуществлять в случае необходимости лечение приступов НАЕ без посторонней помощи.

10 7. Уверенность исследователя в том, что испытуемый понимает характер, объем и возможные последствия исследования.

Испытуемые не могли быть включены в контрольных период, если они соответствовали любому из следующих критериев исключения:

15 1. Наличие в анамнезе клинически значимого артериального или венозного тромбоза или текущего клинически значимого протромботического риска (включая наличие устройства центрального венозного доступа).

2. Наличие в анамнезе неконтролируемого, аномального кровотечения из-за коагулопатии или текущей клинически значимой коагулопатии или клинически значимого риска возникновения кровотечений.

20 3. Любые заранее запланированные операции во время исследования, с которыми связан клинически значимый риск тромботических осложнений или кровотечений.

4. Известные неизлечимые злокачественные новообразования на момент скрининга.

25 5. Для испытуемых с клиническим диагнозом C1-INH НАЕ, клинически значимый анамнез плохого ответа на C1-INH-терапию для лечения НАЕ.

6. Женщины с C1-INH НАЕ, которые начали принимать или изменили дозу любого режима гормональной контрацепции или гормонзаместительной терапии (т.е. продуктов, содержащих эстроген/прогестерон) в течение 3 месяцев до скрининга.

30 7. Участие в другом интервенционном клиническом исследовании в течение 30 дней до скрининга или в течение 5 периодов полувыведения конечной дозы исследуемого препарата, введенной во время предыдущего

интервенционного исследования, в зависимости от того, что является более длительным.

8. Любое предыдущее лечение с использованием моноклонального антитела, рекомбинантного белка, несущего Fc-домен, технологии на основе механизма молчания (сайленсинга) рибонуклеиновой кислоты (РНК) или переноса генов.

9. Получение на момент скрининга любой другой терапии, не разрешенной во время исследования.

10. Мужчины или женщины с детородным потенциалом, либо не использующие или не желающие использовать высокоэффективный метод контрацепции, либо не воздерживающиеся от половой жизни в любое время в течение периода лечения 1 или периода лечения 2 и в течение периода последующего наблюдения, либо не стерилизованные хирургически.

11. Намерение забеременеть или стать отцом ребенка в любое время во время исследования.

12. Беременная или кормящая мать.

13. Известная или предполагаемая повышенная чувствительность к исследуемому продукту или к любому из эксципиентов исследуемого продукта.

14. Сотрудник центра, в котором проводится исследование, или супруг/супруга/партнер или родственник исследователя или любого заместителя исследователя.

15. Любая другая проблема, которая по мнению исследователя делает испытуемого непригодным для участия в исследовании.

Испытуемые допускались к участию в контрольном периоде и могли начинать участие в периоде лечения 1, если они удовлетворяли следующим критериям:

1. Испытуемый участвовал в контрольном периоде в течение по меньшей мере 4 недель (28 дней).

2. Для испытуемых с C1-INH HAE подтвержден диагноз с помощью тестирования в центральной лаборатории:

- Для испытуемых с C1-INH HAE (типа 1):
 - Концентрация антигена C1-INH или его функциональная активность < 50% от нижнего предела референтного диапазона.

- Концентрация антигена C4 ниже нижнего предела референтного диапазона.

- Для C1-INH HAE (типа 2):

- Функциональная активность C1-INH < 50% от нижнего предела референтного диапазона.

- Концентрация антигена C4 ниже нижнего предела референтного диапазона.

3. Для испытуемых с C1-INH HAE: наличие ≥ 2 приступов HAE в течение любого последовательного 4-недельного периода в течение контрольного периода.

4. Отсутствие каких-либо клинических отклонений, оцененных исследователем как клинически значимые, в результатах гематологических, химических анализов или анализов мочи, выполненных в процессе скрининга.

Примечание: Испытуемые с превышающим ≥ 2 раза верхнюю границу нормы уровнем аспартатаминотрансферазы и/или аланинаминотрансферазы могли участвовать в опыте, если имелось объяснение этому лабораторному результату и если результаты не были клинически значимыми.

Цели исследования

Основной целью данного исследования являлась оценка эффективности CSL312 в отношении предупреждения приступов HAE у испытуемых с C1-INH HAE. Первичной конечной точкой являлось нормализованное по времени количество (в месяц) приступов HAE у пациентов с C1 INH HAE, получающих CSL312 или плацебо q4wk в течение периода лечения 1.

Вторичными целями исследования являлись:

- Дополнительная оценка эффективности CSL312 у испытуемых с C1-INH HAE.

- Оценка ФК CSL312 у испытуемых с C1-INH HAE.

- Оценка безопасности и переносимости CSL312 у испытуемых с C1-INH HAE.

Безопасность:

Антитело CSL312 оказалось безопасным и хорошо переносилась во всех дозах. Не обнаружено никаких проблем, связанных с зависящей от дозы безопасностью. Процент испытуемых, у которых обнаружено по меньшей мере 1

АЕ во время лечения любой дозой CSL312, был такой же как в обработанной плацебо группе. Все АЕ оказались несерьезными и их интенсивность оценивали как легкую или умеренную. Ни у одного из испытуемых с C1-INH НАЕ не обнаружено SAE (серьезное нежелательное явление), АЕ, представляющее особый интерес (анафилаксия, тромбоэмболия или кровотечение), или АЕ, приводящее к прекращению лечения во время периода слепого лечения с помощью CSL312. Отсутствовали сообщения о смертельных случаях.

Фармакокинетика, фармакодинамика и эффективность:

Все 32 произвольно выбранных пациента (средний возраст 40 лет [диапазон 20-65]; 56% женщин; 91% людей белой расы; 94% НАЕ типа 1) завершили период лечения 1. При обработке CSL312 SC каждые 4 недели обнаружено статистически значимое снижение частоты приступов НАЕ по сравнению с плацебо. В исследовании продемонстрированы также клинически значимые результаты в отношении предупреждения приступов НАЕ в качестве вторичной конечной точки.

После введения ударной дозы и трех SC-введений концентрация CSL312 в плазме через 63 дня достигала максимума примерно через 3-7 дней после третьей SC-инъекции для всех трех доз. Указанные данные для стационарного состояния, а также в виде зависящего от дозы увеличения уровней CSL312 в плазме, представлены на фиг. 5 (кривые на графике сверху вниз соответствуют режимам, перечисленным снизу вверх).

В таблице 1 представлено обобщение ФК-параметров в плазме после последнего SC-введения CSL312 в периоде лечения 1 (день визита 63). После последнего SC-введения CSL312 в периоде лечения 1 (день визита 63) средняя величина C_{max} находилась в диапазоне от 10,6 до 56,4 мкг/мл. Средняя величина C_{max} увеличивалась примерно в 1,5 и 5 раз при 2,7- и 8-кратном увеличении SC-доз CSL312 от 75 мг до 200 мг и от 75 мг до 600 мг соответственно. Средняя величина AUC_{0-tau} находилась в диапазоне от 4507 до 26,514 ч×мкг/мл. Средняя величина AUC_{0-tau} увеличивалась примерно в 1,6 и 6-раз при 2,7- и 8-кратном увеличении SC- доз CSL312 от 75 мг до 200 мг и от 75 мг до 600 мг соответственно. Средняя величина $T_{1/2}$ находилась в диапазоне примерно от 16 до 18 дней для различных доз. В целом, после последнего SC-введения CSL312 в

периоде лечения 1 (день визита 63), $C_{\max}$ и AUC CSL312 увеличивались в зависимости от дозы.

Таблица 1. Обобщение данных о ФК-параметрах в плазме CSL312 в зависимости от дозы, день визита 63, период лечения 1 (ФК-популяция)

	75 мг CSL312 q4wk N = 9	200 мг CSL312 q4wk N = 8	600 мг CSL312 q4wk N = 7
$C_{\max}$ (мкг/мл)			
Количество испытуемых, для которых получены данные	9	8	7
Среднее значение (SD)	10.6 (6.09)	15.9 (5.22)	56.4 (15.9)
Медиана	9,11	13,9	60,2
Min, Max	4,70, 23,0	10,4, 25,9	31,3, 75,0
AUC _{0-tau} (h×мкг/мл)			
Количество испытуемых, для которых получены данные	9	8	7
Среднее значение (SD)	4507 (2424)	7344 (2488)	26514 (8151)
Медиана	3912	6146	25604
Min, Max	2354, 10507	4558, 12187	15630, 39058
$T_{\max}$ (ч)			
Количество испытуемых, для которых получены данные	9	8	7
Медиана	143,38	165,51	165,63
Min, Max	45,37, 195,58	115,52, 217,50	72,42, 187,57
$T_{1/2}$ (ч)			
Количество испытуемых, для которых получены данные	7	7	5
Среднее значение(SD)	411,72 (96,96)	394,01 (85,64)	443,46 (43,99)
Медиана	445,62	379,02	447,27
Min, Max	193, 467	296, 515	378, 487

N = количество испытуемых, которых подвергали лечению; ФК = фармакокинетика; q4wk = введение каждые 4 недели; $C_{\max}$ = максимальная концентрация; max = максимум; min = минимум; AUC_{0-tau} = площадь под кривой концентрация-время для 1 интервала дозирования; $T_{1/2}$ = конечный период полувыведения; $T_{\max}$ = момент времени достижения максимальной концентрации.

Примечание: ФК-популяция состоит из всех испытуемых в популяции для оценки безопасности, для которых установлена по меньшей мере одна поддающаяся измерению концентрация CSL312.

5

На фиг. 6 представлен средний (SD) процент исходных профилей FXIIa-опосредованной активности калликреина на стационарной стадии обработки, т.е. через 63 дня. На этом графике 100 % активность калликреина является исходной (активность калликреина до обработки), т.е. все значения, нанесенные на график, представляют собой значения относительно исходного уровня для каждого испытуемого с НАЕ. На этом чертеже продемонстрировано зависящее от дозы ингибирование FXIIa-опосредованной активности калликреина (кривые на графике сверху вниз соответствуют режимам, перечисленным снизу вверх).

10

В целом, после введения CSL312 обнаружено зависящее от дозы ингибирование FXIIa-опосредованной активности калликреина. Средняя FXIIa-опосредованная активность калликреина оказалась выше в группе, обработанной

15

дозой 75 мг, по сравнению с плацебо в некоторых точках взятия образцов. Вероятно, это связано с высокой вариабельностью результатов. Практически полное ингибирование FXIIa-опосредованной активности калликреина обнаружено при максимальных концентрациях CSL312 после SC-введения в дозе 600 мг.

На фиг. 7 представлена смоделированная и обнаруженная взаимосвязь между воздействием (концентрация CSL312 в крови) и реакцией (FXIIa-опосредованная активность), основанная на данных, полученных для здоровых людей и испытуемых с НАЕ. При концентрациях CSL312 в плазме >50 мкг/мл FXIIa-опосредованная активность калликреина полностью ингибировалась.

Данные о средней частоте приступов НАЕ в течение времени в зависимости от дозы представлены на фиг. 8. На указанных чертежах и прежде всего на фиг. 8 видно, что отсутствуют клинически значимые различия между тремя дозами, применяемыми на фазе 2.

Первичной конечной точкой эффективности исследования фазы 2 являлось нормализованное по времени количество приступов НАЕ. Лечение с использованием 75 мг, 200 мг или 600 мг CSL312 приводило к клинически значимому снижению нормализованного по времени количества приступов НАЕ по сравнению с плацебо (таблица 2). Среднее (SD) нормализованное по времени количество приступов НАЕ составляло 4,24 (1,801) в плацебо-плече, 0,05 (0,127) в обработанном CSL312 в дозе 200 мг плече и 0,40 (0,514) в обработанном CSL312 в дозе 600 мг плече. Среднее снижение нормализованного по времени количества приступов НАЕ составляло 98,94% для дозы 200 мг CSL312 и 90,50% для дозы 600 мг CSL312 по сравнению с плацебо. Оценивали также лечение с использованием 75 мг CSL312, но не осуществляли никаких формальных статистических сравнений между 75 мг CSL312 и плацебо. Однако сводная статистика продемонстрировала эффективность лечения с использованием этой дозы. Среднее (SD) нормализованное по времени количество приступов НАЕ составляло 0,48 (1,057). Среднее снижение нормализованного по времени количества приступов НАЕ составляло 88,68% для дозы 75 мг CSL312 по сравнению с плацебо.

В качестве вторичных конечных точек оценивали количество испытуемых, отвечающих на терапию (респондеров), количество испытуемых без приступов

НАЕ, количество приступов НАЕ, количество приступов НАЕ при лечении в случае необходимости средством против НАЕ, и ФК CSL312 в плазме ($C_{\max}$, $T_{\max}$, $T_{1/2}$, AUC, см. таблицу 1).

Таблица 2: Нормализованное по времени количество приступов НАЕ

5 (средняя частота приступов, выраженная в виде количества приступов/месяц) у
испытуемых с C1-INH НАЕ, произвольно отобранных для участия в опыте со
слепой обработкой в периоде лечения 1

	Плацебо q4wk N = 8	75 мг CSL312 Q4wk N = 9	200 мг CSL312 q4wk N = 8	600 мг CSL312 q4wk N = 7
Нормализованное по времени количество приступов НАЕ в месяц				
Среднее значение (SD)	4,24 (1,801)	0,48 (1,057)	0,05 (0,127)	0,40 (0,514)
Медиана (Min, Max)	4,61 (1,40, 7,16)	0,00 (0,00, 3,26)	0,00 (0,00, 0,36)	0,34 (0,00, 1,40)
95% доверительный интервал	2,74, 5,75	-0,33, 1,29	-0,06, 0,15	-0,07, 0,88

N = количество оцениваемых испытуемых

10 Осуществляли анализ процента испытуемых, для которых обнаружено снижение на $\geq 50\%$, $\geq 70\%$ или $\geq 90\%$ нормализованного по времени количества приступов НАЕ (т.е. респондеров) при применении CSL312 по сравнению с контрольным периодом (таблица 3). Процент респондеров оказался выше при лечении с помощью CSL312 по сравнению с обработкой плацебо:

15 • Количество и процент респондеров, для которых обнаружено снижение на $\geq 50\%$ количества приступов НАЕ, составляло 0 испытуемых в группе, обработанной плацебо, 9/9 (100,0%) в группе, обработанной 75 мг, 8/8 (100,0%) в группе, обработанной 200 мг, и 6/7 (85,7%) в группе, обработанной 600 мг.

20 • Количество и процент респондеров, для которых обнаружено снижение на $\geq 70\%$ количества приступов НАЕ, составляло 0 испытуемых в группе, обработанной плацебо, 8/9 (88,9 %) в группе, обработанной 75 мг, 8/8 (100,0%) в группе, обработанной 200 мг, и 6/7 (85,7%) в группе, обработанной 600 мг.

25 • Количество и процент респондеров, для которых обнаружено снижение на $\geq 90\%$ количества приступов НАЕ, составляло 0 испытуемых в группе, обработанной плацебо, 8/9 (88,9%) в группе, обработанной 75 мг, 8/8 (100,0%) в группе, обработанной 200 мг, и 4/7 (57,1%) в группе, обработанной 600 мг.

Следует отметить, что осуществляли также анализ процента пациентов, для которых обнаружено снижение на $\geq 30\%$ нормализованного по времени количества приступов НАЕ при применении CSL312 по сравнению с контрольным периодом, но он не являлся частью результатов основной линии (topline) и поэтому не представлен в настоящем описании. Результаты этого анализа респондентов соответствовали результатам, представленным выше.

Таблица 3: Уменьшение относительно контрольного периода нормализованного по времени количества приступов НАЕ в месяц у испытуемых с C1-INH НАЕ произвольно отобранных для участия в опыте со слепой обработкой в периоде лечения 1

	Плацебо Q4wk N = 8	75 мг CSL312 Q4wk N = 9	200 мг CSL312 q4wk N = 8	600 мг CSL312 q4wk N = 7
Снижение на $\geq 50\%$ Количество респондеров, n (%)	0	9 (100)	8 (100)	6 (85,7)
Снижение на $\geq 70\%$ Количество респондеров, n (%)	0	8 (88,9)	8 (100)	6 (85,7)
Снижение на $\geq 90\%$ Количество респондеров, n (%)	0	8 (88,9)	8 (100)	4 (57,1)

N = количество оцениваемых испытуемых; n = количество испытуемых-респондеров
Испытуемые, для которых обнаружено снижение на $\geq 50\%$, $\geq 70\%$ или $\geq 90\%$ соответственно, классифицировались как респондеры

Средний процент снижения нормализованного по времени количества приступов НАЕ при лечении CSL312 по сравнению с плацебо составлял 88,68% для дозы 75 мг, 98,94% для дозы 200 мг и 90,50% для дозы 600 мг. В противоположность этому, не обнаружено существенного снижения нормализованного по времени количества приступов НАЕ при обработке плацебо по сравнению с контрольным периодом (внутригрупповое сравнение). Среднее снижение нормализованного по времени количества приступов НАЕ при обработке плацебо составляло 9,76% по сравнению с контрольным периодом.

Среди 24 испытуемых, произвольно отобранных для обработки любой дозой CSL312, у 15 испытуемых не обнаружено приступов НАЕ во время периода оценки эффективности. Из указанных 15 испытуемых, не имеющих приступов НАЕ, у 5/9 испытуемых (55,6% [95 % CI: 26,67, 81,12]) отсутствовали приступы НАЕ при применении CSL312 в дозе 75 мг, у 7/8 испытуемых (87,5% [95 % CI: 52,91, 97,76]) отсутствовали приступы НАЕ при применении CSL312 в дозе 200 мг и у 3/7 испытуемых (42,9% [95% CI: 15,82, 74,95]) отсутствовали

приступы НАЕ при применении CSL312 в дозе 600 мг. Среди испытуемых, обработанных плацебо, не было свободных от приступов НАЕ в течение периода оценки эффективности.

5 Испытуемые, которых обрабатывали CSL312 и которые не относились к свободным от приступов НАЕ во время периода лечения 1, имели свободные от приступов НАЕ периоды до первого приступа от 1,7 до 5,1 недели при применении дозы 75 мг (4 испытуемых) и от 1,3 до 9,9 недели при применении дозы 600 мг (4 испытуемых). Отдельные испытуемые, которые не были свободными от приступов НАЕ при применении дозы 200 мг, имели два
10 приступа НАЕ, при этом свободный от приступов НАЕ период составлял 2,3 недели.

Таким образом, «слепое» лечение CSL312 оказалось безопасным и хорошо переносилось при введении пациентам с C1-INH НАЕ препарата в виде однократной IV-инфузии с последующими тремя SC-инъекциями каждые четыре
15 недели в дозе вплоть до 600 мг.

Испытуемых с C1-INH НАЕ, которые участвовали в исследовании, произвольно отбирали для участия в «слепой» обработке с использованием плацебо или 75 мг, 200 мг или 600 мг CSL312 SC q4wk. Результаты продемонстрировали, что антитело CSL312 оказалось безопасным и
20 эффективным в отношении предупреждения приступов НАЕ в указанной исследуемой популяции.

Лечение с использованием CSL312 в дозе 75 мг, 200 мг или 600 мг SC q4wk приводило к клинически значимому снижению нормализованного по времени количества приступов НАЕ по сравнению с плацебо. Из 24 испытуемых,
25 произвольно отобранных для лечения с применением любой из доз CSL312, у 15 испытуемых обнаружено отсутствие приступов НАЕ в течение периода оценки эффективности, включая 5/9 (55,6%) испытуемых, обработанных дозой 75 мг CSL312, 7/8 (87,5%) испытуемых, обработанных дозой 200 мг CSL312, и 3/7 (42,9%) испытуемых, обработанных дозой 600 мг CSL312. Среди испытуемых,
30 обработанных плацебо, не было свободных от приступов НАЕ в течение периода оценки эффективности.

Результаты продемонстрировали, что для CSL312 характерна зависящая от дозы $\Phi К$ после SC-введения в течение периода лечения 1 с $T_{1/2} \sim 17$ дней.

Зависящее от концентрации ингибирование FXIIa-опосредованной активности калликреина обнаружено после SC-введения CSL312 в периоде лечения 1.

Удалось продемонстрировать, что по сравнению с современными методами предупреждения приступов НАЕ (основанными на повышении уровней белка C1-INH до нормального или полном максимальном ингибировании калликреина или специфической блокаде рецептора брадикинина 2) предложенный новый способ, предупреждающий приступы НАЕ путем нормализации активности калликреина за счет частичного ингибирования активности FXIIa у пациентов с НАЕ, является очень эффективным.

Предварительный план исследования фазы 3

Пациенты с НАЕ более уязвимы к активации системы контакта, чем здоровые люди, о чем свидетельствует возникновение эпизодического отека. Оценивали клиническую эффективность, фармакокинетику и безопасность CSL312 в качестве профилактики для предупреждения приступов НАЕ с целью определения режима дозирования, который можно применять в последующем исследовании для оценки и подтверждения эффективности. На фиг. 9 представлены гипотетические сценарии для прогнозируемой частоты приступов НАЕ при SC-введении CSL312 в различных дозах ежемесячно, и в некоторых случаях с включением ударной SC-дозы (на фиг. 9А представлены данные об эффективности лечения с использованием выбранного режима дозирования в сравнении с обработкой плацебо; на фиг. 9Б – представлены данные, подчеркивающие разницу в частоте приступов для выбранных режимов дозирования; столбики на графике слева направо для каждого периода времени соответствуют режимам, перечисленным сверху вниз). Не обнаружено существенного различия в эффективности при использовании выбранного ежемесячного дозирования для периода лечения, составляющего 6 месяцев.

Концентрации в плазме CSL312 ниже примерно 20 мкг/мл ассоциированы с частичным ингибированием активности калликреина и характеризуются клинически значимым профилактическим действием, что подтверждает гипотезу об эффективности низких доз. Так, постоянное поддержание концентрации лекарственного средства CSL312 на уровне выше примерно 5 или 10 мкг/мл предупреждало избыточную активацию калликреина у пациентов с НАЕ и в результате предупреждало приступы НАЕ.

Пример 3

Описание исследования

Это многоцентровое двойное слепое рандомизированное плацебо-контролируемое параллельное исследование фазы 3 предназначено для изучения клинической эффективности и безопасности вводимого подкожно CSL312 для профилактики с целью предупреждения приступов НАЕ у испытуемых с C1-INH НАЕ типа 1 или типа 2.

Потенциальные риски

Указанные ниже риски не обнаружены при осуществлении разработанной программы оценки CSL312, но являются потенциальными рисками с учетом класса лекарственного средства и/или его механизме действия:

Тромбоэмболические осложнения и кровотечения: В результате блокады FXIIa с помощью CSL312 существует потенциальный риск кровотечения или тромбоэмболических осложнений (ТЕЕ) из-за измененного гемостаза, образования нестабильного тромба или нарушения, связанного с разрушением тромба. Кроме того, в результате фармакологического действия CSL312 ожидается удлинение активированного тромбопластинового времени (aPTT) в зависимости от дозы. Клиническое испытание CSL312 на здоровых добровольцах в исследовании фазы 1 опыта и пациентах с НАЕ в рамках продолжающегося исследования фазы 2 не выявили ни воздействия на протромбиновое время, ни аномального кровотечения. Это согласуется с данными о том, что для пациентов с наследственным дефицитом FXII не характерен фенотип кровотечения, несмотря на наличие удлиненного aPTT. Кроме того, в доклинических исследованиях на мышах и кроликах установлено отсутствие нарушения гемостаза после ингибирования FXIIa. В течение исследования следует осуществлять тщательный мониторинг испытуемых в отношении любых признаков кровотечения или тромбоза.

Серьезная гиперчувствительность/реакции анафилактического типа:

Введение терапевтических белков, включая моноклональные антитела, такие как CSL312, потенциально ассоциированы с риском гиперчувствительности и анафилактических реакций, некоторые из которых могут быть серьезными и опасными для жизни. При введении CSL312 в центре исследования следует предпринимать соответствующие меры предосторожности

с тщательным мониторингом в отношении возможной серьезной гиперчувствительности и анафилактических реакций. Введение CSL312, по меньшей мере второй-третьей доз, следует осуществлять в центре под наблюдением врача с немедленным доступом к аварийному оборудованию и лекарственным средствам для лечения серьезных побочных реакций гиперчувствительности, включая в том числе и анафилаксию.

Иммуногенность (антитела к лекарственному препарату):

Все терапевтические средства на основе белков являются потенциально иммуногенными. Поскольку CSL312 представляет собой белок, он потенциально может приводить к возникновению нейтрализующих и не нейтрализующих антител к лекарственному препарату. В течение исследования следует осуществлять мониторинг испытуемых в отношении развития иммуногенности.

При осуществлении как фазы 1 исследования (пример 1), так и периода лечения 1(TP1) фазы 2 исследования (пример 2) не обнаружено никаких серьезных нежелательных явлений (SAE). Кроме того, на фазе 2 исследования не обнаружено никаких нежелательных явлений, представляющих особый интерес (AESI). Ни в одном из исследований не обнаружено никаких проблем с зависящей от дозы безопасностью.

Учитывая потенциальную пользу CSL312 для пациентов с COVID 19, благоприятные данные о безопасности, полученные в исследовании фазы 1 и продолжающемся исследовании фазы 2, оценка соотношения сопутствующего риска-пользы рассматривается как приемлемая.

Основная цель и конечная точка исследования

Основной целью исследования является оценка эффективности SC-введения CSL312 в качестве профилактики для предупреждения приступов НАЕ у испытуемых с НАЕ. Нормализованное по времени количество приступов НАЕ во время лечения, начиная с дня 1 до дня 182 представляет собой первичную конечную точку. Этот показатель оценивают по нормализованному по времени количеству приступов НАЕ (в месяц и в год) у испытуемых, которых обрабатывают один раз в месяц либо CSL312 («активное плечо»), либо плацебо («плацебо-плечо») в течение периода времени, начиная с дня 1 и до дня 182 (6 месяцев).

Вторичные цели и конечные точки исследования

Вторичными целями исследования являются:

1. Характеризация клинической эффективности SC CSL312 при профилактическом лечении НАЕ.

5 2. Оценка безопасности SC CSL312 при профилактическом лечении НАЕ.

Таблица 4: Вторичные конечные точки

Вторичные цели	Конечные точки	Сведения о показателях
1	Снижение частоты приступов во время периода лечения по сравнению с контрольным периодом	Процент снижения (по меньшей мере на $\geq 50\% \geq 70\%$, ≥ 90 или равный 100% [отсутствие приступов]) в виде нормализованного по времени количества приступов НАЕ у испытуемых, обработанных один раз в месяц либо CSL312, либо плацебо в течение периода времени с дня 1 до дня 182 (6 месяцев), по сравнению с контрольным периодом, а также в течение первого 3-месячного периода времени и второго 3-месячного периода времени в «активном плече» и «плацебо-плече» по сравнению с контрольным периодом
1	Нормализованное по времени количество приступов НАЕ, требующих в случае необходимости лечения	Нормализованное по времени количество (в месяц и в год) приступов НАЕ, требующих в случае необходимости лечения у испытуемых, обработанных один раз в месяц либо CSL312, либо плацебо в течение периода времени с дня 1 до дня 182 (6 месяцев), а также в течение первого 3-месячного периода времени и второго 3-месячного периода времени в «активном плече» и «плацебо-плече»
1	Нормализованное по времени количество умеренных и/или серьезных приступов НАЕ	Нормализованное по времени количество (в месяц и в год) умеренных/серьезных приступов НАЕ у испытуемых, обработанных один раз в месяц либо CSL312, либо плацебо в течение периода времени с дня 1 до дня 182 (6 месяцев), а также в течение первого 3-месячного периода времени и второго 3-месячного периода времени в «активном плече» и «плацебо-плече»
1	Нормализованное по времени количество приступов НАЕ в различные моменты времени в течение периода лечения	Нормализованное по времени количество (в месяц и в год) приступов НАЕ у испытуемых, обработанных один раз в месяц либо CSL312, либо плацебо в течение в течение первого 3-месячного периода времени и второго 3-месячного периода времени обработки CSL312 и плацебо. Процент снижения следует рассчитывать для нормализованного по времени количества приступов НАЕ в «активном плече» по сравнению с «плацебо-плечом» в течение 6-месячного периода лечения, а также в течение первого 3-месячного периода времени и второго 3-месячного периода времени
1	Общая оценка ответа пациента на лечение (SGART)	Сравнение распределения ответов на терапию между CSL312-группой и плацебо-группой в конце периода лечения (день 182 или день 91, если прекращение участия в опыте происходит до дня 182) на основе соотношений испытуемых с «отличным, хорошим, умеренным, плохим или вообще никаким» ответом на терапию

Вторичные цели	Конечные точки	Сведения о показателях
2	• AE • AESI • SAE • CSL312-индуцированные антитела к CSL312 • Клинические значимые отклонения в лабораторных оценках (т.е. оцененные лабораторно отклонения, относящиеся к AE).	Количество и процент испытуемых, у которых обнаружены указанные касающиеся безопасности события при обработке CSL312 или плацебо в течение всего периода лечения вплоть до визита в период последующего наблюдения или заключительного визита

Цели исследования и конечные точки

Целью данного исследования является дополнительная оценка эффективности, фармакокинетики (ФК)/фармакодинамики (ФД) и качества жизни (QoL), связанных с применением CSL312, у испытуемых с НАЕ.

Конечные точки исследования включают:

1. Время до первого приступа после дня 1 и после дня 15.
2. Концентрации CSL312 в предусмотренные графиком моменты времени.
3. Концентрация FXII и FXIIa-опосредованная активность калликреина в предусмотренные графиком моменты времени.
4. Сообщаемые испытуемыми итоговые показатели:
 - Качество жизни в связи с ангиоотеком (AE-QoL)
 - Опросник EuroQoL-группы 5 измерений (анкета, состоящая из 5 вопросов) 5 уровней (EQ-5D-5L).
 - Снижение производительности труда и активности: общее состояние здоровья (WPAI:GH).
 - Общая оценка исследователем ответа пациента на лечение (IGART).

План исследования

Это многоцентровое двойное слепое рандомизированное плацебо-контролируемое параллельное исследование фазы 3 предназначено для изучения эффективности и безопасности подкожно вводимого один раз в месяц в виде однократной SC-дозы CSL312 для профилактики с целью предупреждения приступов НАЕ у подростков (возрастом 12-17 лет включительно) и взрослых испытуемых с C1-INH НАЕ типа 1 или типа 2.

Как продемонстрировано на фиг. 11, исследование состоит из периода скрининга (вплоть до 1 месяца), контрольного периода (вплоть до 2 месяцев) для подтверждения активности заболевания и определения исходной частоты

приступов НАЕ у испытуемых, периода лечения 1 (6 месяцев) для
подтверждения безопасности и эффективности дозы 200 мг CSL312, и либо 2-
месячного периода последующих наблюдений (т.е. 3 месяца после последнего
введения с целью изучения исследуемого продукта), либо включения в открытое
исследование фазы 3b.

Скрининг: После получения информированного согласия испытуемые
должны участвовать в периоде скрининга продолжительностью до 1 месяца, для
решения вопроса об их участии в исследовании. Отобранных испытуемых,
соответствующие всем критериям включения и не подпадающие ни под один из
критериев исключения, включают для участия в контрольном периоде.

Контрольный период: После скрининга пригодные испытуемые начинают
участие в контрольном периоде продолжительностью не менее 1 месяца и до 2
месяцев, для подтверждения статуса их основного заболевания и оценки
возможности их включения в период лечения. Первый день контрольного
периода может совпадать с днем скрининга.

Испытуемые должны в течение по меньшей мере 1 месяца участвовать в
контрольном периоде. Кроме того, у испытуемых должно быть по меньшей мере
2 приступа НАЕ в течение контрольного периода для включения их в период
лечения. Испытуемых, которые имеют по меньшей мере 2 приступа в течение
требуемого первого месяца контрольного периода, можно включать в период
лечения. Испытуемые, у которых не было приступа НАЕ в течение первого
месяца контрольного периода, продолжают участвовать в контрольном периоде
еще один месяц, в течение которого у них должно случиться по меньшей мере 2
приступа для того, чтобы они могли принимать участие в периоде лечения и
рандомизации.

Испытуемым не разрешается использовать обычную профилактику для
предупреждения НАЕ во время контрольного периода; однако испытуемые
могут в случае необходимости применять анти-НАЕ терапию для лечения
приступов НАЕ, если ранее была установлена эффективность этого
лекарственного средства.

Испытуемые, которые не соответствуют критерию минимальной частоты
приступов НАЕ в течение контрольного периода или которые по иным
признакам признаны непригодными для участия в оценке в период скрининга,

рассматриваются как не прошедшие контрольный период и они не допускаются к повторному скринингу для участия в исследовании.

Период лечения: Испытуемых, соответствующих критериям отбора, включают для участия в периоде лечения после контрольного периода.

- 5 Отобранных испытуемых произвольно разделяют в соотношении 3:2 для включения либо в группу, обрабатываемую CSL312 («активное плечо»), либо в группу, обрабатываемую плацебо («плацебо-плечо»). Продолжительность периода лечения составляет 6 месяцев. При рандомизации следует учитывать возраст (≤ 17 лет, > 17 лет) и для взрослых людей, исходную частоту приступов, обнаруженную в течение контрольного периода (от 1 до < 3 приступов в месяц и ≥ 3 приступов в месяц).

Период последующего наблюдения/включение в открытую фазу 3b исследования:

- 15 Испытуемые, успешно завершившие участие в описанном исследовании фазы 3, могут начать участие в открытом исследовании фазы 3b (OLE). Для испытуемых, которые решили не участвовать в OLE-исследовании, требуется осуществить визит для завершения периода последующего наблюдения (242-й день, т.е. примерно через 3 месяца после введения последней дозы исследуемого продукта). Для испытуемых, решивших принимать участие в OLE-исследовании, оценки, полученные в день 182, следует использовать в качестве
- 20 соответствующих оценок для дня 1 OLE-исследования.

Доза и режим дозирования

В этом опыте исследуемые продукты представляют собой 200 мг CSL312 и плацебо.

- 25 Испытуемые, произвольно включенные в «активное плечо», должны получать SC CSL312 один раз в месяц в течение 6 месяцев. Первая доза CSL312 должна представлять собой ударную дозу 400 мг, которую вводят подкожно в один и тот же день в виде 2 отдельных инъекций в центре, в котором проводят исследование (т.е. месяц 1). Следующие дозы CSL312 должны составлять 200
- 30 мг, их вводят SC один раз в месяц в течение 5 последовательных месяцев (т.е. месяцы 2-6).

Испытуемые, произвольно включенные в «плацебо-плечо», должны получать соответствующий объем плацебо один раз в месяц в течение 6 месяцев.

Первая доза плацебо в «плацебо-плече» должна представлять собой соответствующий объем плацебо, который вводят SC в виде 2 отдельных инъекций (т.е. месяц 1). Затем испытуемые должны получать соответствующий объем плацебо, который вводят SC один раз в месяц в течение 5

5 последовательных месяцев (т.е. месяцы 2-6).

Предлагаемая доза 200 мг выбрана на основе данных об эффективности и безопасности, полученных в TP1 исследования фазы 2 (пример 2), ФК CSL312, ингибирования FXIIa-опосредованной активности калликреина и модели воздействие-реакция (E-R).

10 Доза 200 мг при введении один раз каждые 28 дней (± 3 дня) оказалась высоко эффективной при оценке с помощью различных конечных точек эффективности и имела благоприятный профиль безопасности. Кроме того, доза 200 мг обеспечивала ~50%-ное ингибирование FXIIa-опосредованной активности калликреина.

15 Для подтверждения выбора дозы для фазы 3 применяли модель E-R для моделирования частоты приступов НАЕ при использовании широкого диапазона концентраций CSL312, которые можно было бы ожидать после различных режимов дозирования. На основе модели E-R рассчитывали среднесуточные концентрации для достижения относительного снижения риска приступов на 50,
20 75 и 90% по сравнению с исходной частотой приступов, которые составляли 1, 4, 3,3 и 7,8 мкг/мл соответственно. Медиана прогнозируемых минимальных среднесуточных концентраций CSL312 в стационарном состоянии после приема 200 мг SC один раз в месяц соответствовала 90%-ному относительному снижению риска приступов по сравнению с исходной частотой приступов у 73%
25 пациентов.

Кроме того, с помощью модели E-R продемонстрировано, что кумулятивный эффект концентрации CSL312 проявлялся в снижении ожидаемого количества приступов НАЕ в месяц. Высказано предположение, что режим, включающий введение 200 мг SC один раз в месяц, может снижать
30 среднюю частоту приступов примерно на 91% по сравнению с плацебо. Высказано предположение, что увеличение дозы выше 200 мг не приведет к значительному дальнейшему снижению частоты приступов НАЕ.

И, наконец, ожидается, что воздействие в дозе 200 мг SC, вводимой ежемесячно, не приведет к удлинению aPTT у большинства испытуемых, участвующих в исследовании фазы 3.

5 На основании всех факторов, принятых во внимание при выборе дозы, ожидается, что доза 200 мг CSL312 при SC-введении один раз в месяц, обеспечит клинически значимое лечебное действие и оптимальное соотношение пользы и риска у пациентов с C1-INH HAE типа 1 и типа 2.

Критерии отбора

10 Подопытную популяцию следует выбирать на основе критериев включения и критериев исключения, описанных в представленных ниже разделах. Каждый испытуемый должен соответствовать всем критериям включения и ни одному из критериев исключения для данного исследования. Приемлемость испытуемого должна быть проверена и задокументирована соответствующим
15 квалифицированным медицинским специалистом из исследовательской группы перед включением испытуемого в исследование.

Критерии включения

Для включения в исследование и произвольного разделения на группы испытуемые должны соответствовать всем следующим критериями включения:

1. Иметь возможность предоставить письменное информированное
20 согласие и желание и способность соблюдать все требования протокола, и/или являться родителем(ями) испытуемого или законным(и) представителем(ями), способным(ыми) предоставить письменное информированное согласие /одобрение в зависимости от обстоятельств.

2. Мужчина или женщина.

25 3. Возраст ≥ 12 в момент предоставления письменного информированного согласия или одобрения в случае несовершеннолетних.

4. Клинически подтвержденный диагноз C1-INH HAE: основанный на следующих критериях:

а. задокументированный клинический анамнез, соответствующий HAE
30 (эпизоды подкожного или слизистого отека, не вызывающие зуда, без сопутствующей крапивницы) и

б. концентрация антигена C1-INH или его функциональная активность <50% от нижнего предела референтного диапазона, что должно быть указано в медицинской карте испытуемого, и

5 в. концентрация антигена C4 ниже нижнего предела референтного диапазона, что должно быть указано в медицинской карте испытуемого.

5. Зафиксировано ≥ 3 приступов НАЕ в течение 3 месяцев до скрининга, что должно быть указано в медицинской карте испытуемого.

10 Примечание: у испытуемых, подвергающихся какой-либо профилактической терапии НАЕ в течение 3 месяцев до скрининга, может быть задокументировано ≥ 3 приступов НАЕ в течение 3 последовательных месяцев до начала профилактической терапии.

Критерии исключения

Испытуемые не могут быть включены в исследование, если они соответствуют любому из следующих критериев исключения:

15 1. Сопутствующий диагноз другой формы ангиоотека, такой как идиопатический или приобретенный ангиоотек, рецидивирующий ангиоотек, ассоциированный с крапивницей или НАЕ типа 3.

2. Любые заранее запланированные серьезные хирургические операции или процедуры во время клинического исследования.

20 3. Для взрослых испытуемых: применение C1-INH-продуктов, андрогенов, антифибринолитических средств или других низкомолекулярных лекарственных средств для обычной профилактики приступов НАЕ в течение 2-недельного периода до контрольного периода.

25 4. Для испытуемых-подростков возрастом от 12 до 17 лет включительно: применение длительной профилактической терапии НАЕ до скрининга.

5. Применение моноклональных антител, таких как ланаделумаб (Takhzygo[®]) в течение 3 месяцев до контрольного периода.

30 6. Во время исследования не разрешается применение эстрогенсодержащих средств с системной абсорбцией (например, оральных контрацептивов или гормонзаместительной терапии), ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) в течение 4-недель до контрольного периода или в процессе исследования.

7. Участие в другом интервенционном клиническом исследовании в течение 30 дней до скрининга или в течение 5 периодов полувыведения конечной дозы исследуемого препарата, введенной во время предыдущего интервенционного исследования, в зависимости от того, что является более длительным.

8. Известная или предполагаемая гиперчувствительность к терапии на основе моноклонального антитела или гиперчувствительность к исследуемому продукту или к любому из эксципиентов исследуемого продукта.

9. Испытуемый имеет любое состояние, которое, по мнению исследователя CSL, может поставить под угрозу его безопасность или соответствие требованиям, препятствовать успешному проведению исследования, влиять на интерпретацию результатов или иным образом делать испытуемого непригодным для участия в исследовании, например, клинически значимое кровотечение из-за коагулопатии, тромботического расстройства, серьезного заболевания или тяжелого сопутствующего заболевания.

10. Введение ранее CSL312 в другом интервенционном клиническом исследовании.

11. Намерение забеременеть или стать отцом ребенка в любое время во время исследования.

12. Женщины с детородным потенциалом или мужчины, которые являются фертильными и сексуально активными, либо не использующие или не желающие использовать приемлемый метод контрацепции, чтобы избежать беременности во время исследования и в течение 30 дней после получения последней дозы исследуемого продукта.

Примечание: Предполагается, что все испытуемые женского пола обладают детородным потенциалом, за исключением:

- Испытуемых возрастом > 60 лет.

- Испытуемых возрастом от 45 до 60 лет (включительно) с аменореей в течение ≥ 1 года с документально подтвержденным уровнем

фолликулостимулирующего гормона > 30 МЕ/л. Если данные об уровне фолликулостимулирующего гормона недоступны до рандомизации, то требуется анализ мочи на беременность.

- Испытуемых, хирургически стерилизованных по меньшей мере за 3 месяца до предоставления информированного согласия.

Примечание: Предполагается, что все испытуемые мужского пола являются фертильными, за исключением испытуемых, хирургически стерилизованных по меньшей мере за 3 месяца до предоставления информированного согласия.

13. Беременность, кормление грудью или отсутствие желания прекращать грудное вскармливание.

14. Участие в планировании и/или проведении исследования.

Критерии для включения в период лечения

Испытуемые могут завершить участие в контрольном периоде и начать участие в периоде лечения, если они соответствуют всем следующим критериям:

1. Участвовали в контрольном периоде в течение по меньшей мере 1 месяца.

2. Имели в среднем по меньшей мере 1 приступ НАЕ в месяц в течение контрольного периода (например, имели в общей сложности по меньшей мере 2 приступа НАЕ)

3. Не имели клинических отклонений согласно лабораторным анализам, оцененных исследователем как клинически значимые, по результатам гематологических, химических анализов или анализов мочи.

4. Функциональная активность C1-INH и уровни концентрации антигена, а также уровни концентрации антигена C4 проверены до рандомизации.

Примечание: Испытуемые с более чем в 2 раза превышающим верхнюю границу нормы уровнем аспартатаминотрансферазы и/или аланинаминотрансферазы могут принимать участие, если есть объяснение этому лабораторному результату и если результаты не являются клинически значимыми.

Оценки исследования

Временные окна для всех оценок подробно описаны в таблице 5.

Таблица 5: Временные окна для оценок

Визит/процедура	Временное окно (касательно графика визитов /процедуры)
Скрининг	Неприменимо
Контрольный период: дни визитов 15, 30, 45 и 60	± 4 дня
Период лечения: дни визитов 31, 61, 91, 121, 151, 182	± 4 дня
Период последующего наблюдения: день визита 242	- 14 дней

Визит/процедура	Временное окно (касательно графика визитов /процедуры)
Жизненно важные показатели, медицинский осмотр и тест на беременность	Предварительная инъекция в этот же день

Демографические данные и оценка безопасности

В этом исследовании следует учитывать демографические данные и осуществлять оценку безопасности (включая некоторые лабораторные оценки).

5 Фармакокинетические и фармакодинамические оценки

При проведении исследования следует получать образы плазмы для оценки концентрации CSL312 (фармакокинетические исследования) и концентрации FXII и FXIIa-опосредованной активности калликреина (фармакодинамические исследования).

10 Оценки эффективности

Для анализа эффективности следует использовать приступы ангиотека, подтвержденные исследователем или назначенным им лицом, и они должны быть занесены в электронную форму отчета о событиях (eCRF). Все симптомы НАЕ, о которых сообщает испытуемый, должны быть отображены в соответствующем списке. Исследователь должен проанализировать симптом(ы), о котором(ых) сообщили испытуемые. Исследователь должен подтвердить, представляет(ют) ли симптом(ы) приступ НАЕ, и в случае, если это не приступ НАЕ, то задокументировать симптом(ы) как АЕ в eCRF. Прогномальный симптом сам по себе или прием лекарственного средства в случае необходимости не следует рассматривать как приступ.

При каждом визите в рамках исследования и телефонном контакте во время контрольного периода исследователь или назначенное им лицо должны просматривать записи электронного дневника (eDiary) испытуемого. Исследователь должен рассматривать всю доступную медицинскую информацию и может задавать уточняющие вопросы для подтверждения наличия приступов НАЕ.

Следующая информация должна быть задокументирована в eDiary испытуемого:

- Дата и время появления симптомов НАЕ.
- Дата и время устранения симптомов НАЕ (т.е. испытуемый больше не испытывает симптомов приступа).

- Локализация симптома(ов) НАЕ.
- Подтверждение влияния симптома(ов) на повседневную деятельность испытуемого.

5 • Если для лечения симптомов НАЕ использовали в случае необходимости лекарственные средства, то должны быть указаны:

- название лекарственного средства,
- дата и время применения.

• Подтверждение медицинской помощи, полученной в связи с симптомами НАЕ.

10 Исследователь должен уточнить у испытуемого дополнительные детали, связанные с симптомами:

- Локализация симптома(ов) НАЕ.
- Дата/время начала/окончания появления симптома(ов).
- Доза(ы) применяемого(ых) в случае необходимости лекарственного(ых)

15 средства(в).

• Путь(и) введения применяемого(ых) в случае необходимости лекарственного(ых) средства(в).

• Имело ли место самостоятельное введение применяемого(ых) в случае необходимости лекарственного(ых) средства(в)? (да /нет).

20 • Введение применяемого(ых) в случае необходимости лекарственного(ых) средства(в) в исследовательской центре, в домашних условиях или в отделении неотложной помощи.

25 • Вид медицинской помощи или вмешательства, оказываемых медицинским работником во время симптомов НАЕ, включая госпитализацию или посещение отделения неотложной помощи.

• Серьезность приступа (зависит от степени влияния на повседневную деятельность и от того, требовалось ли использовать применяемое в случае необходимости лекарственного средства и/или медицинскую помощь).

Анализы эффективности

30 Применяемое в качестве первичной конечной точки «нормализованное по времени количество приступов НАЕ в месяц в процессе лечения со дня 1 до дня 182» рассчитывают для испытуемых как:

[количество приступов НАЕ/продолжительность лечения испытуемого в днях] $\times$ 30,4375,

где продолжительность лечения испытуемого рассчитывают как:

[дата визита в рамках исследования в день 182 или дата прекращения участия в исследовании [в зависимости от того, что происходило раньше] - дата визита в рамках исследования в день 1 + 1].

Для оценки различия в первичной конечной точке эффективности между CSL312 и плацебо следует проводить сравнение нормализованного по времени количества приступов НАЕ в течение 6 месяцев в «активном плече» и в течение 6 месяцев в «плацебо-плече» с использованием двустороннего критерия Уилкоксона (альфа = 5%).

Нормализованное по времени количество приступов НАЕ в месяц и в год следует суммировать описательно для 6-месячного периода для «активного плеча» и 6-месячного периода для «плацебо-плеча» по медиане и среднему значению с соответствующими 95%-ными доверительными интервалами (CI) в зависимости от лечения.

В качестве анализа чувствительности следует проводить сравнение нормализованного по времени количества приступов НАЕ для 6-месячного периода для «активного плеча» и 6-месячного периода для «плацебо-плеча» с использованием регрессионной модели Пуассона. Следует включать нормализованное по времени количество приступов НАЕ во время контрольного периода и возраст в качестве ковариат и логарифм продолжительности лечения испытуемого в качестве компенсирующей переменной. Модель может учитывать избыточную дисперсию.

Применяемый в качестве вторичной конечной точки эффективности процент снижения нормализованного по времени количества приступов НАЕ рассчитывают для испытуемого как:

$100 \times [1 - (\text{нормализованное по времени количество приступов НАЕ в месяц в процессе лечения} / \text{нормализованное по времени количество приступов НАЕ в месяц в процессе контрольного периода})]$

в течение всех 6 месяцев в «активном плече» и в течение 6-месячного периода в «плацебо-плече» и его следует оценивать с помощью двустороннего

критерия Уилкоксона с использованием индивидуального процента снижения при сравнении групп обработки.

Количество и процент респондеров и нереспондеров следует представлять с соответствующими 95% CI. Испытуемый классифицируется как респондер, если процент снижения количества приступов НАЕ составляет $\geq 50\%$. Кроме того, количество и процент испытуемых, у которых процент снижения составляет $\geq 70\%$ и $\geq 90\%$, следует представлять с соответствующими 95% CI.

Количество и процент испытуемых, имеющих процент снижения, составляющий 100%, т.е. у которых отсутствуют приступы НАЕ и которые поэтому относятся к свободным от приступов испытуемым, следует определять и обобщать с соответствующими 95% CI для 6-месячного периода в «активном плече» и 6-месячного периода в «плацебо-плече», для оценки различий между вариантами обработки следует применять критерий Фишера.

Процент снижения нормализованного по времени количества приступов НАЕ в течение 6-месяцев в «активном плече» можно рассчитывать также в виде процента снижения относительно обрабатываемого в течение 6 месяцев «плацебо-плеча» (между испытуемыми) как

$$100 \times [1 - (\text{медиана нормализованного по времени количества приступов НАЕ в месяц в течение 6 месяцев в «активном плече»} / \text{медиана нормализованного по времени количества приступов НАЕ в месяц в течение 6 месячного периода в «плацебо- плече»})]$$

и следует тестировать в качестве поискового с помощью двустороннего теста Уилкоксона с использованием индивидуального процента снижения при сравнении групп обработки.

Применяемый в качестве вторичной конечной точки эффективности процент снижения нормализованного по времени количества приступов НАЕ в месяц, требующих в случае необходимости лечения рассчитывают как:

$$100 \times [1 - (\text{количество приступов НАЕ, требующих в случае необходимости лечения} / \text{продолжительность обработки испытуемого в днях})] \times 30,4375.$$

Приступ НАЕ, требующий в случае необходимости лечения, определяют как приступ, для которого дата применения лечения по необходимости находится между датой начала (включительно) и датой окончания (включительно) приступа НАЕ. Различия между «активным плечом» при

лечении в течение 6-месячного периода и «плацебо-плечом» при обработке в течение 6-месячного периода следует тестировать в качестве поискового с помощью двустороннего критерия Уилкоксона.

5 Для анализа нормализованного по времени количества умеренных и/или серьезных приступов НАЕ следует осуществлять аналогичный расчет с использованием всех приступов НАЕ, классифицированных как умеренные или серьезные.

Анализ безопасности

10 Нежелательные явления, дата и время начала которых находятся после первого введения исследуемого лекарственного средства, следует рассматривать как нежелательные явления, связанные с лечением (ТЕАЕ). Нежелательные явления с пропущенной или частично определенной датой или временем начала также следует рассматривать как ТЕАЕ, по принципу наихудшего случая, если только частичные данные четко не указывают на то, что АЕ начался до даты и
15 времени первого введения. Следует обобщать сведения о АЕ, связанных с лечением, имеющих место вплоть до визита при последующем периоде наблюдения. В анализ следует включать только ТЕАЕ, хотя следует указывать все АЕ.

Фармакокинетический анализ

20 ФК-анализ следует осуществлять с использованием ФК-популяции. Концентрации CSL312 в плазме следует указывать для отдельных испытуемых и обобщать по номинальным временным точкам. Индивидуальные и средние концентрации CSL312 в плазме в зависимости от времени следует наносить на график в линейном и полулогарифмическом масштабах. Концентрации CSL312 в
25 плазме следует обобщать с помощью описательной статистики: среднее значение, SD, процент коэффициента вариации, медиана, минимум, максимум, а также первый и третий квартили для непрерывных переменных, среднее геометрическое значение и соответствующий 90% CI.

Фармакодинамический анализ

30 Данные о фармакодинамике следует обобщать с использованием ФД-популяции. Следует оценивать FXIIa-опосредованную активность калликреина и концентрацию FXII для оценки фармакодинамических характеристик CSL312, указанных выше. Следует указывать FXIIa-опосредованную активность

калликреина и концентрацию FXII для индивидуальных испытуемых и обобщать по номинальным временным точкам.

ПЕРВОНАЧАЛЬНАЯ ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Антитело к FXII, которое содержит

(I) V_H , содержащую CDRH1, который содержит последовательность,
представленную в SEQ ID NO: 1; CDRH2, который содержит
последовательность, представленную в SEQ ID NO: 2; и CDRH3, который
содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 3; и

(II) V_L , содержащую CDRL1, который содержит последовательность,
представленную в SEQ ID NO: 4; CDRL2, который содержит
последовательность, представленную в SEQ ID NO: 5; и CDRL3, который
содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 6;

предназначенное для применения в способе лечения или предупреждения
наследственного ангиоотека (HAE) у индивидуума, в котором антитело вводят
индивидууму подкожно.

2. Антитело к FXII, предназначенное для применения по п. 1, где антитело
к FXII содержит V_H , которая содержит последовательность, представленную в
SEQ ID NO: 7, и V_L , которая содержит последовательность, представленную в
SEQ ID NO: 8.

3. Антитело к FXII, предназначенное для применения по п. 1 или п. 2, где
антитело к FXII представляет собой антитело в виде IgG, предпочтительно IgG4.

4. Антитело к FXII, предназначенное для применения по п. 3, где антитело
содержит мутацию, приводящую к замене на пролин в положении 228
шарнирной области согласно системе EU-нумерации.

5. Антитело к FXII, предназначенное для применения по одному из п.п. 1-4,
где антитело к FXII содержит последовательность тяжелой цепи,
представленную в SEQ ID NO: 9, и последовательность легкой цепи,
представленную в SEQ ID NO: 10.

6. Антитело к FXII, предназначенное для применения по п. 5, в котором тяжелая цепь содержит дополнительный лизин, сцепленный с последней аминокислотой в SEQ ID NO: 9.

5 7. Антитело к FXII, предназначенное для применения по одному из п.п. 1-6, в котором антитело к FXII вводят в количестве, достаточном для поддержания концентрации антитела на уровне по меньшей мере 5 мкг/мл, между двумя последовательными введениями антитела.

10 8. Антитело к FXII, предназначенное для применения по одному из п.п. 1-7, в котором антитело вводят в дозе от 70 мг до 700 мг один раз каждые 1-3 месяца, предпочтительно один раз каждые 1-2 месяца.

15 9. Антитело к FXII, предназначенное для применения по одному из п.п. 1-8, в котором антитело вводят в дозе от 150 мг до 250 мг, предпочтительно от 170 мг до 220 мг, более предпочтительно 200 мг.

20 10. Антитело к FXII, предназначенное для применения по одному из п.п. 1-8, в котором антитело вводят в дозе от 50 мг до 150 мг, предпочтительно от 70 мг до 130 мг, более предпочтительно 100 мг.

25 11. Антитело к FXII, предназначенное для применения по одному из п.п. 1-10, в котором антитело вводят каждые 1-2 месяца, предпочтительно один раз каждый месяц.

12. Антитело к FXII, предназначенное для применения по одному из п.п. 1-11, в котором индивидуум представляет собой больного человека, который имеет НАЕ, предполагается, что имеет НАЕ, или имеет риск его возникновения.

30 13. Антитело к FXII, предназначенное для применения по одному из п.п. 1-12, в котором способ включает введение ударной дозы антитела к FXII.

14. Антитело к FXII, предназначенное для применения по п. 13, в котором введение ударной дозы представляет собой внутривенное введение антитела к FXII в дозе от 30 мг до 400 мг, предпочтительно от 100 до 300 мг, более предпочтительно 200 мг.

5

15. Антитело к FXII, предназначенное для применения по п. 13, в котором введение ударной дозы представляет собой подкожное введение антитела к FXII в дозе от 70 мг до 700 мг, предпочтительно от 200 до 500 мг, более предпочтительно 400 мг.

10

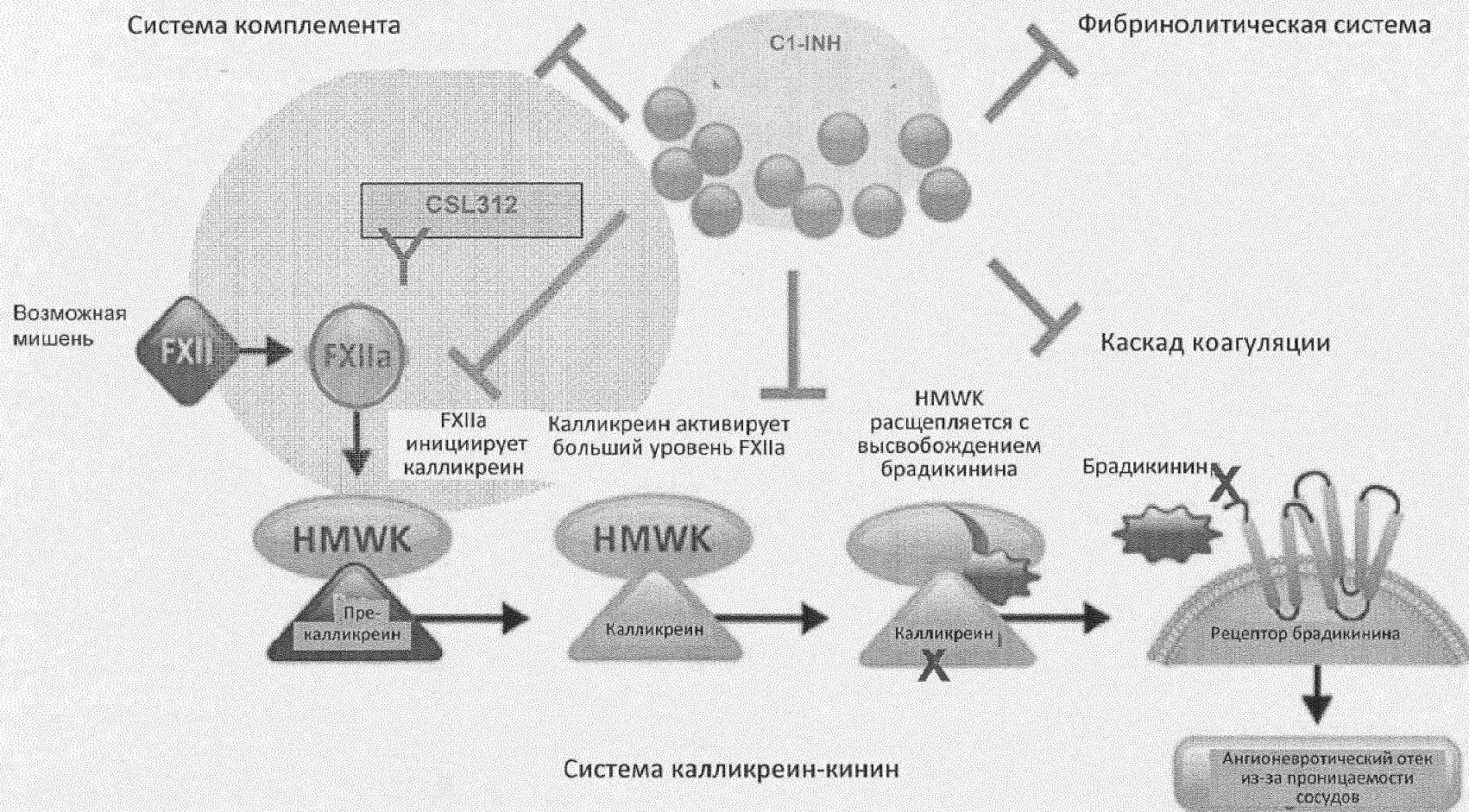
16. Антитело к FXII, предназначенное для применения по одному из п.п. 1-13 и п. 15, в котором антитело к FXII вводят индивидууму только подкожно.

15

17. Антитело к FXII, предназначенное для применения по одному из п.п. 1-16, в котором введение антитела к FXII снижает риск приступа НАЕ предпочтительно более чем на 85%, более предпочтительно более чем на 90% и еще более предпочтительно более чем на 95% или более чем на 98%.

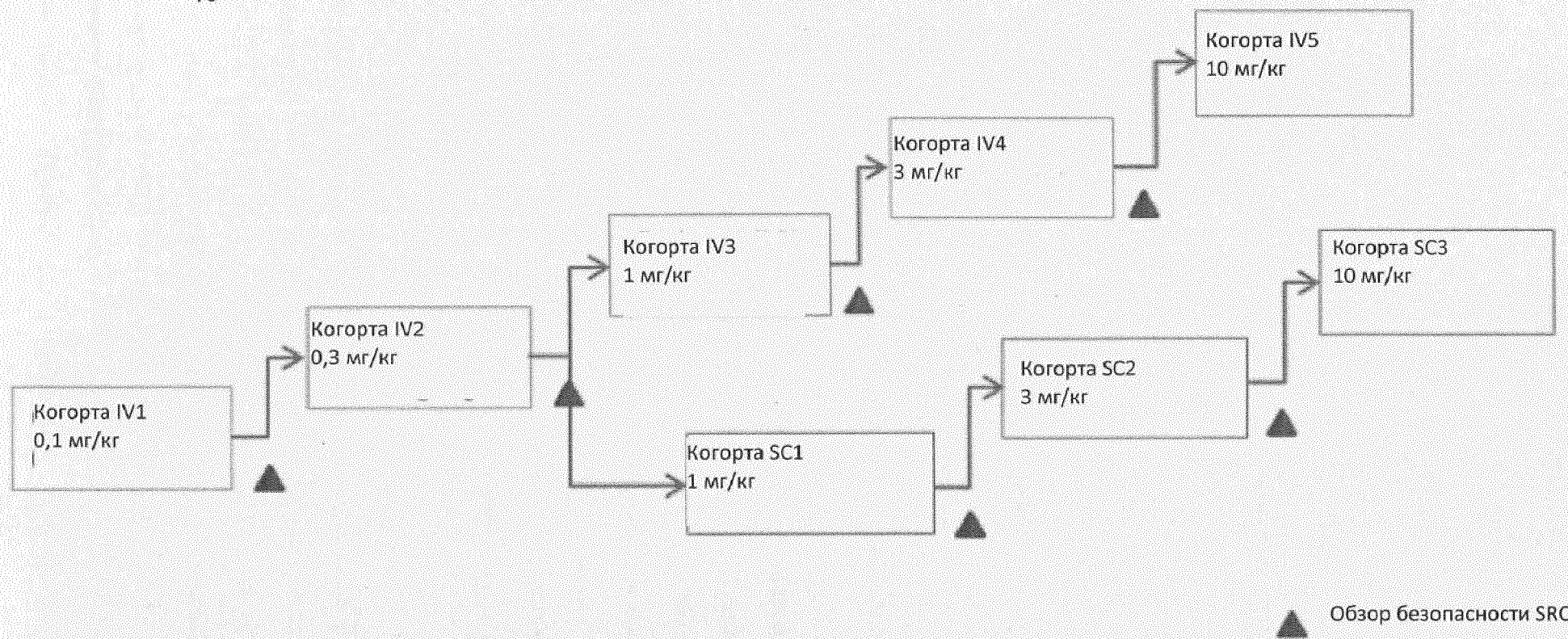
20

18. Антитело к FXII, предназначенное для применения по одному из п.п. 1-17, в котором антитело к FXII вводят в количестве, достаточном для ингибирования менее чем 60%, 50%, 40% или 30% FXII-опосредованной активности калликреина между двумя последовательными введениями антитела.

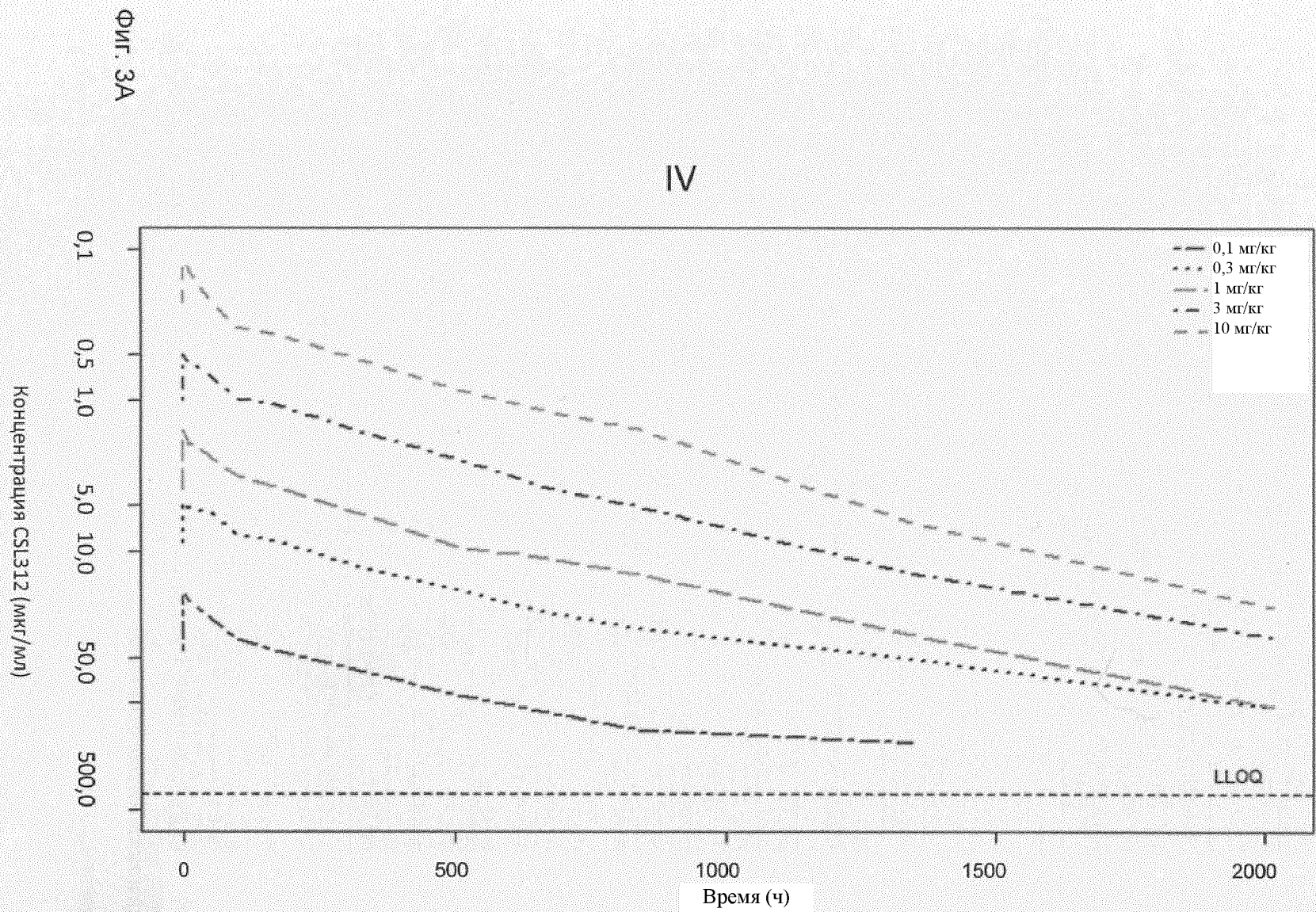


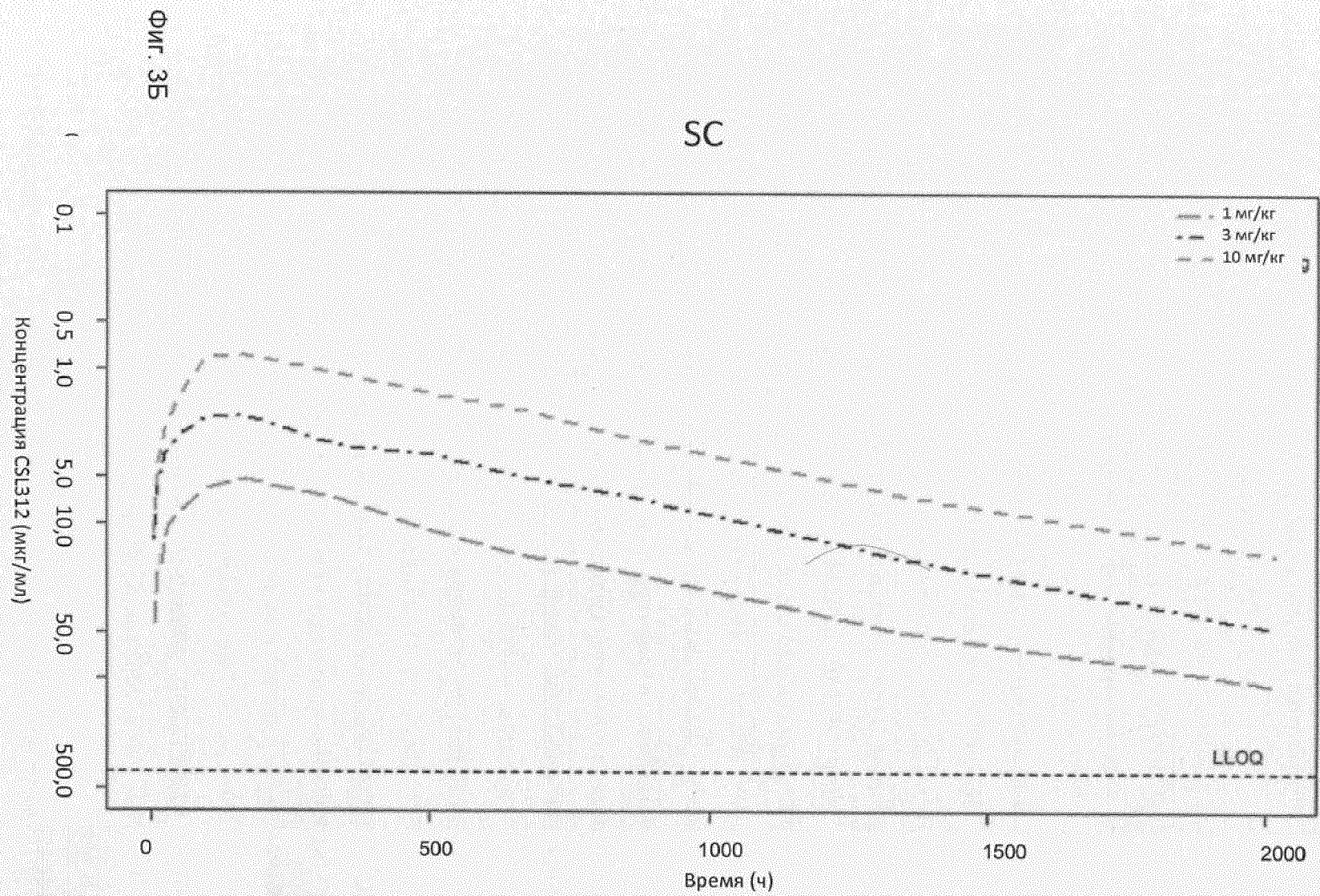
Фиг. 1

Фиг. 2

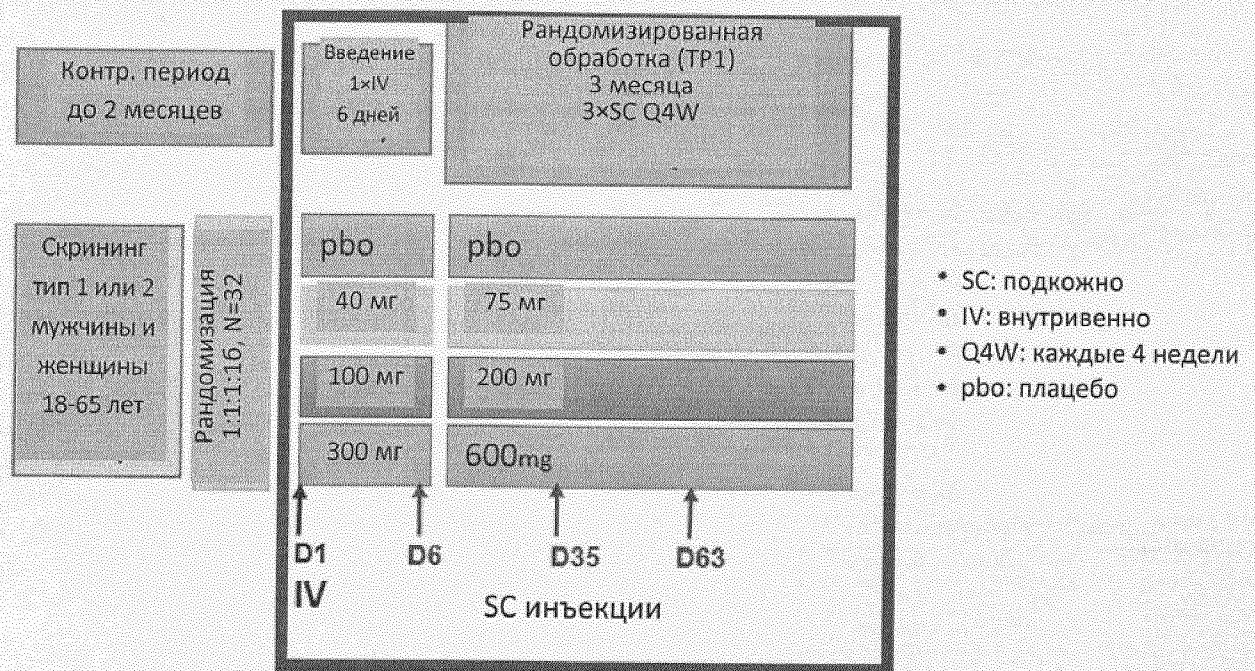


IV

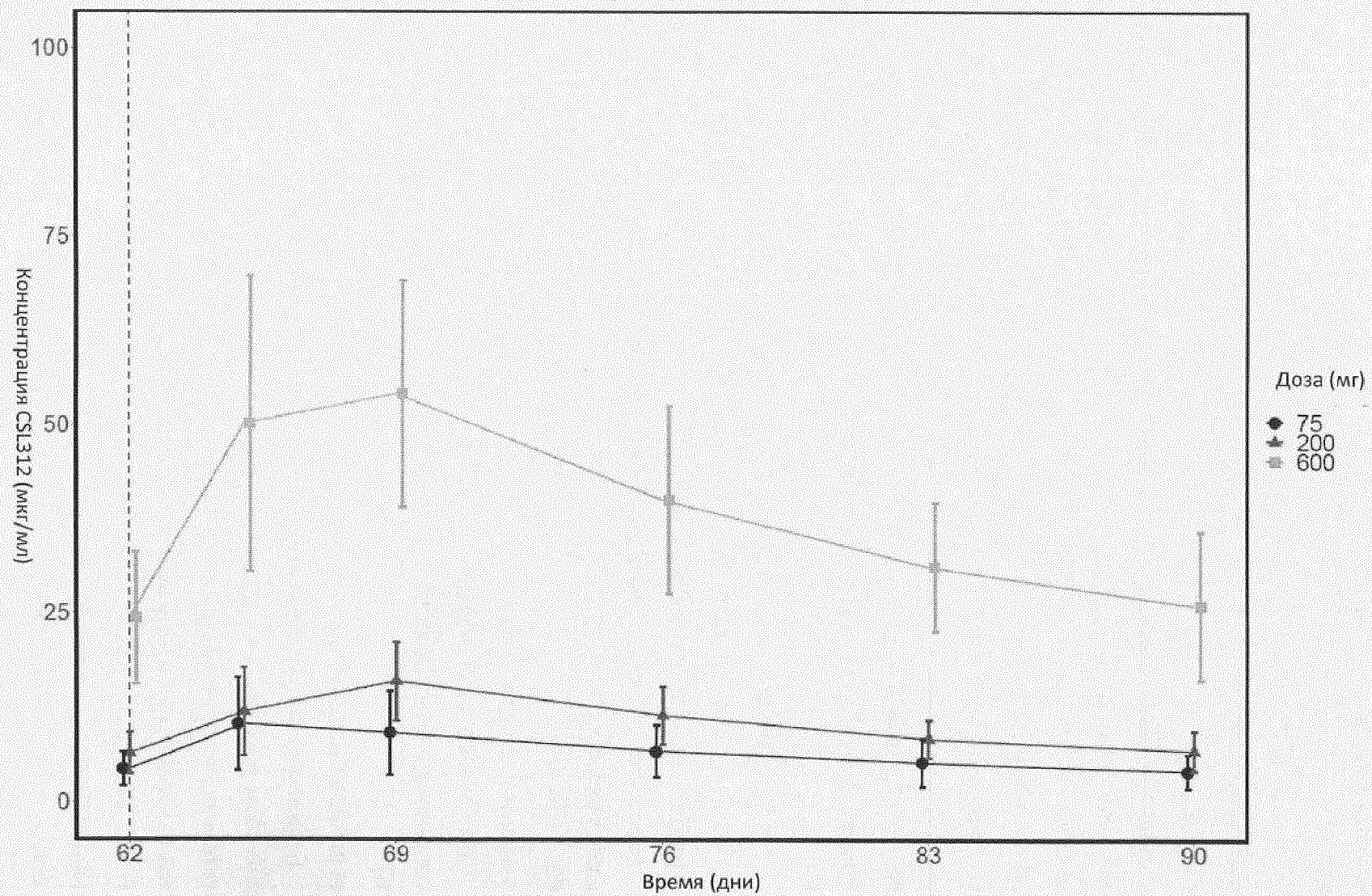




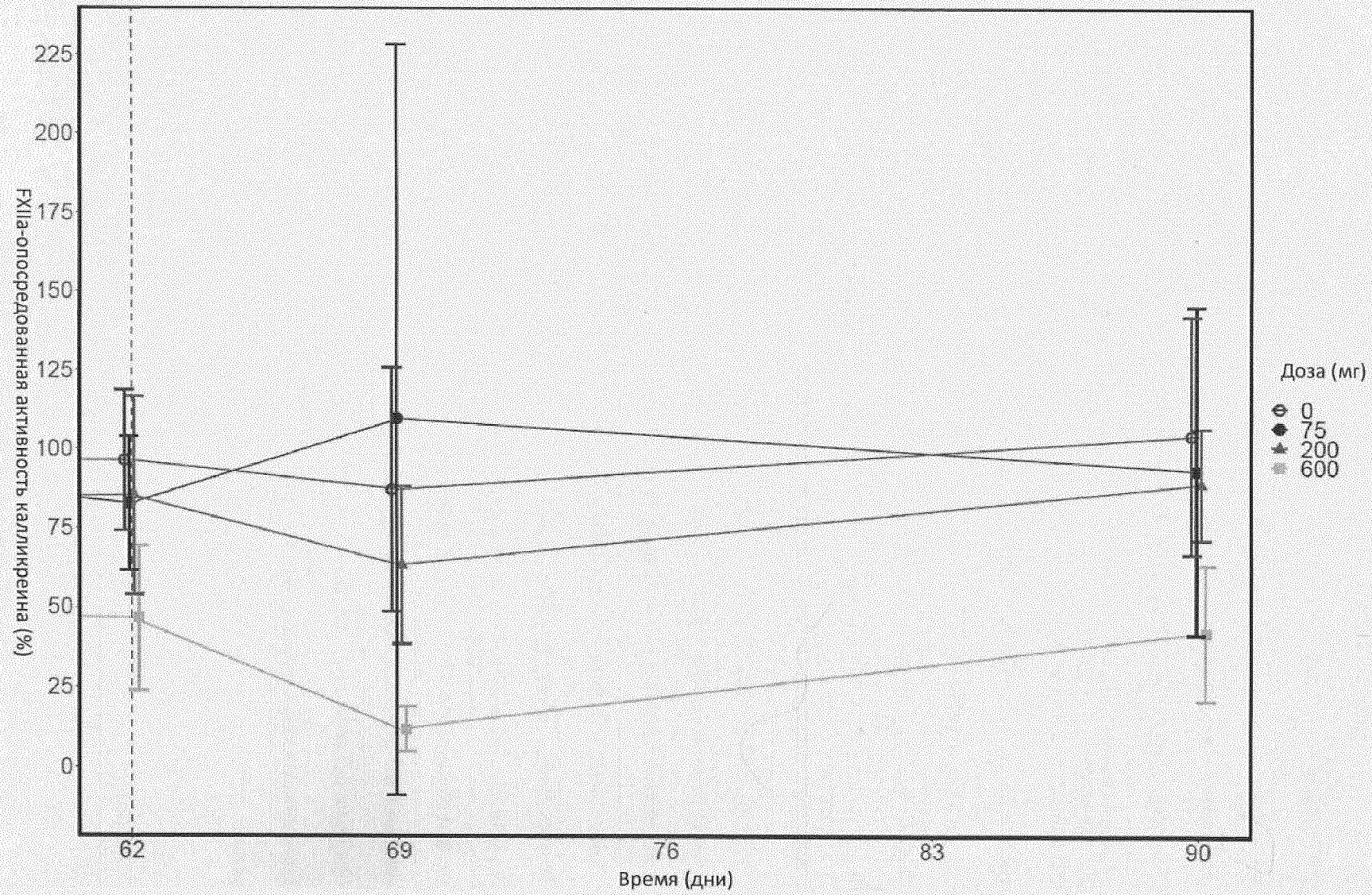
Фиг. 4



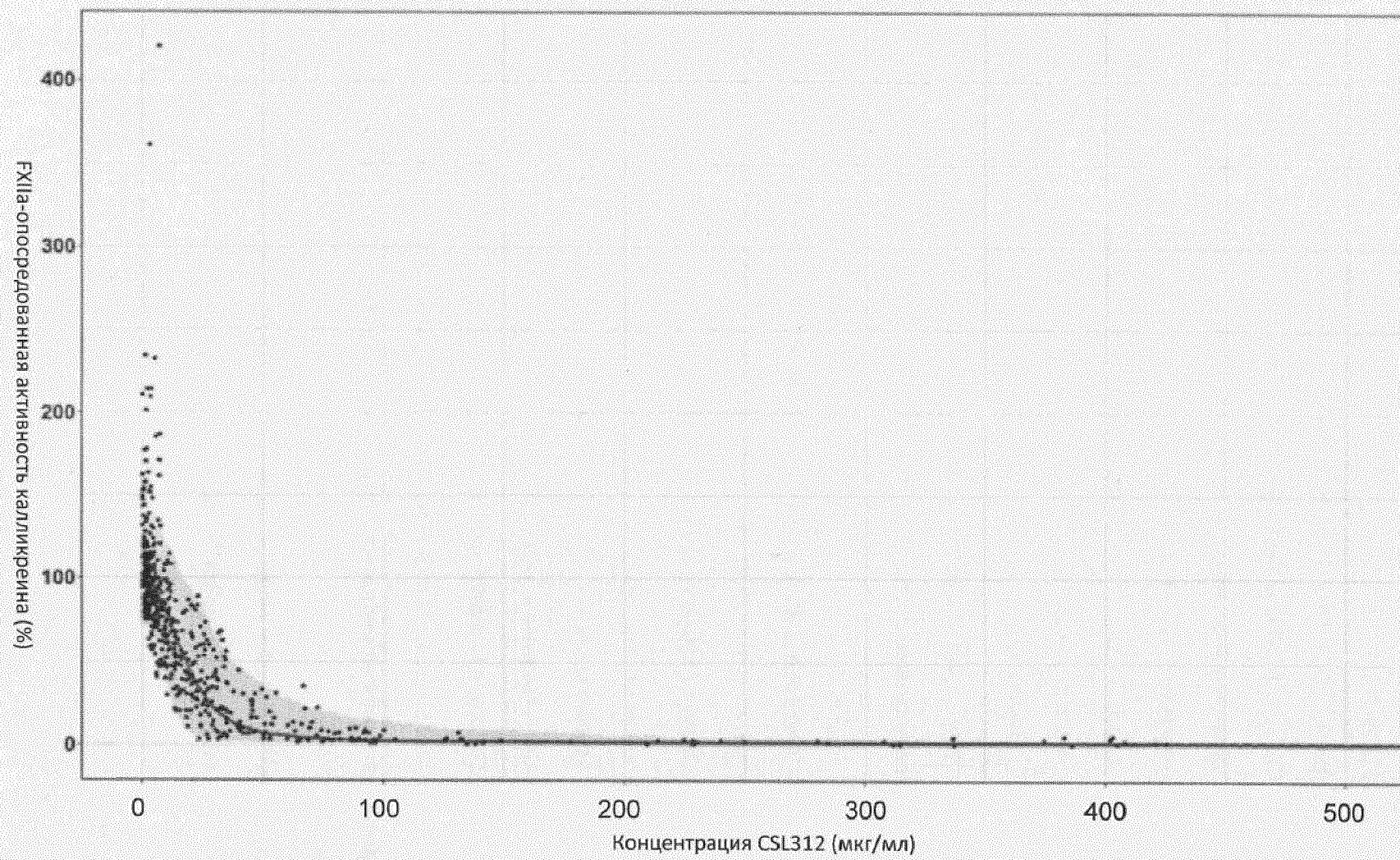
Фиг. 5



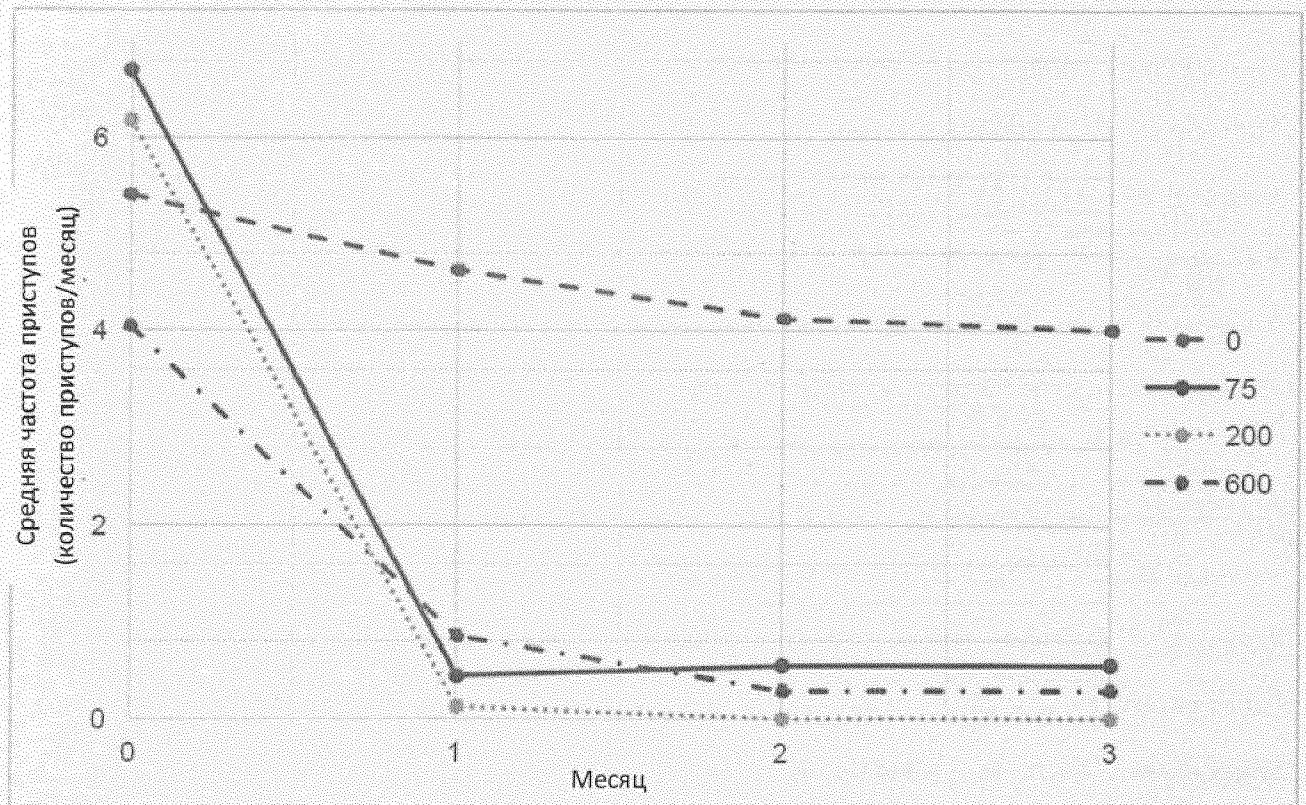
Фиг. 6



Фиг. 7

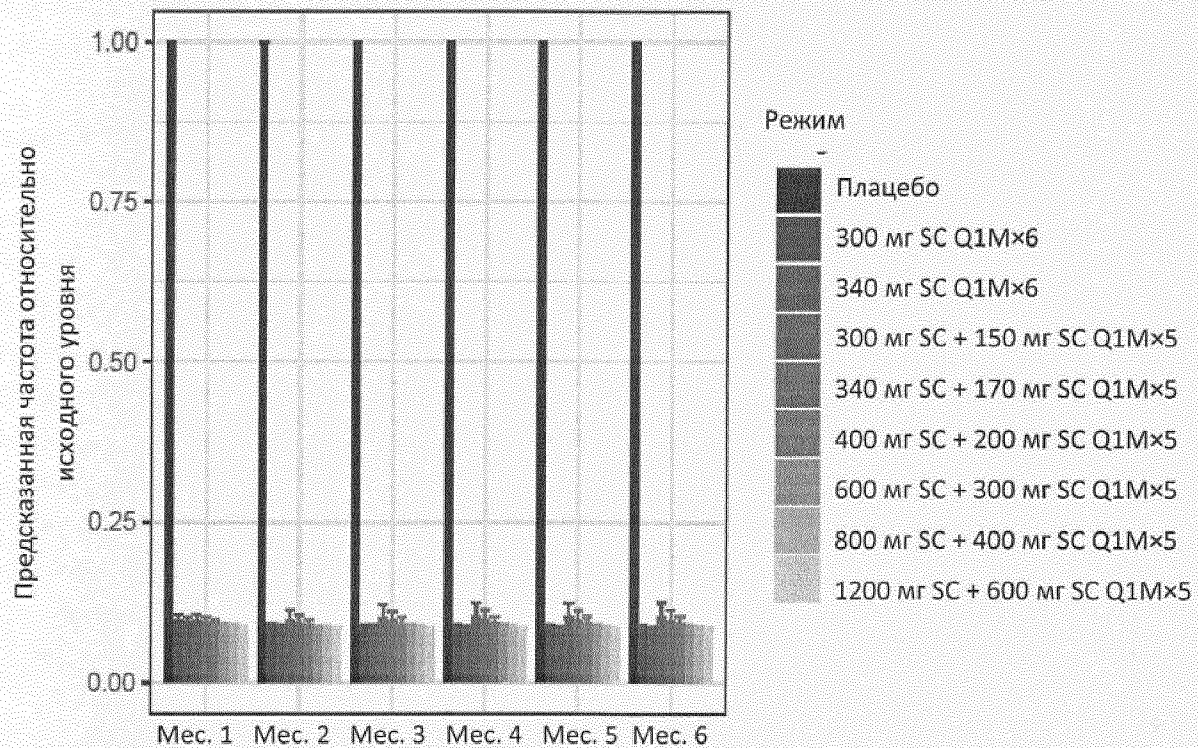


Фиг. 8

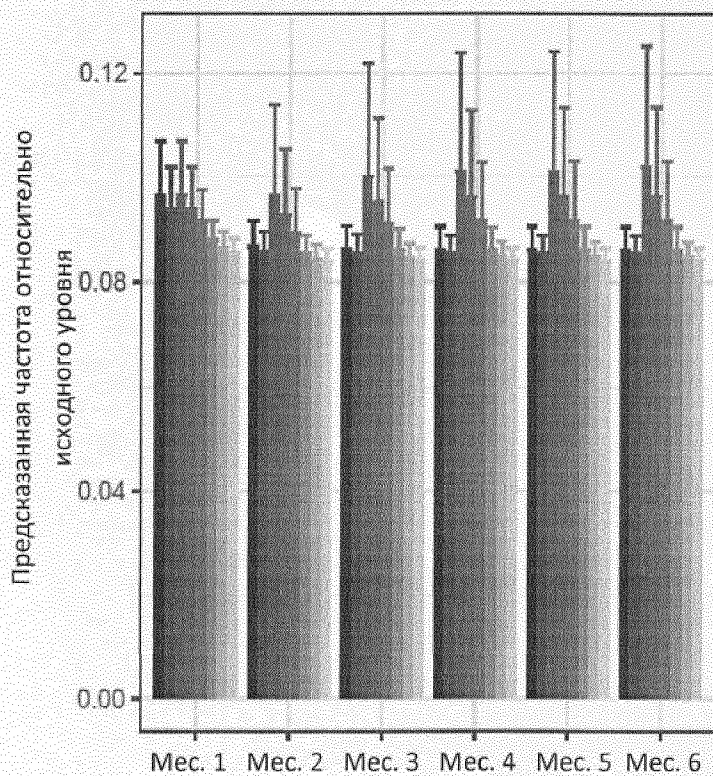


Фиг. 9

A



Б



Фиг. 10

А Аминокислотная последовательность тяжелой цепи CSL312

```

1   EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS KYIMQWVRQA PGKGLEWVSG 50
51  IDIPTKGTVY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARAL 100
101 PRSGYLISPH YYYALDVWG QGTTVTVSSA STKGPSVFPL APCSRSTSES 150
151 TAALGCLVKD YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG LYSLSSVTV 200
201 PSSSLGTKTY TCNVDHKPSN TKVDKRVESK YGPPCPPCPA PEFLGGPSVF 250
251 LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVDVVSQEDP EVQFNWYVDG VEVHNAKTKP 300
301 REEQFNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNGKLPSS IEKTISKAKG 350
351 QPREPQVYTL PPSQEEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY 400
401 KTPPVLDSD GSFFLYSRLT VDKSRWQEGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL 450
451 SLSLGK* 456

```

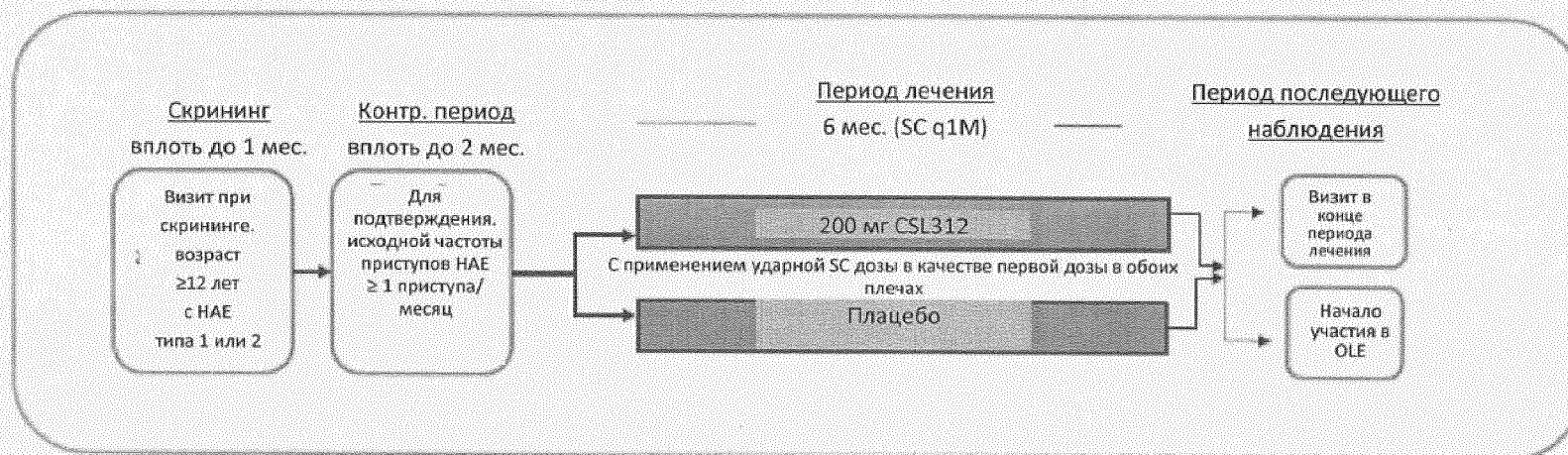
Б Аминокислотная последовательность легкой ламбда-цепи

```

1   QSVLTQPPSA SGTPGQRVTI SCSGSSSNIG RNYVYWYQQL PGTAPKLLIY 50
51  SNNQRPSGVP DRFSGSKSGT SASLAISGLR SEDEADYYCA AWDASLRGVF 100
101 GGGTKLTVLG QPKAAPSVTL FPPSSEELQA NKATLVCLIS DFYPGAVTVA 150
151 WKADSSPVKA GVETTTPSKQ SNNKYAASSY LSLTPEQWKS HRSYSCQVTH 200
201 EGSTVEKTVA PTECS 215

```


Фиг. 11



НАЕ – наследственный ангиоотек; OLE – открытое исследование фазы 3b; q1M – один раз в месяц; SC – подкожно