

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(21) 202292738 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2022.12.21

(22) Дата подачи заявки  
2021.04.01

(51) Int. Cl. C07K 16/24 (2006.01)  
G01N 33/569 (2006.01)  
A61K 39/395 (2006.01)  
A61P 31/14 (2006.01)  
A61P 11/00 (2006.01)  
A61P 29/00 (2006.01)

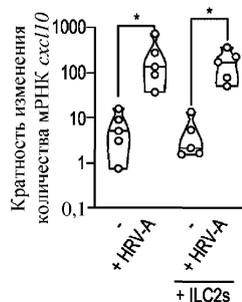
(54) ЛЕЧЕНИЕ ОСТРОГО РЕСПИРАТОРНОГО ДИСТРЕСС-СИНДРОМА С ПОМОЩЬЮ АНТАГОНИСТОВ, СВЯЗЫВАЮЩИХ КОМПОНЕНТЫ СИГНАЛЬНОЙ ОСИ IL-33

(31) 63/005,649; 63/015,915; 63/140,502  
(32) 2020.04.06; 2020.04.27; 2021.01.22  
(33) US  
(86) PCT/EP2021/058749  
(87) WO 2021/204707 2021.10.14  
(71) Заявитель:  
МЕДИММУН ЛИМИТЕД (GB)

(72) Изобретатель:  
Пандя Хитеш Чампаклал, Козн Эмма  
Сюзанн, Келл Кристофер Мартин  
(GB)

(74) Представитель:  
Поликарпов А.В., Соколова М.В.,  
Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатьев  
А.В., Билык А.В., Дмитриев А.В.,  
Бучака С.М., Бельтюкова М.В. (RU)

(57) Изобретение относится к применению антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL33, для лечения и предупреждения острого респираторного дистресс-синдрома (ARDS) и/или его симптомов.



A1

202292738

202292738

A1

## **ЛЕЧЕНИЕ ОСТРОГО РЕСПИРАТОРНОГО ДИСТРЕСС-СИНДРОМА С ПОМОЩЬЮ АНТАГОНИСТОВ, СВЯЗЫВАЮЩИХ КОМПОНЕНТЫ СИГНАЛЬНОЙ ОСИ IL-33**

### **УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ**

Острый респираторный дистресс-синдром (ARDS) представляет собой опасное для жизни состояние, при котором легкие не могут обеспечить жизненно важные органы организма достаточным количеством кислорода. Характерные симптомы ARDS включают сильную одышку, учащенное поверхностное дыхание, усталость, сонливость или спутанность сознания и чувство слабости. Существует множество потенциальных причин ARDS, которые обычно приводят к тяжелому воспалению легких. Такие причины могут включать пневмонию (вирусную или бактериальную) или тяжелую форму гриппа, сепсис, тяжелую травму грудной клетки (например, обширную травму и/или множественные переломы), аспирацию желудочного содержимого (например, случайное вдыхание рвотных масс), вдыхание дыма или токсичных химических веществ, неполное утопление, ушиб легкого, жировую эмболию, легочный васкулит, некардиогенный шок или нежелательную реакцию на переливание крови.

Поскольку ARDS часто вызывается серьезным патологическим состоянием, уровень смертности относительно высок, хотя смертность часто связана с основным патологическим состоянием, а не с ARDS как таковым. Тем не менее, обеспечение эффективного лечения ARDS необходимо для улучшения исходов у пациентов. Обеспечение эффективных стратегий предупреждения ARDS также может снизить нагрузку на системы здравоохранения за счет сокращения времени до выписки пациента и снижения потребности в интенсивной терапии для пациентов, госпитализированных в учреждения первичной медицинской помощи. Для пациентов с ARDS часто требуется механическая интубация или использование аппарата искусственной вентиляции легких для облегчения дыхания. Также может потребоваться подача жидкости и питательных веществ пациенту через назогастральный зонд. Иногда пациенты могут оставаться в больнице в течение нескольких недель или даже месяцев в зависимости от тяжести ARDS и основного патологического состояния. У выживших могут сохраняться долгосрочные осложнения, связанные с повреждением нервов и мышц, которые могут вызывать боль и слабость.

Таким образом, требуются новые эффективные виды терапии для лечения или предупреждения ARDS.

## СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В данном документе предусмотрены способы лечения или предупреждения острого респираторного дистресс-синдрома (ARDS) у пациента, подверженного риску его развития, предусматривающие введение пациенту эффективного количества антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33.

В другом аспекте в настоящем изобретении предусмотрен способ лечения гипоксемии у пациента, предусматривающий введение пациенту эффективного количества антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33.

В другом аспекте в настоящем изобретении предусмотрен способ лечения тяжелого воспаления легких у субъекта, предусматривающий введение пациенту эффективного количества антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33.

В другом аспекте в настоящем изобретении предусмотрен способ лечения или предупреждения коронавирусного заболевания 2019 г. (COVID-19) у пациента, при этом способ предусматривает введение пациенту эффективного количества антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33.

Также в данном документе предусмотрены способы предупреждения или лечения острой дыхательной недостаточности у пациента, при этом способ предусматривает введение пациенту эффективного количества антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33. В некоторых случаях способ предназначен для лечения или предупреждения острой дыхательной недостаточности, индуцированной инфекцией, вызванной коронавирусом 2 (SARS-CoV-2).

В другом аспекте в настоящем изобретении предусмотрен способ лечения и/или предупреждения чрезмерно выраженного воспаления легких, при этом способ предусматривает введение пациенту эффективного количества антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33.

В некоторых случаях антагонист, связывающий компонент сигнальной оси IL-33, представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

В некоторых случаях антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляют собой антитело к IL33 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее VHCDR1, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 37, VHCDR2, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 38, VHCDR3, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 39, VLCDR1, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 40, VLCDR2, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 41, и VLCDR3, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 42

В некоторых случаях VH и VL антитела к IL-33 или его антиген-связывающего фрагмента содержат аминокислотные последовательности, которые на по меньшей мере 95%, 90% или 85% идентичны SEQ ID NO: 1 и SEQ ID NO: 19 соответственно.

В некоторых случаях антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат VH, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 1, и VL, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 19.

В некоторых случаях антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент выбраны из человеческого антитела, химерного антитела и гуманизированного антитела.

В некоторых случаях антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент выбраны из встречающегося в природе антитела, scFv-фрагмента, Fab-фрагмента, F(ab')<sub>2</sub>-фрагмента, минитела, диатела, триатела, тетратела и одноцепочечного антитела.

В некоторых случаях антитело или его антиген-связывающий фрагмент представлены моноклональным антителом.

## **ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ**

Настоящее изобретение описано со ссылкой на следующие графические материалы, на которых представлено следующее.

На **фигуре 1A** показано значительное увеличение мРНК *sxcl10* в клетках ALI, инфицированных посредством HRV-A и инкубированных отдельно или с ILC2 в течение 7 дней (доноры, n=5).

На **фигуре 1B** показано значительное увеличение секреции белка вирусного ответа IP-10 в клетках ALI, инфицированных посредством HRV-A и инкубированных отдельно или с ILC2 в течение 7 дней (доноры, n=5).

На **фигуре 1C** показано, что клетки ALI, инфицированные посредством HRV-A, активировали ILC2 и индуцировали осуществляемую ими секрецию IL-5.

На **фигуре 1D** показано, что цитокины, высвобождаемые активированными ILC2, действуют на культуры ALI, значительно повышая экспрессию *scl26* (доноры, n=5).

На **фигуре 1E** показаны клетки ALI, инфицированные посредством HRV-A, а затем инкубированные с ILC2, и антиаларминовые средства или изотипические контроли, предотвращающие секрецию IL-5 из ILC2.

На **фигуре 2A** показаны уровни IL-33 (комплекс *redIL-33/sST2*) и свободной восстановленной формы IL-33 (восстановленный IL-33), измеренные в образцах сыворотки крови, полученных от людей, результат теста на COVID-19 которых был положительным.

На **фигуре 2B** показаны уровни комплекса IL-33/sST2 в образцах сыворотки крови, полученных от людей, результат теста на COVID-19 которых был положительным, и от контрольных здоровых субъектов.

На **фигуре 3** показано, что IL-33 действует как расположенный выше по сигнальному каскаду аларминовый цитокин, который быстро высвобождается из эпителиальных и эндотелиальных клеток легких в ответ на повреждение легких и гибель клеток.

## **ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

### *Общие определения*

Следует понимать, что какие бы аспекты ни описывались в данном документе формулировкой "содержащий", также предусмотрены другие аналогичные аспекты, описываемые терминами "состоящий из" и/или "состоящий по сути из".

Если конкретно не указано или не очевидно из контекста, используемый в данном документе термин "или" понимают как включающий. Выражение "и/или", используемое в данном документе в такой фразе, как "А и/или В", предназначено для включения "как А, так и В", "А или В", "А" и "В". Аналогичным образом термин "и/или", используемый в такой фразе, как "А, В и/или С", предназначен для охвата каждого из следующих аспектов: А, В и С; А, В или С; А или С; А или В; В или С; А и С; А и В; В и С; А (отдельно); В (отдельно) и С (отдельно).

Термины "приблизительно" и "примерно", в случае их использования для модификации числового значения или числового диапазона, указывают на то, что отклонения до 10% выше и до 10% ниже значения или диапазона остаются в пределах предусматриваемой величины приведенного значения или диапазона. Следует понимать, что в тех случаях, когда аспекты описаны в данном документе с использованием формулировки "приблизительно" или "примерно" в отношении числового значения или диапазона, аналогичные аспекты, относящиеся к указанному числовому значению или диапазону (без "приблизительно"), также предусмотрены.

"Вводить", "осуществление введения", "введение" и т. п. относятся к способам, которые могут быть использованы для обеспечения доставки лекарственного средства, например антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33, например антитела к IL33 или его антигенсвязывающего фрагмента, как описано в данном документе. Методики введения, которые можно применять в отношении средств и способов, описанных в данном документе, можно найти, например, в Goodman and Gilman, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, текущее издание, Pergamon; and Remington's, *Pharmaceutical Sciences*, текущее издание, Mack Publishing Co., Easton, Pa. В некоторых аспектах антагонист, связывающий компонент сигнальной оси IL-33, вводят парентерально, например внутривенно или подкожно.

Термин "антитело" используется в самом широком смысле и охватывает различные структуры антител, включая без ограничения моноклональные антитела, поликлональные

антитела, мультиспецифические антитела (например, биспецифические антитела) и фрагменты антител, при условии, что они проявляют необходимую антигенсвязывающую активность.

"Антигенсвязывающий фрагмент" и "связывающий фрагмент" относятся к молекуле, отличной от интактного антитела, которая предусматривает часть интактного антитела, которая связывается с антигеном, с которым связывается интактное антитело. Примеры фрагментов антител включают без ограничения Fv-, Fab-, Fab'-, F(ab')<sub>2</sub>-, Fab'-SH-, диатела, триатела, тетраатела, линейные антитела, молекулы одноцепочечных антител (например, scFv) и мультиспецифические антитела, образованные из антигенсвязывающих фрагментов.

"Определяющие комплементарность области" и "CDR" используются в данном документе для обозначения аминокислотных остатков антитела или антигенсвязывающего фрагмента, которые ответственны за связывание антигена.

"Гипоксемия" относится к уровню кислорода в крови ниже нормального. В частности, это дефицит кислорода в артериальной крови. Гипоксемия обычно определяется как сниженное парциальное давление кислорода (мм рт. ст.) в артериальной крови, а также как сниженное содержание кислорода (мл кислорода на децилитр крови) или процентное насыщение гемоглобина (связывающий кислород белок в эритроцитах) кислородом. В контексте острого состояния гипоксемия может вызывать такие симптомы, которые наблюдаются при респираторном дистрессе. К ним относятся одышка, быстрое поверхностное дыхание, боль в груди, спутанность сознания, головная боль и одышка с учащенным сердцебиением. Гипоксемию определяют путем измерения уровня кислорода в образце крови, взятом из артерии (газовый состав артериальной крови). Его также можно оценить путем измерения насыщения крови кислородом с использованием пульсоксиметра. Гипоксемия классифицируется как легкая, умеренная или тяжелая в зависимости от отклонения от нормального диапазона. Обычно применяются следующие определения: легкая гипоксемия: PaO<sub>2</sub> (парциальное давление кислорода у пациента) = от 60 до 79 мм рт. ст.; умеренная гипоксемия: PaO<sub>2</sub> = от 40 до 59 мм рт. ст., и тяжелая гипоксемия: PaO<sub>2</sub> < 40 мм рт. ст. Значения менее 60 мм рт. ст. обычно указывают на потребность в дополнительном кислороде.

"Гиперкарбия" (также известная как гиперкапния) представляет собой состояние аномально повышенного уровня углекислого газа (CO<sub>2</sub>) в крови. Гиперкапния может возникнуть в контексте основного патологического состояния, и симптомы могут быть связаны с этим состоянием или непосредственно с гиперкапнией. Специфическими симптомами, относящимися к ранней гиперкапнии, являются одышка, тревожность,

головная боль, спутанность сознания и вялость. Клинические признаки включают покраснение кожи, полный пульс, учащенное дыхание, преждевременные сердечные сокращения, мышечные подергивания и хлопающий тремор кистей рук (астериксис). Гиперкарбию можно определить путем проведения анализов газового состава крови, как правило, путем пункции лучевой артерии. Гиперкарбия обычно определяется как уровень углекислого газа в артериальной крови выше 45 мм рт. ст. (6 кПа). Быстрое повышение уровней CO<sub>2</sub> в крови может привести к острой гиперкарбии, которая может привести к полиорганным осложнениям и может развиваться в ходе обострений при тяжелой форме COPD или других формах дыхательной недостаточности, при которых происходит истощение дыхательных мышц, например при тяжелой пневмонии.

Термин белок "IL-33", используемый в данном документе, относится к интерлейкину 33, в частности к белку-интерлейкину 33 млекопитающих, например белку человека, депонированному в UniProt под номером 095760. Эта структура представляет собой не одну молекулу, а существует в нескольких формах с различными видами функциональной активности, например в полноразмерной и протеолитически обработанной формах или окисленной и восстановленной формах (Cohen et al, 2015 Nat Comm 6:8327; Scott et al., 2018 Sci Rep 8:3363). С учетом быстрого окисления восстановленной формы *in vivo* и *in vitro* в большинстве случаев ссылки на IL-33 из предшествующего уровня могут быть наиболее подходящими для обнаружения окисленной формы. Термины "IL-33", и "полипептид IL-33", и "белок IL-33" используются взаимозаменяемо.

"Подобный рецептору интерлейкина 1 белок 1 (IL 1 RL 1 )" и "ST2" используются взаимозаменяемо и относятся к любому нативному ST2 из любого источника, относящегося к позвоночным, включая млекопитающих, таких как приматы (например, люди) и грызуны (например, мыши и крысы), если не указано другое. ST2 также обозначается в данной области техники как DER4, T1 и FIT-1. Термин охватывает "полноразмерный" необработанный ST2, а также любую форму ST2, полученную в результате процессинга в клетке. В данной области техники известны по меньшей мере четыре изоформы ST2, включая растворимую (sST2, также известную как IL 1 RL 1-a) и трансмембранную (ST2L, также известную как IL 1 RL 1-b), которые образуются в результате дифференциальной экспрессии мРНК из двойной промоторной системы, и ST2V и ST2LV, которые образуются в результате альтернативного сплайсинга. Доменная структура ST2L включает три внеклеточных иммуноглобулиноподобных домена C2, трансмембранный домен и цитоплазматический домен рецептора Toll/интерлейкина-1 (TIR). В sST2 отсутствуют трансмембранный и цитоплазматический домены, содержащиеся в ST2L, и он включает уникальные 9 аминокислот (а.к.). С-концевая последовательность (см., например, Kakkar et

al. *Nat. Rev. Drug Disc.* 40 7: 827-840, 2008). sST2 может функционировать как рецептор-ловушка для ингибирования растворимой формы IL-33. Термин также охватывает встречающиеся в природе варианты ST2, например сплайс-варианты (например, ST2V, в котором отсутствует третий иммуноглобулиновый мотив и который содержит уникальный гидрофобный хвост, и ST2LV, в котором отсутствует трансмембранный домен ST2L) или аллельные варианты (например, варианты, которые характеризуются защитным эффектом в отношении риска развития астмы или которые обуславливают наличие риска развития астмы, как описано в данном документе). Аминокислотную последовательность иллюстративного ST2 человека можно найти, например, под номером доступа UniProtKB 001638. ST2 является частью рецептора IL-33 вместе с корецепторным белком IL-1 RAcP. В результате связывания IL-33 с ST2 и корецептором, представляющим собой вспомогательный белок рецептора интерлейкина-1 (IL-1 RAcP), образуется тройной сигнальный комплекс 1:1:1, способствующий передаче сигнала ниже по сигнальному каскаду (Lingel et al. *Structure* 17(10): 1398-1410, 2009, и Liu et al. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 110(37): 14918-14924, 2013).

"Антагонист, связывающий компонент сигнальной оси IL-33" относится к молекуле, которая подавляет взаимодействие при связывании сигнальной молекулы IL-33 с одним или несколькими ее партнерами по связыванию. Как используется в данном документе, антагонист, связывающий компонент сигнальной оси IL-33, включает антагонисты IL-33, антагонисты ST2 (например, антагонисты ST2L) и антагонисты IL-1RAcP.

Используемые в данном документе термины, такие как "осуществление лечения", или "лечение", или "лечить", или "облегчение", или "облегчать", относятся к терапевтическим мерам, с помощью которых излечивают, замедляют, ослабляют симптомы диагностированного патологического состояния или нарушения и/или останавливают их прогрессирование. Таким образом, нуждающиеся в лечении включают тех, у кого уже диагностировано нарушение, или тех, в отношении которых имеется подозрение на наличие у них заболевания. Нуждающиеся в лечении пациенты или субъекты могут включать лиц с диагнозом коронавирусная инфекция 2019 (COVID-19) и лиц, инфицированных коронавирусом 2 тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV-2).

"Терапевтически эффективное количество" или "эффективное количество" относится к количеству по меньшей мере одного соединения по настоящему изобретению или фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно такое соединение, которое при введении пациенту в качестве однократной дозы либо в качестве части серии доз является эффективным при получении по меньшей мере одного терапевтического эффекта. Оптимальные дозы обычно можно определить с использованием

экспериментальных моделей и/или клинических испытаний. Оптимальная доза терапевтического средства может зависеть от массы тела, веса и/или объема крови пациента. Мониторинг уровня соединения, вводимого пациенту, можно осуществлять путем определения уровня соединения (или метаболита соединения) в биологической жидкости, например, в крови, фракции крови (например, сыворотке крови), и/или в моче, и/или в другом биологическом образце от пациента. Любой способ выявления соединения или его метаболита, применяемый на практике в данной области техники, можно применять для измерения уровня соединения в ходе осуществления терапевтического режима.

Используемые в данном документе термины "субъект" и "пациент" используются взаимозаменяемо. Субъектом может быть животное. В некоторых аспектах субъектом является млекопитающее, такое как отличное от человека животное (например, корова, свинья, лошадь, кошка, собака, крыса, мышь, обезьяна или другой примат и т. д.). В некоторых аспектах субъектом является яванский макак. В некоторых аспектах субъектом является человек.

### *Способы лечения*

#### *Острый респираторный дистресс-синдром*

В настоящем изобретении предусмотрены способы лечения или предупреждения ARDS или связанных с ним симптомов, включая гипоксемию и/или чрезмерно выраженное воспаление легких. Способы предусматривают введение субъекту-пациенту эффективного количества антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33.

В некоторых случаях субъектом является пациент, подверженный риску развития ARDS. Таким образом, способ может быть предназначен для предупреждения ARDS у пациента, подверженного риску его развития.

Субъект может быть подвержен риску развития ARDS, если у него имеется одно или несколько из следующих состояний: пневмония (вирусная или бактериальная) или тяжелая форма гриппа, сепсис, тяжелая травма грудной клетки (например, обширная травма и/или множественные переломы), аспирация желудочного содержимого (например, случайное вдыхание рвотных масс), вдыхание дыма или токсичных химических веществ, неполное утопление, ушиб легкого, жировая эмболия, легочный васкулит, некардиогенный шок или нежелательная реакция на переливание крови.

Эти состояния могут приводить к развитию гипоксемии и/или чрезмерно выраженному (или "тяжелому") воспалению легких. Следовательно, наличие гипоксемии или чрезмерно выраженного воспаления легких у пациента, у которого имеется одно или несколько из вышеуказанных состояний, может делать его кандидатом на лечение антагонистом, связывающим компонент сигнальной оси IL-33, для предупреждения развития ARDS.

Блокирование сигнальной оси IL-33 может предотвратить усиление цикла воспаления легких и повреждения клеток после любого из следующих состояний или инцидентов, при которых в легких развивается тяжелая форма воспаления: пневмония (вирусная или бактериальная) или тяжелая форма гриппа, сепсис, тяжелая травма грудной клетки (например, обширная травма и/или множественные переломы), аспирация желудочного содержимого (например, случайное вдыхание рвотных масс), вдыхание дыма или токсичных химических веществ, неполное утопление, ушиб легкого, жировая эмболия, легочный васкулит, некардиогенный шок или нежелательная реакция на переливание крови. Тяжелое воспаление легких, вызванное этими состояниями или инцидентами, может вызвать острый респираторный дистресс-синдром (ARDS).

Соответственно, в настоящем изобретении предусмотрен способ лечения или предупреждения острого респираторного дистресс-синдрома (ARDS) у пациента, подверженного риску его развития, предусматривающий введение пациенту эффективного количества антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33. В некоторых случаях способ предназначен для предупреждения ARDS у указанного пациента. В некоторых случаях у пациента может иметься чрезмерно выраженное воспаление легких.

В некоторых случаях у пациента, подлежащего лечению, имеется гипоксемия легкой степени, умеренной степени или гипоксемия от умеренной до тяжелой степени. Наличие гипоксемии указывает на субоптимальный газообмен у пациента и наличие у него риска развития ARDS. Следовательно, способ может являться подходящим для пациента, у которого имеется гипоксемия, для уменьшения или подавления гипоксемии, тем самым предупреждая развитие ARDS.

В других случаях в настоящем изобретении предусмотрен способ лечения гипоксемии у пациента, предусматривающий введение пациенту эффективного количества антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33. В некоторых случаях гипоксемия представляет собой гипоксемию легкой степени, умеренной степени или гипоксемию от умеренной до тяжелой степени.

В некоторых случаях при любом из вышеперечисленных способов у пациента может иметься гиперкарбия.

В некоторых случаях в настоящем изобретении предусмотрен способ лечения чрезмерно выраженного воспаления легких у субъекта, предусматривающий введение пациенту эффективного количества антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33. В некоторых случаях у пациента имеется ARDS или он подвержен риску его развития.

В некоторых случаях в любом из вышеприведенных способов чрезмерно выраженное воспаление легких может быть вызвано пневмонией (вирусной или бактериальной) или

тяжелой формой гриппа, сепсисом, тяжелой травмой грудной клетки (например, обширной травмой и/или множественными переломами), аспирацией желудочного содержимого (например, случайным вдыханием рвотных масс), вдыханием дыма или токсичных химических веществ, неполным утоплением, ушибом легких, жировой эмболией, легочным васкулитом, некардиогенным шоком или нежелательной реакцией на переливание крови.

В некоторых случаях способ обеспечивает снижение или подавление активации IL2. В некоторых случаях способ обеспечивает снижение или подавление активации IL2 в легких. В некоторых случаях способ обеспечивает снижение или подавление высвобождения IL-5 из IL2.

В некоторых случаях способ обеспечивает снижение или подавление экспрессии *ccl26* в эпителии дыхательных путей. В некоторых случаях способ обеспечивает снижение или подавление экспрессии *ccl26* в легком. CCL26 является хемотаксическим по отношению к эозинофилам и базофилам. Таким образом, в некоторых случаях способ обеспечивает уменьшение хемотаксиса эозинофилов или базофилов в легком. Было обнаружено, что значения числа эозинофилов в бронхоальвеолярном лаваже являются низкими в ранней фазе ARDS, но увеличиваются в поздней фазе ARDS, в то время как повышенные уровни маркеров активности эозинофилов коррелируют с тяжестью ARDS. Следовательно, снижение или подавление экспрессии *ccl26* в легких может уменьшить хемотаксическое перемещение эозинофилов в легкое, тем самым предупреждая или уменьшая прогрессирование ARDS.

В некоторых случаях при любом из вышеперечисленных способов у пациента имеется пневмония. В некоторых случаях пневмония представляет собой вирусную пневмонию.

В некоторых случаях у пациента имеется инфекция, вызванная коронавирусом 2 (SARS-CoV-2). В некоторых случаях при любом из вышеперечисленных способов ARDS, гипоксемия или чрезмерно выраженное воспаление легких индуцируются SARS-CoV-2.

В некоторых случаях уровень кислорода в артериальной крови пациента составляет менее 79 мм рт. ст. В некоторых случаях парциальное давление кислорода у пациента составляет от 60 до 79 мм рт. ст. включительно. В некоторых случаях парциальное давление кислорода у пациента составляет менее 60 мм рт. ст. В некоторых случаях парциальное давление кислорода составляет от 40 до 59 мм рт. ст. включительно. В некоторых случаях и при тяжелой гипоксемии парциальное давление кислорода у пациента составляет 40 мм рт. ст. В некоторых случаях пациент не находится на механической вентиляции легких или еще не подвергался ей.

### COVID-19

Также в данном документе раскрыт способ лечения или предупреждения коронавирусного заболевания 2019 г. (COVID-19) у пациента, предусматривающий введение пациенту эффективного количества антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33, такого как описанные в данном документе.

Тяжелая инфекция COVID-19 характеризуется повреждением эндотелия сосудов легких, эпителия дыхательных путей и альвеол, что приводит к высвобождению цитокинов. Это приводит к альвеолярному отеку, гипоксемии, острому респираторному дистресс-синдрому (ARDS) и смерти.

IL-33 действует как расположенный выше по сигнальному каскаду аларминовый цитокин, который быстро высвобождается из эпителиальных и эндотелиальных клеток легкого в ответ на повреждение и гибель клеток (фигура 3). Это указывает на то, что IL-33 играет патофизиологическую роль при остром повреждении легких. Примеры показывают, что уровни IL-33 повышены в сыворотке крови пациентов во время госпитализации после диагностирования у них инфекции COVID-19.

Было также показано, что IL-33 высвобождается при инфекциях легких, вызываемых вирусами, включая риновирус человека, RSV, вирус гриппа, в ответ на повреждение и гибель клеток. Животные модели острого и хронического повреждения легких аналогично связаны с повышенным уровнем IL-33 и активацией цитокинов T1/2 (например, IL-6) (Kearley JA *et al* (2015) *Immunology*). Также известно, что COVID-19 характеризуется цитопатичностью, что может приводить к высвобождению предварительно накопленного IL-33 из легочных эпителиальных и эндотелиальных клеток со стимулированием и усилением цикла воспаления и повреждения клеток.

Таким образом, антагонисты, связывающие компоненты оси IL33, могут быть применимы для предупреждения передачи сигналов белком IL-33, высвобождаемым из респираторного эпителия и/или эндотелия вследствие COVID-19. Блокирование сигнальной оси IL-33 может предотвратить усиление цикла воспаления и повреждения клеток, наблюдаемого в дыхательных путях пациентов с COVID-19. Фактически, блокирование сигнальной оси IL-33 может предотвратить усиление цикла воспаления легких и повреждения клеток после любого из следующих состояний или инцидентов, при которых в легких развивается тяжелая форма воспаления: пневмония (вирусная или бактериальная) или тяжелая форма гриппа, сепсис, тяжелая травма грудной клетки (например, обширная травма и/или множественные переломы), аспирация желудочного содержимого (например, случайное вдыхание рвотных масс), вдыхание дыма или токсичных химических веществ, неполное утопление, ушиб легкого, жировая эмболия,

легочный васкулит, некардиогенный шок или нежелательная реакция на переливание крови. Тяжелое воспаление легких, вызванное этими состояниями или инцидентами, может вызвать острый респираторный дистресс-синдром (ARDS). Характерные симптомы ARDS включают сильную одышку, учащенное поверхностное дыхание, усталость, сонливость или спутанность сознания и чувство слабости. Соответственно, в данном документе предусмотрен способ лечения острого респираторного дистресс-синдрома (ARDS) или одного или нескольких его симптомов у пациента, при этом способ предусматривает введение пациенту эффективного количества антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33.

В другом аспекте в данном документе предусмотрен способ лечения или предупреждения коронавирусного заболевания 2019 г. (COVID-19) у пациента, предусматривающий введение пациенту эффективного количества антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33. В настоящем изобретении также предусмотрен антагонист, связывающий компонент сигнальной оси IL-33, для применения в способе лечения или предупреждения COVID-19, при этом способ предусматривает введение эффективного количества антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33. В настоящем изобретении также предусмотрено применение эффективного количества антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33, в способе лечения или предупреждения COVID-19. В настоящем изобретении также предусмотрено применение антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33, в изготовлении лекарственного препарата для лечения или предупреждения COVID-19.

В другом аспекте в данном документе предусмотрен способ лечения коронавирусного заболевания 2019 г. (COVID-19) у пациента, предусматривающий введение пациенту эффективного количества антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33. В настоящем изобретении также предусмотрен антагонист, связывающий компонент сигнальной оси IL-33, для применения в способе лечения COVID-19, при этом способ предусматривает введение эффективного количества антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33. В настоящем изобретении также предусмотрено применение эффективного количества антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33, в способе лечения COVID-19. В настоящем изобретении также предусмотрено применение антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33, в изготовлении лекарственного препарата для лечения или предупреждения COVID-19.

Соответственно, способ может быть предназначен для предупреждения или лечения острой дыхательной недостаточности, индуцированной инфекцией, вызванной коронавирусом 2 (SARS-CoV-2), у пациента, предусматривающий введение пациенту

эффективного количества антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33. В настоящем изобретении также предусмотрен антагонист, связывающий компонент сигнальной оси IL-33, для применения в способе лечения или предупреждения острой дыхательной недостаточности, индуцированной коронавирусом 2 (SARS-CoV-2), при этом способ предусматривает введение эффективного количества антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33. В настоящем изобретении также предусмотрено применение эффективного количества антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33, в способе лечения или предупреждения острой дыхательной недостаточности, индуцированной коронавирусом 2 тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV-2). В настоящем изобретении также предусмотрено применение антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33, в изготовлении лекарственного препарата для лечения и предупреждения острой дыхательной недостаточности, индуцированной коронавирусом 2 (SARS-CoV-2). Соответственно, способы, композиции или варианты применения могут быть предназначены для предупреждения или лечения ухудшающейся острой дыхательной недостаточности, индуцированной инфекцией, вызванной коронавирусом 2 (SARS-CoV-2), у пациента, предусматривающих введение пациенту эффективного количества антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33.

Соответственно, способ может быть предназначен для предупреждения или лечения острого респираторного дистресс-синдрома (ARDS), индуцированного инфекцией, вызванной коронавирусом 2 (SARS-CoV-2), у пациента, предусматривающих введение пациенту эффективного количества антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33. В настоящем изобретении также предусмотрен антагонист, связывающий компонент сигнальной оси IL-33, для применения в способе лечения или предупреждения ARDS, индуцированного коронавирусом 2 (SARS-CoV-2), при этом способ предусматривает введение эффективного количества антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33. В настоящем изобретении также предусмотрено применение эффективного количества антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33, в способе лечения или предупреждения ARDS, индуцированного коронавирусом 2 тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV-2). В настоящем изобретении также предусмотрено применение антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33, в изготовлении лекарственного препарата для лечения и предупреждения острой дыхательной недостаточности, индуцированной коронавирусом 2 (SARS-CoV-2).

Соответственно, представлено способ лечения и/или предупреждения чрезмерно выраженного воспаления легких у пациента, инфицированного SARS-CoV-2, или пациента с COVID-19, предусматривающий введение пациенту эффективного количества

антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33. В настоящем изобретении также предусмотрен антагонист, связывающий компонент сигнальной оси IL-33, для применения в способе лечения или предупреждения чрезмерно выраженного воспаления легких у пациента, инфицированного SARS-CoV-2, или пациента с COVID-19, при этом способ предусматривает введение эффективного количества антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33. В настоящем изобретении также предусмотрено применение эффективного количества антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33, в способе лечения или предупреждения чрезмерно выраженного воспаления легких у пациента, инфицированного SARS-CoV-2, или пациента с COVID-19. В настоящем изобретении также предусмотрено применение антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33, в изготовлении лекарственного препарата для лечения и предупреждения цитокинового шторма у пациента, инфицированного SARS-CoV-2, или пациента с COVID-19. Примером чрезмерно выраженного воспаления легких является "синдром цитокинового шторма" (CSS) или "синдром высвобождения цитокинов" (CRS). CSS представляет собой форму синдрома системного воспалительного ответа, который может возникнуть, когда большое количество лейкоцитов активируется и высвобождает воспалительные цитокины, которые, в свою очередь, активируют еще большее количество лейкоцитов. Как показано на фигуре 3, повреждение эпителия легких и/или альвеолярного эндотелия, индуцированное COVID-19, может привести к высвобождению IL-33. Высвобождение IL33 вызывает каскад воспалительных реакций, что может привести к рекрутингу и активации большого количества лейкоцитов (врожденных лимфоидных клеток 2 типа (ILC2), эозинофилов, естественных киллерных клеток и т. д.). Рекрутинг и активация большого количества лейкоцитов может стимулировать и усиливать цикл воспаления, ведущий к CSS или CRS. Предикторы летальности из недавнего ретроспективного многоцентрового исследования 150 подтвержденных случаев COVID-19 в Ухане, Китай, включали повышенный уровень ферритина и IL-6, что позволяет предположить, что смертность может быть связана с обуславливаемым вирусом гипервоспалением (Ruan Q *et al* (2020) *Intensive Care Med*). Таким образом, учитывая, что IL-33 является основным регулятором воспаления в ответ на повреждение эпителия легких, ингибирование IL-33 может быть эффективным при лечении или предупреждении чрезмерно выраженного воспаления легких у пациента, например у пациента, инфицированного SARS-CoV-2.

В некоторых случаях способов, соединений для применения и вариантов применения, предусмотренных в данном документе, у пациента подтверждено COVID-19, требующее госпитализации, или имеется подозрение на его наличие. В некоторых случаях способов,

соединений для применения и вариантов применения, предусмотренных в данном документе, у пациента подтверждено COVID-19, требующее госпитализации. В некоторых случаях способов, соединений для применения и вариантов применения, предусмотренных в данном документе, у пациента имеется инфекция, вызванная SARS-CoV-2, подтвержденная посредством лабораторных тестов и/или экспресс-тестов по месту оказания медицинской помощи. В некоторых случаях способов, соединений для применения и вариантов применения, предусмотренных в данном документе, пациентом является взрослый ( $\geq 18$  лет).

В некоторых случаях способов, соединений для применения и вариантов применения, предусмотренных в данном документе, подлежащий лечению пациент характеризуется показателем, который соответствует степени от 3 до 5 по 9-балльной порядковой шкале категорий ВОЗ.

9-балльная порядковая шкала категорий ВОЗ для оценки клинического улучшения:

0. Не инфицирован, без клинических или биологических признаков инфекции
1. Не госпитализирован, без ограничений в отношении видов деятельности
2. Не госпитализирован, с ограничением в отношении видов деятельности
3. Госпитализирован, не требует дополнительного кислорода
4. Госпитализирован, требует дополнительного кислорода
5. Госпитализирован, на неинвазивной вентиляции легких или устройствах для кислородной терапии с высокой скоростью потока
6. Госпитализирован, с интубацией и механической вентиляцией легких
7. Госпитализирован, вентиляция и дополнительная поддержка органов (ЕСМО)
8. Летальный исход.

В некоторых случаях способов, соединений для применения и вариантов применения, предусмотренных в данном документе, у пациента имеется гипоксемия.

В некоторых случаях способов, соединений для применения и вариантов применения, предусмотренных в данном документе, у пациента имеется одно или несколько из следующих состояний: состояние, затрагивающее легкие, такое как астма, COPD, эмфизема или бронхит; заболевание сердца, такое как сердечная недостаточность; хроническое заболевание почек; заболевание печени, такое как гепатит; состояния, затрагивающие головной мозг и нервы, такие как болезнь Паркинсона, заболевание двигательных нейронов, рассеянный склероз (MS или церебральный паралич; диабет, например диабет 1 типа или 2 типа; серповидноклеточная анемия или удаленная селезенка у пациента; и/или скомпрометированная иммунная система, например когда у пациента имеется инфекция HIV или AIDS, или в случае, когда пациент проходит химиотерапию.

В некоторых случаях способов, соединений для применения и вариантов применения, предусмотренных в данном документе, у пациента имеется клиническое ожирение. В некоторых случаях ВМІ у пациента составляет 40 и выше.

В некоторых случаях способов, соединений для применения и вариантов применения, предусмотренных в данном документе, у пациента имеется пневмония. Пневмония может представлять собой пневмонию, подтвержденную визуализацией органов грудной клетки. В некоторых случаях пневмония представляет собой вирусную пневмонию. В некоторых случаях пневмония индуцирована инфекцией, вызванной SARS-CoV-2. В некоторых случаях пневмония индуцируется вирусом гриппа А, вирусом гриппа В, респираторно-синцитиальным вирусом, вирусом парагриппа человека, аденовирусом, метапневмовирусом, SARS-COV, вирусом ближневосточного респираторного синдрома (MERS-CoV), хантавирусом, вирусом простого герпеса, вирусом ветряной оспы, вирусом кори, вирусом краснухи, цитомегаловирусом, вирусом натуральной оспы или вирусом денге. В некоторых случаях пневмония индуцируется вирусом гриппа А, вирусом гриппа В, респираторно-синцитиальным вирусом или вирусом парагриппа человека.

В некоторых случаях способы, соединения для применения и варианты применения, предусмотренные в данном документе, значительно снижают потребность пациента в получении респираторной поддержки, например инвазивной или неинвазивной респираторной поддержки, такой как механическая вентиляция легких или экстракорпоральная мембранная оксигенация (ЕСМО).

В случае некоторых способов, соединений для применения и вариантов применения, предусмотренных в данном документе, пациентом является человек. В некоторых случаях пациент имеет возраст, составляющий по меньшей мере 40 лет, возраст, составляющий по меньшей мере 50 лет, возраст, составляющий по меньшей мере 60 лет, возраст, составляющий по меньшей мере 70 лет, возраст по меньшей мере 80 лет или возраст по меньшей мере 90 лет.

В некоторых случаях способы, соединения для применения и варианты применения, предусмотренные в данном документе, распространяются на продолжительность времени до смерти и/или улучшают показатель выживаемости.

В некоторых случаях способы, соединения для применения и варианты применения, предусмотренные в данном документе, приводят к клиническому улучшению на по меньшей мере 2 балла по 9-балльной порядковой шкале категорий ко дню 29 или ранее (где день 1 определяется как день, когда пациенту вводят первую дозу средства терапии, определенного в данном документе).

В некоторых случаях способы, соединения для применения и варианты применения, предусмотренные в данном документе, сокращают время до выписки из больницы.

В некоторых случаях способы, соединения для применения и варианты применения, предусмотренные в данном документе, сокращают время до того, как субъект будет считаться годным для выписки (величина показателя, составляющая 0, 1 или 2, по 9-балльной порядковой шкале).

В некоторых случаях способы, соединения для применения и варианты применения, предусмотренные в данном документе, уменьшают ухудшение состояния субъекта по порядковой шкале на 1, 2 или 3 балла в дни 2, 8, 15, 22 и 29 (где день 1 определяется как день, когда пациенту вводят первую дозу средства терапии, определенного в данном документе).

Иллюстративные варианты осуществления способов лечения COVID-19 или ассоциированных с ним признаков заболевания включают следующее.

1. Способ лечения или предупреждения коронавирусного заболевания 2019 г. (COVID-19) у пациента, при этом способ предусматривает введение пациенту эффективного количества антитела к IL33 или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VHCDR1, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 37, VHCDR2, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 38, VHCDR3, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 39, VLCDR1, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 40, VLCDR2, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 41, и VLCDR3, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 42.
2. Способ предупреждения или лечения острой дыхательной недостаточности, индуцированной инфекцией, вызванной коронавирусом 2 (SARS-CoV-2), у пациента, при этом способ предусматривает введение пациенту эффективного количества антитела к IL33 или его антигенсвязывающего фрагмента, указанных в варианте осуществления 1.
3. Способ предупреждения или лечения острого респираторного дистресс-синдрома (ARDS), индуцированного инфекцией, вызванной коронавирусом 2 (SARS-CoV-2), у пациента, при этом способ предусматривает введение пациенту эффективного количества антитела к IL33 или его антигенсвязывающего фрагмента, указанных в варианте осуществления 1.
4. Способ лечения или предупреждения чрезмерно выраженного воспаления легких у пациента, инфицированного SARS-CoV-2, или пациента с COVID-19, при этом способ предусматривает введение пациенту эффективного количества антитела к

П33 или его антигенсвязывающего фрагмента, указанных в варианте осуществления 1.

5. Способ по любому из предыдущих вариантов осуществления, где у пациента подтверждено COVID-19, требующее госпитализации, или имеется подозрение на его наличие.
6. Способ по любому из предыдущих вариантов осуществления, где у пациента имеется респираторный дистресс и/или гипоксемия.
7. Способ по любому из предыдущих вариантов осуществления, где у пациента имеется одно или несколько из следующих состояний:
  - a. состояние, затрагивающее легкие, такое как астма, COPD, эмфизема или бронхит;
  - b. заболевание сердца, такое как сердечная недостаточность;
  - c. хроническое заболевание почек;
  - d. заболевание печени, такое как гепатит;
  - e. состояние, затрагивающее головной мозг и нервы, такое как болезнь Паркинсона, заболевание двигательных нейронов, рассеянный склероз (MS или церебральный паралич);
  - f. диабет, такой как диабет 1 типа или 2 типа;
  - g. серповидноклеточная анемия или удаленная селезенка у пациента; и/или
  - h. скомпрометированная иммунная система, например когда у пациента имеется инфекция HIV или AIDS, или в случае, когда пациент проходит химиотерапию.
8. Способ по любому из предыдущих вариантов осуществления, где BMI пациента составляет 40 или выше.
9. Способ по любому из предыдущих вариантов осуществления, где у пациента имеется пневмония.
10. Способ по любому из предыдущих вариантов осуществления, где лечение значительно снижает потребность пациента в респираторной поддержке.
11. Способ по варианту осуществления 10, где респираторная поддержка является инвазивной или неинвазивной.
12. Способ по любому из предыдущих пунктов, где пациент имеет возраст, составляющий по меньшей мере 40 лет, возраст, составляющий по меньшей мере 50 лет, возраст, составляющий по меньшей мере 60 лет, возраст, составляющий по меньшей мере 70 лет, возраст по меньшей мере 80 лет или возраст по меньшей мере 90 лет.

13. Способ по любому из предыдущих вариантов осуществления, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту парентерально, например внутривенно или подкожно.
14. Способ по любому из предыдущих вариантов осуществления, где VH и VL указанного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента содержат аминокислотные последовательности, которые на по меньшей мере 95%, 90% или 85% идентичны SEQ ID NO: 1 и SEQ ID NO: 19 соответственно.
15. Способ по варианту осуществления 14, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат VH, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 1, и VL, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 19.
16. Способ по любому из предыдущих вариантов осуществления, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент выбраны из человеческого антитела, химерного антитела и гуманизированного антитела.
17. Способ по любому из предыдущих вариантов осуществления, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент выбраны из встречающегося в природе антитела, scFv-фрагмента, Fab-фрагмента, F(ab')<sub>2</sub>-фрагмента, минитела, диатела, триатела, тетратела и одноцепочечного антитела.
18. Способ по любому из предыдущих вариантов осуществления, где антитело или его антиген-связывающий фрагмент представлены моноклональным антителом.
19. Способ по любому из предыдущих вариантов осуществления, где антитело вводят пациенту в фармацевтически приемлемой форме.

#### Уровни IL-33 как биомаркер для лечения

В некоторых случаях способ предназначен для пациентов с повышенными уровнями общего IL-33 в сыворотке крови по сравнению с исходными уровнями. Примеры показывают, что уровни IL-33 повышены у субъектов с COVID-19. У госпитализированных субъектов с COVID-19 могут развиваться симптомы ARDS. Таким образом, идентификация субъектов у которых имеются повышенные уровни IL-33, а также у которых проявляются симптомы, ассоциированные с развитием ARDS (например, гипоксемия или тяжелое воспаление легких), может обеспечить раннюю идентификацию пациентов с повышенным риском развития ARDS, ассоциированного с повышенной активностью IL-33.

Примеры также показывают, что риновирусная инфекция человека вызывает активацию ILC2 зависимым от IL-33 образом. Гиперактивация ILC2 была связана с началом ARDS. Следовательно, вполне вероятно, что повышенная активность IL-33 может быть общим патологическим механизмом при пневмониях (таких как вирусные пневмонии), который приводит к развитию ARDS.

Соответственно, раскрытые в данном документе способы могут быть предназначены для пациентов с высокими уровнями IL-33. В некоторых случаях у пациента могут иметься высокие уровни IL-33 в сыворотке крови. В некоторых случаях у пациента могут иметься высокие уровни комплекса IL-33/sST2 в сыворотке крови.

Уровень IL-33, отдельно или в комплексе с sST2, можно определить с помощью любого из ряда анализов, доступных в данной области техники.

Например, уровень IL-33 (или комплекса IL-33/sST2) можно определить посредством иммуноанализа.

Для иммуноанализов обычно требуются реагенты для захвата, такие как антитела, для захвата соответствующего аналита и необязательно зондовые реагенты для обнаружения соответствующего аналита. Подходящими методиками иммуноанализа являются ELISA (твердофазный иммуноферментный анализ), S-plex, вестерн-блоттинг, иммуноцитохимия, иммунопреципитация, аффинная хроматография, интерферометрия биослоя, Octet, ForteBio и биохимические анализы, такие как усиленные диссоциацией лантанидные флуоресцентные иммунологические анализы (DELFIA®, Perkin Elmer), анализы ферстеровского резонансного переноса энергии (FRET) (например, гомогенный анализ флуоресценции с временным разрешением (HTRF®, Cis Biointernational)) и радиоиммунологический анализ/анализ связывания радиоактивного лиганда.

Вестерн-блоттинг анализ, как правило, предусматривает подготовку образцов белка, электрофорез образцов белка в полиакриламидном геле (например, 8-20 SDS-PAGE в зависимости от молекулярного веса антигена), перенос образца белка с полиакриламидного геля на мембрану, такую как нитроцеллюлоза, PVDF или нейлон, блокирование мембраны в блокирующем растворе (например, PBS с 3% BSA или обезжиренное молоко), промывку мембраны в промывочном буфере (например, PBS-Tween 20), блокирование мембраны с помощью первичного антитела (антитела, представляющего интерес), разведенного в блокирующем буфере, промывку мембраны в промывочном буфере, блокирование мембраны с помощью вторичного антитела (которое распознает первичное антитело, например, антитело к иммуноглобулину человека), конъюгированного с ферментативным субстратом (например, пероксидазой хрена или щелочной фосфатазой) или радиоактивной молекулой (например, <sup>32</sup>P или <sup>125</sup>I), разведенными в блокирующем буфере, промывку мембраны в промывочном буфере и обнаружение присутствия антигена. Специалист в данной области будет располагать необходимой информацией о параметрах, которые можно модифицировать для повышения обнаруживаемого сигнала и для снижения фонового шума. Для дополнительного обсуждения протоколов вестерн-блоттинга см.,

например, Ausubel et al., eds, (1994) *Current Protocols in Molecular Biology* (John Wiley & Sons, Inc., NY) Vol. 1 в разделе 10.8.1.

Варианты ELISA включают подготовку антигена, покрытие лунки 96-луночного микротитрационного планшета антигеном, добавление антитела, представляющего интерес, конъюгированного с обнаруживаемым соединением, таким как ферментативный субстрат (например, пероксидаза хрена или щелочная фосфатаза), в лунку, а также инкубирование в течение некоторого времени и обнаружение присутствия антигена. В некоторых вариантах ELISA антитело, представляющее интерес, не должно быть конъюгировано с обнаруживаемым соединением; вместо этого можно добавлять в лунку второе антитело (которое распознает антитело, представляющее интерес), конъюгированное с обнаруживаемым соединением. Кроме того, вместо покрытия лунки антигеном, лунка может быть покрыта антителом. В этом случае второе антитело, конъюгированное с обнаруживаемым соединением, можно добавлять после добавления антигена, представляющего интерес, в покрытую лунку. Специалист в данной области будет располагать необходимой информацией о параметрах, которые можно модифицировать для увеличения обнаруживаемого сигнала, а также других вариаций ELISA, известных из уровня техники. Для дополнительного обсуждения вариантов ELISA см., например, Ausubel et al., eds, (1994) *Current Protocols in Molecular Biology* (John Wiley & Sons, Inc., NY) Vol. 1 в разделе 13.2.1.

В некоторых случаях уровень IL-33 можно определить с помощью модифицированного ELISA, называемого анализом S-plex. Анализы S-plex доступны от Meso Scale Diagnostics LLC с соответствующими инструкциями по применению.

Используемый в данном документе термин "высокий уровень" означает уровень, превышающий значение на исходном уровне. Значение на исходном уровне для IL-33 может представлять собой заранее определенное количество IL-33 или значение IL-33/sST2, определенное у когорты здоровых контрольных субъектов, или оно может означать исходный уровень IL-33 или IL-33/sST2, ранее измеренный у пациента. Например, результат такого измерения может быть определен ранее во время ухода за субъектом, например результат измерения, полученный до госпитализации пациента с уже имеющимся состоянием, повышающим восприимчивость к ARDS (например, если у пациента имеется пневмония).

Таким образом, в некоторых случаях раскрытые в данном документе способы предназначены для пациентов с уровнями IL-33 выше контрольного значения, уровнями IL-33 в сыворотке крови выше контрольного значения или уровнями комплекса IL-33/sST2 в сыворотке крови выше контрольного значения.

В некоторых случаях контрольное значение включает предварительно определенное значение уровня IL-33, полученное от здоровых контрольных субъектов. В некоторых случаях контрольное значение предусматривает предыдущее значение уровней IL-33, полученное от пациента.

Этот анализ биомаркеров может позволить идентифицировать пациентов, у которых поражены легкие (например, вирусная инфекция, травма и т. д.) и, следовательно, которые подвержены риску развития ARDS. Такой сценарий позволяет предупредить ARDS путем раннего вмешательства до проявления ARDS или связанных с ним симптомов.

Таким образом, раскрытые в данном документе способы могут быть предназначены для предупреждения ARDS, в частности, когда пациент подвержен риску развития ARDS, например, поскольку у него, как известно, имеется поражение легких или оно произошло в его случае.

В некоторых случаях способ включает стадию измерения уровней IL-33 у пациентов, и, если у пациента имеют место уровни IL-33, которые превышают контрольное значение уровня IL-33, осуществление их отбора для лечения раскрытыми в данном документе способами.

В некоторых случаях способ предназначен для применения у пациента, в случае которого было определено, что уровни IL-33 у пациента превышают контрольное значение уровня IL-33.

#### Антагонисты, связывающие компоненты оси IL-33

В некоторых случаях способы, соединения для применения и варианты применения, предусмотренные в данном документе, снижают использование клинически вводимого кислорода. Антагонисты, связывающие компоненты оси IL-33.

Антагонисты, связывающие компоненты оси IL-33, которые могут являться подходящими для использования в раскрытых в данном документе способах, включают антитела к IL-33 или их антигенсвязывающие фрагменты, включая 33\_640087-7B (как описано в WO 2016/156440), ANB020, известное как этокимаб (как описано в WO 2015/106080), 9675P (как описано в US 2014/0271658), A25-3H04 (как описано в US 2017/0283494), Ab43 (как описано в WO 2018/081075), IL33-158 (как описано в US 2018/0037644), 10C12.38.H6. 87Y.581 IgG4 (как описано в WO 2016/077381) или их связывающие фрагменты. Другие иллюстративные антитела к IL-33 или их антигенсвязывающие фрагменты включают любые другие антитела к IL-33, описанные в WO 2016/156440, WO 2015/106080, US 2014/0271658, US 2017/0283494, WO 2018/081075, US 2018/0037644 или WO 2016/077381, все из которых включены в данном документе посредством ссылки.

Другие иллюстративные антагонисты, связывающие компоненты оси IL-33, включают полипептиды, которые связывают IL-33 и/или его рецептор (ST-2) или корецептор (IL1-RAcP) и блокируют взаимодействие лиганд-рецептор (например, белки ST2-Fc, такие как белки, описанные в WO 2013/173761, WO 2013/165894 или WO 2014/152195, каждая из которых включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте, или растворимая форма ST2, или их производные).

Другие иллюстративные антагонисты, связывающие компоненты оси IL-33, также включают антитела к ST-2 или их антигенсвязывающие фрагменты (например, AMG-282 (Amgen) или STL15 (Janssen) или любое из антител к ST2, описанных в WO 2013/173761 или WO 2013/165894, каждая из которых включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте).

Другие иллюстративные антагонисты, связывающие компоненты оси IL-33, включают ловушку лиганда на основе рецептора IL-33, такую как описанные в WO 2018/102597, которая включена в данный документ посредством ссылки.

В одном случае антагонист, связывающий компонент сигнальной оси IL-33, представляет собой связывающую молекулу. Соответственно, связывающая молекула может представлять собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

Соответственно, связывающая молекула специфически связывается с IL-33. Такая связывающая молекула также называется "молекула, связывающая IL-33" или "связывающая молекула, специфическая в отношении IL-33". Соответственно, связывающая молекула специфически связывается с IL-33 и подавляет или ослабляет активность IL-33.

Соответственно молекула, связывающая IL-33, специфически связывается с восстановленным IL-33, окисленным IL-33 или как восстановленным IL-33, так и окисленным IL-33.

Соответственно, связывающая молекула может ослаблять или подавлять активность IL-33 путем связывания IL-33 в восстановленной или окисленной формах. Соответственно, если связывающая молекула подавляет или ослабляет активность восстановленного IL-33 и активность окисленного IL-33, это достигается путем связывания с IL-33 в восстановленной форме (т. е. путем связывания с восстановленным IL-33).

Соответственно, связывающая молекула подавляет или ослабляет активность как redIL-33, так и oxIL-33, с обеспечением таким образом подавления или ослабления как передачи сигнала посредством ST2, так и активности oxIL-33. В последнее время установлено, что ox-IL33, но не red-IL-33, связывается с рецептором конечных продуктов усиленного

гликозилирования (RAGE). Было показано, что  $\alpha$ -IL33-зависимая передача сигналов RAGE подавляет пролиферацию и миграцию эпителиальных клеток.

Соответственно, связывающая молекула может специфически связываться с redIL-33 с аффинностью связывания ( $K_d$ ), составляющей менее  $5 \times 10^{-2}$  М,  $10^{-2}$  М,  $5 \times 10^{-3}$  М,  $10^{-3}$  М,  $5 \times 10^{-4}$  М,  $10^{-4}$  М,  $5 \times 10^{-5}$  М,  $10^{-5}$  М,  $5 \times 10^{-6}$  М,  $10^{-6}$  М,  $5 \times 10^{-7}$  М,  $10^{-7}$  М,  $5 \times 10^{-8}$  М,  $10^{-8}$  М,  $5 \times 10^{-9}$  М,  $10^{-9}$  М,  $5 \times 10^{-10}$  М,  $10^{-10}$  М,  $5 \times 10^{-11}$  М,  $10^{-11}$  М,  $5 \times 10^{-12}$  М,  $10^{-12}$  М,  $5 \times 10^{-13}$  М,  $10^{-13}$  М,  $5 \times 10^{-14}$  М,  $10^{-14}$  М,  $5 \times 10^{-15}$  М или  $10^{-15}$  М. Соответственно, аффинность связывания с redIL-33 составляет менее  $5 \times 10^{-14}$  М (т. е. 0,05 пМ). Соответственно, аффинность связывания измеряют с использованием анализов кинетического исключения (KinExA) или BIACORE™, соответствующим образом с использованием KinExA, с использованием протоколов, таких как описанные в WO 2016/156440 (см., например, пример 11), который полностью включен в данный документ посредством ссылки. Было обнаружено, что связывающие молекулы, которые связываются с redIL-33 с такой аффинностью связывания, связываются достаточно прочно, чтобы предупредить диссоциацию комплекса связывающая молекула/redIL-33 в биологически значимых временных масштабах. Без ограничения какой-либо теорией считается, что эта сила связывания обеспечивает предупреждение высвобождения антигена до разрушения комплекса связывающая молекула/антиген *in vivo*, сводя к минимуму любую IL-33-зависимую активность, ассоциированную с высвобождением IL-33 из связывающего комплекса.

Соответственно, связывающая молекула может специфически связываться с redIL-33 при скорости ассоциации ( $k(on)$ ), превышающей или равной  $10^3$  М<sup>-1</sup> с<sup>-1</sup>,  $5 \times 10^3$  М<sup>-1</sup> с<sup>-1</sup>,  $10^4$  М<sup>-1</sup> с<sup>-1</sup> или  $5 \times 10^4$  М<sup>-1</sup> с<sup>-1</sup>. Например, связывающая молекула по настоящему изобретению может связываться с redIL-33 или его фрагментом или вариантом при скорости ассоциации ( $k(on)$ ), превышающей или равной  $10^5$  М<sup>-1</sup> с<sup>-1</sup>,  $5 \times 10^5$  М<sup>-1</sup> с<sup>-1</sup>,  $10^6$  М<sup>-1</sup> с<sup>-1</sup> или  $5 \times 10^6$  М<sup>-1</sup> с<sup>-1</sup> или  $10^7$  М<sup>-1</sup> с<sup>-1</sup>. Соответственно, скорость  $k(on)$  превышает или равняется  $10^7$  М<sup>-1</sup>с<sup>-1</sup>. Соответственно, связывающая молекула может специфически связываться с redIL-33 при скорости диссоциации ( $k(off)$ ), меньшей или равной  $5 \times 10^{-1}$  с<sup>-1</sup>,  $10^{-1}$  с<sup>-1</sup>,  $5 \times 10^{-2}$  с<sup>-1</sup>,  $10^{-2}$  с<sup>-1</sup>,  $5 \times 10^{-3}$  с<sup>-1</sup> или  $10^{-3}$  с<sup>-1</sup>. Например, можно сказать, что связывающая молекула по настоящему изобретению связывается с redIL-33 или его фрагментом или вариантом при скорости диссоциации ( $k(off)$ ), составляющей меньше или равной  $5 \times 10^{-4}$  с<sup>-1</sup>,  $10^{-4}$  с<sup>-1</sup>,  $5 \times 10^{-5}$  с<sup>-1</sup> или  $10^{-5}$  с<sup>-1</sup>,  $5 \times 10^{-6}$  с<sup>-1</sup>,  $10^{-6}$  с<sup>-1</sup>,  $5 \times 10^{-7}$  с<sup>-1</sup> или  $10^{-7}$  с<sup>-1</sup>. Соответственно, скорость  $k(off)$  составляет  $10^{-3}$  с<sup>-1</sup> или меньше. IL-33 представляет собой цитокин алармин, который быстро и в высоких концентрациях высвобождается в ответ на воспалительные стимулы. redIL-33 превращается в окисленную форму примерно через 5-45 мин после высвобождения во внеклеточную среду (Cohen et al Nat Commun 6, 8327 (2015)). Без ограничения какой-либо

теорией считается, что связывание с redIL-33 с такими скоростями k(on) и/или k(off) может сводить к минимуму воздействие redIL-33 до превращения восстановленной формы в oxIL-33. Более того, скорость k(off) может предупреждать высвобождение IL-33 из комплекса связывающая молекула/антиген до разрушения комплекса *in vivo*. Эта кинетика связывания может также предупреждать превращение redIL-33 в oxIL-33 и, таким образом, предупреждать патологическую передачу сигналов окисленной формы IL-33 посредством RAGE (описано в WO 2016/156440, которая включена в данный документ посредством ссылки).

Соответственно, молекула, связывающая IL-33, может конкурентно подавлять связывание IL-33 с любой из связывающих молекул, указанных в таблице 1.

**Таблица 1. Примеры пар VH и VL антител к IL-33**

Пар а	SEQ NO:	ID	Аминокислотная последовательность HCVR	SEQ ID NO:	Аминокислотная последовательность LCVR
1	SEQ NO: 1	ID	EVQLLESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFTFSSYA MSWVRQAPGKGLEWV SGISAIDQSTYYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCA RQKFMQLWGGGLRYP FGYWGQGTMTVSS	SEQ ID NO: 19	SYVLTQPPSVSVSPGQ TASITCSGEGMGDKY AAWYQQKPGQSPVL VIYRDTKRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISGTQ AMDEADYYCGVIQD NTGVFGGGTKLTVL
2	SEQ NO: 2	ID	EVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFTFRSFA MSWVRQAPGKGLELV SDLRTSGGSTYYADSV KGRLTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYC AKSHYSTSWFGGFDY WGQGTMTVSS	SEQ ID NO: 20	DIQMTQSPSSVSASVG DRVITTCRASQGFSS WLAWYQQKPGKAPK LLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTITN LQPEDFATYYCQQAN SFPLTFGGGTKVEIK
3	SEQ NO: 3	ID	QVQLQESGPGLVKPSE TSLTCTVSGGSISSYY WSWIRQPPGKGLELIG YIYYSGSTNYNPSLKS VTISVDTSKNHFLKLS SVTAADTAVYYCARSQ YTSSWYGSFDIWGQGT MVTVSS	SEQ ID NO: 21	DIQMTQSPSSVSASVG DRVITTCRASQGISTW LAWFQQKPGKAPKLL IYAASLQGGVPSRFS GSGSGPEFTLTISLQP EDFATYYCQQANSFP WTFGGGTKVEIK

4	SEQ NO: 4	ID	QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASGYTFNS YGISWVRQAPGQGLE WMGWISSHNGNSHYV QKFQGRVSMTTDTSTS TAYMELRSLRSDDTAV YYCARHSYTTSWYGG FDYWGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 22	DIQMTQSPSSVSASVG DRVITTCRASQGFSS WLAWYQQKPGKAPQ LLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGDFTLTISSL QPEDFATYYCQQANS FPLTFGGGTKVEIK
5	SEQ NO: 5	ID	EVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFTFSSYA LTWVRQAPGKGLEWV SFISGSGGRPFYADSVK GRFTISRDNKSKNMLYL QMNSLRAEDTAIYYCA KSLYTTSWYGGFDSW GQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 23	DIQMTQSPSSVSASVG DRVITTCRASQGVVS WLAWYQQKPGKAPK LLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSNS FPFTLGPGTKVDIK
6	SEQ NO: 6	ID	EVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFTFSNYA MTWVRQAPGKGLEWV STISGSGDNTYYADSV QGRFTISRGHKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYC AKPTYRSWYGAFDF WGQGMVTVSS	SEQ ID NO: 24	DIQMTQSPSSVSASVG DRVITTCRASQGISSW LAWYQQKPGKAPQL LIYAASRLQSGVPSRF WGSFGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQANN FPFTFGPGTKVDIK
7	SEQ NO: 7	ID	EVQLVESGGNLEQPGG SLRLSCTASGFTFSRSA MNWVRRAPGKGLEW VSGISGSGGRTYADS VKGRFTISRDNKNTL YLQMNSLSAEDTAA YCAKDSYTTSWYGGM DVWGHGTTVTVSS	SEQ ID NO: 25	DIQMTQSPSSVSASVG DRVITTCRASQGIFSW LAWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSL QPEDFAIYYCQQANS VPITFGQGRLEIK
8	SEQ NO: 8	ID	EVQLLES GGGLVQPGG SLRLSCAASGFTFSDYY MNWVRQAPGKGLEW VSSISRYSSYIYYADSV KGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYC ARDIGGMDVWGQGL VTVSS	SEQ ID NO: 26	QSVLTQPPSASGTPGQ RVTISCTGSSSNIGAV YDVHWYQQLPGTAP KLLIYRNNQRPSGVP DRFSGSKSGTSASLAI SGLRSEDEADYYCQT YDSSRWVFGGGTKLTVL

9	SEQ ID NO: 9	EVQLLESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFTFSNYY MHWVRQAPGKGLEW VSSISARSR YHYYADS VKGRFTISRDN SKNTL YLQMNSLRAEDTAVY YCARLATRHNAFDIWG QGTLVTVSS	SEQ ID NO: 27	QSVLTQPPSASGTPGQ RVTISCSGSSSNIGNN AVSWYQQLPGTAPKL LIYASNMRVIGVPDRF SGSKSGTSASLAISGL RSEDEADYYCGAWD DSQKALVFGGGTKLT VL
10	SEQ ID NO: 10	EVQLLESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFTFSNYY MHWVRQAPGKGLEW VSSISARSSYIYYADSV KGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYC ARLATRNNAFDIWGQG TLVTVSS	SEQ ID NO: 28	QSVLTQPPSASGTPGQ RVTISCSGSSSNIGNR AVNWWYQQLPGTAPK LLIYASNMRVSGVPD RFSGSKSGTSASLAIS GLRSEDEADYYCWA WDDSQKVG VFGGGT KLTVL
11	SEQ ID NO: 11	EVQLLESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFTFSRY MHWVRQAPGKGLEW VSSISAQSSHIYYADSV EGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYC ARLATRQNAFDIWGQG TLVTVSS	SEQ ID NO: 29	QSVLTQPPSASGTPGQ RVTISCSGSSSNIGNR AVNWWYQQLPGTAPK LLIYASNMR RSGVPD RFSGSKSGTSASLAIS GLRSEDEADYYCSAW DDSQKVV VFGGGTKL TVL
12	SEQ ID NO: 12	EVQLLESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFTFSNYY MHWVRQAPGKGLEW VSSISARSSYLYYADSV KGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYC ARLATRHVAFDIWGQG TLVTVSS	SEQ ID NO: 30	QSVLTQPPSASGTPGQ RVTISCSGSSSNIGNN AVNWWYQQLPGTAPK LLIYASNMR RPPGVPD RFSGSKSGTSASLAIS GLRSEDEADYYCEA WDDSQKAV VFGGGT KLTVL
13	SEQ ID NO: 13	MRAWIFFLLCLAGRAL AQVQLMQSGAEVKKP GASVKV SCKASGYTFT SYWMHWVRQAPGQG LEWMGTIYPRNSNTDY NQKFKARVTMTRDTST STVYMELSSLRSEDTA VYYCARPLYYYLTSP TLFWGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 31	MRAWIFFLLCLAGRA LADIQLTQSPSFLSAS VGDRVTITCKASQDV GTAVAWYQQKPGKA PKLLIYWASTRHTGV PSRFSGSGSGTEFTLTI SSLQPEDFATYYCQQ AKTYPFTFGSGTKLEI KR

14	SEQ ID NO: 14	EVQLVETGGGLIQPGG SLRLSCAASGFTFSSYA MSWVRQAPGKGLEWV SAISGSGGSTYYADSV KGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYC ARTLHGIRAAAYDAFIW GQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 32	EIVLTQSPGTL SLSPGE RATLSCRASQSVGINL SWYQQKPGQAPRLLI YGASHRATGIPDRFSG SGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCHQYSQSP FTFGGGTKVEIK
15	SEQ ID NO: 15	EVQLVETGGGLIQPGG SLRLSCAASGFTFSFYA MSWVRQAPGKGLEWV SAISGSGGSTYYADSV KGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYC ARTLHGIRAAAYDAFIW GQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 33	EIVLTQSPGTL SLSPGE RATLSCRASQSVGINL SWYQQKPGQAPRLLI YGASHRLTGIPDRFSG SGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCHQYSQPPP FTFGGGTKVEIK
16	SEQ ID NO: 16	EVQLVETGGGLIQPGG SLRLSCAASGFTFSFYA MSWVRQAPGKGLEWV SAISGSGGSTYYADSV KGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYC ARTIHGIRAAAYDAFIW GQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 34	EIVLTQSPGTL SLSPGE RATLSCRASQSVGINL SWYQQKPGQAPRLLI YGASHRLTGIPDRFSG SGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCHQYSQPPP FTFGGGTKVEIK
17	SEQ ID NO: 17	EVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFTFSSYW MYWVRQAPGKGLEW VAAITPNAGEDYYPES VKGRFTISRDN AKNSL YLQMNSLRAEDTAVY YCARGHYYYTSSYSLGY WGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 35	DIQMTQSPSSLSASVG DRVTITCKASQNINKH LDWYQQKPGKAPKL LIYFTNNLQTGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCFQYNQ GWTFGGGTKVEIK
18	SEQ ID NO: 18'	EVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFTFSSFS MSWVRQAPGKGLEWV ATISGGKTFTDYVDSV KGRFTISRDDSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYC TRANYGNWFFEVWGQ GTLVTVSS	SEQ ID NO: 36	EIVLTQSPATL SLSPGE RATLSCRASESVAKY GLSLLNWFQQKPGQP PRLLI FAASNRGSGIP ARFSGSGSGTDFTLTI SSLEPEDFAVYYCQQ SKEVPFTFGQGTKVEI K

Сообщалось, что все эти связывающие молекулы связываются с IL-33 и подавляют или ослабляют передачу сигнала посредством ST-2. Таким образом, связывающая молекула или ее связывающий фрагмент, которые конкурируют за связывание с IL-33 с любым из

антител, описанных в таблице 1, могут подавлять или ослаблять передачу сигнала посредством ST-2.

Считается, что связывающая молекула или ее фрагмент конкурентно подавляют связывание эталонного антитела с рассматриваемым эпитопом, если она специфически связывается с этим эпитопом в такой степени, что она блокирует до некоторой степени связывание эталонного антитела с эпитопом. Конкурентное подавление может быть определено с помощью любого способа, известного из уровня техники, например, твердофазных анализов, таких как конкурентные ELISA-анализы, усиленные диссоциацией лантанидных флуоресцентных иммунологических анализов (DELFIA<sup>®</sup>, Perkin Elmer) и анализы с использованием связывания радиоактивного лиганда. Например, специалист в данной области техники может определить, конкурирует ли связывающая молекула или ее фрагмент за связывание с IL-33, используя анализ конкурентного связывания *in vitro*, такой как анализ HTRF, описанный в WO 2016/156440, абзацы 881-886, который включен в данный документ посредством ссылки. Например, специалист в данной области техники может пометить рекомбинантное антитело из таблицы 6 донорным флуорофором и смешать несколько концентраций с образцами с фиксированной концентрацией акцепторного флуорофора, меченного redIL-33. Затем можно измерить резонансный перенос энергии флуоресценции между донорным и акцепторным флуорофором в каждом образце, чтобы установить характеристики связывания. Для выявления молекул конкурентного связывания специалист в данной области техники может сначала смешать различные концентрации тестируемой связывающей молекулы с фиксированной концентрацией меченого антитела из таблицы 6. Уменьшение сигнала FRET при инкубации смеси с меченым IL-33 по сравнению с таковым в случае положительного контроля, содержащего только меченые антитела, указывает на конкурентное связывание с IL-33. Может считаться, что связывающая молекула или ее фрагмент конкурентно подавляют связывание эталонного антитела с рассматриваемым эпитопом на по меньшей мере 90%, на по меньшей мере 80%, на по меньшей мере 70%, на по меньшей мере 60% или на по меньшей мере 50%.

Соответственно, молекула, связывающая IL-33, может представлять собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которые содержат определяющие комплементарность области (CDR) из пары варибельного домена тяжелой цепи (VH) и варибельного домена легкой цепи (VL), выбранной из таблицы 1. В ней пара 1 соответствует последовательностям доменов VH и VL 33\_640087-7B, описанным в WO 2016/156440. Пары 2-7 соответствуют последовательностям доменов VH и VL антител, описанных в US 2014/0271658. Пары 8-12 соответствуют последовательностям доменов VH и VL антител, описанных в US 2017/0283494. Пара 13 соответствует последовательностям

доменов VH и VL ANB020, описанным в WO 2015/106080. Пары 14-16 соответствуют последовательностям доменов VH и VL антител, описанных в WO 2018/081075. Пара 17 соответствует последовательностям доменов VH и VL IL33-158, описанным в US 2018/0037644. Пара 18 соответствует последовательностям доменов VH и VL 10C12.38.H6. 87Y.581 IgG4, описанным в WO 2016/077381.

Соответственно, молекула, связывающая IL-33, может конкурентно подавлять связывание IL-33 со связывающей молекулой 33\_640087-7B (как описано в WO 2016/156440). Соответственно, в WO 2016/156440 раскрыто, что 33\_640087-7B связывается с redIL-33 с особенно высокой аффинностью и ослабляет как ST-2, так и RAGE-зависимую передачу сигнала посредством IL-33.

Соответственно, молекула, связывающая IL-33, представляет собой антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие определяющие комплементарность области (CDR) варибельной области тяжелой цепи (HCVR), содержащей последовательность под SEQ ID NO:1, и определяющие комплементарность области (CDR) варибельной области легкой цепи (LCVR), содержащей последовательность под SEQ ID NO:19. Эти CDR соответствуют таковым, полученным из 33\_640087-7B (как описано в WO 2016/156440), которое связывает восстановленный IL-33 и подавляет его превращение в окисленный IL-33. 33\_640087-7B полностью описано в WO 2016/156440, которая включена в данный документ посредством ссылки. Таким образом, это антитело может быть особенно применимым в описанных в данном документе способах подавления или ослабления передачи сигнала посредством как ST-2, так и RAGE.

Соответственно, специалисту в данной области техники известны доступные в данной области техники способы идентификации CDR в варибельных областях тяжелой и легкой цепей антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. Соответственно, специалист в данной области техники может, например, выполнить аннотирование на основе последовательности. Области между CDR, как правило, высококонсервативны, поэтому для определения местоположения CDR можно использовать логические правила. Специалист в данной области техники может использовать набор основанных на последовательностях правил для стандартных антител (Pantazes and Maranas, Protein Engineering, Design and Selection, 2010), альтернативно или дополнительно он может уточнить правила на основании множественного выравнивания последовательностей. Альтернативно, специалист в данной области техники может сравнить последовательности антител с общедоступной базой данных, работающей в соответствии со способами по Kabat, Chothia или IMGT, используя команду BLASTP для BLAST+, чтобы идентифицировать наиболее сходную аннотированную последовательность. Каждый из

этих способов подразумевает уникальную схему нумерации остатков, в соответствии с которой в нем выполняется нумерация остатков гипервариабельной области, а начало и конец каждой из шести CDR затем определяют в соответствии с определенными ключевыми положениями. Например, при выравнивании с наиболее сходной аннотированной последовательностью CDR можно экстраполировать из аннотированной последовательности в неаннотированную последовательность, с идентификацией таким образом CDR. Подходящие инструменты/базы данных: база данных Kabat, Kabatman, Scalinge, IMGT, Abnum, например.

Соответственно, связывающая молекула представляет собой антитело к IL-33 или антигенсвязывающий фрагмент, содержащие пару вариабельного домена тяжелой цепи (VH) и вариабельного домена легкой цепи (VL), выбранную из таблицы 1.

Соответственно, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат домен VH с последовательностью под SEQ ID NO:1 и домен VL с последовательностью под SEQ ID NO:19.

Соответственно, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат домен VH с последовательностью под SEQ ID NO:7 и домен VL с последовательностью под SEQ ID NO:25.

Соответственно, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат домен VH с последовательностью под SEQ ID NO:11 и домен VL с последовательностью под SEQ ID NO:29.

Соответственно, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат домен VH с последовательностью под SEQ ID NO:13 и домен VL с последовательностью под SEQ ID NO:31.

Соответственно, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат домен VH с последовательностью под SEQ ID NO:16 и домен VL с последовательностью под SEQ ID NO:34.

Соответственно, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат домен VH с последовательностью под SEQ ID NO:17 и домен VL с последовательностью под SEQ ID NO:35.

Соответственно, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат домен VH с последовательностью под SEQ ID NO:18 и домен VL с последовательностью под SEQ ID NO:36.

Соответственно, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую 3 CDR, происходящие из вариабельной области тяжелой цепи, независимо выбранной из SEQ ID NO: 1, 7, 11, 13, 16, 17 и 18.

Соответственно, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменную область тяжелой цепи, содержащую 3 CDR переменной области тяжелой цепи в соответствии с SEQ ID NO:1.

Соответственно, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменную область легкой цепи, содержащую 3 CDR в переменной области легкой цепи, независимо выбранной из SEQ ID NO: 19, 25, 29, 31, 34, 35 и 36.

Соответственно, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменную область легкой цепи, содержащую 3 CDR в переменной области легкой цепи в соответствии с SEQ ID NO:19.

Соответственно, таким образом, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменную область тяжелой цепи, содержащую 3 CDR переменной области тяжелой цепи, независимо выбранной из SEQ ID NO: 1, 7, 11, 13, 16, 17 и 18, и содержат переменную область легкой цепи, содержащую 3 CDR в переменной области легкой цепи, независимо выбранной из SEQ ID NO: 19, 25, 29, 31, 34, 35 и 36.

Соответственно, таким образом, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменную область тяжелой цепи, содержащую 3 CDR переменной области тяжелой цепи в соответствии с SEQ ID NO: 1, и содержат переменную область легкой цепи, содержащую 3 CDR в переменной области легкой цепи в соответствии с SEQ ID NO: 19.

Соответственно, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL), имеющие CDR 1-3 VH с последовательностями под SEQ ID NO: 37, 38 и 39, соответственно, где один или несколько VHCDR содержат 3 или меньше замен, вставок и/или делеций одной аминокислоты.

Соответственно, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат домен VH, который содержит VHCDR 1-3 под SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38 и SEQ ID NO: 39 соответственно.

Соответственно, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат домен VH, который содержит VHCDR 1-3, состоящие из SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38 и SEQ ID NO: 39 соответственно.

Соответственно, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL), имеющие CDR 1-3 VL с последовательностями под SEQ ID NO: 40, 41 и 42 соответственно, где один или несколько VLCDR содержат 3 или меньше замен, вставок и/или делеций одной аминокислоты.

Соответственно, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат домен VL, который содержит VLCDR 1-3 под SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41 и SEQ ID NO: 42 соответственно.

Соответственно, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат домен VL, который содержит VLCDR 1-3, состоящие из SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41 и SEQ ID NO: 42 соответственно.

Соответственно, таким образом, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат VHCDR1, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 37, VHCDR2, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 38, VHCDR3, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 39, VLCDR1, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 40, VLCDR2, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 41, и VLCDR3, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 42.

Соответственно, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат VH и VL, где VH имеет аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90%, например на 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или на 100%, идентичную последовательности VH в соответствии с SEQ ID NO: 1, 7, 11, 13, 16, 17 и 18.

Соответственно, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат VH и VL, где VH имеет аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90%, например на 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или на 100%, идентичную последовательности VH в соответствии с SEQ ID NO: 1.

Соответственно, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат VH и VL, где VH, описанный выше, имеет последовательность с 1, 2, 3 или 4 аминокислотами в каркасной области, которые подвергли делеции, вставке и/или независимой замене на другую аминокислоту.

Соответственно, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат VH и VL, где VL имеет аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90%, например на 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или на 100%, идентичную последовательности VL в соответствии с SEQ ID NO: 19, 25, 29, 31, 34, 35 и 36.

Соответственно, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат VH и VL, где VL имеет аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90%, например на 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или на 100%, идентичную последовательности VL в соответствии с SEQ ID NO: 19.

Соответственно, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат VH и VL, где VL, описанный выше, имеет последовательность с 1, 2, 3 или 4 аминокислотами

в каркасной области, которые подвергли независимой делеции, вставке и/или замене на другую аминокислоту.

Соответственно, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат VH и VL, где VH имеет аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90%, например на 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или на 100%, идентичную последовательности VH в соответствии с SEQ ID NO: 1, 7, 11, 13, 16, 17 и 18, и VL имеет аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90%, например на 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100%, идентичную VL в соответствии с SEQ ID NO: 19, 25, 29, 31, 34, 35 и 36.

Соответственно, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат VH и VL, где VH имеет аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 1, 7, 11, 13, 16, 17 и 18, и VL имеет аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 19, 25, 29, 31, 34, 35 и 36.

Соответственно, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат VH и VL, где VH имеет аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 1, и VL имеет аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 19.

### ***Композиции и введение***

Антагонисты IL-33 в вариантах медицинского применения и способах, описанных в данном документе, можно вводить пациенту в форме фармацевтической композиции.

Соответственно, любые ссылки в данном документе на 'антагонист IL-33' могут также относиться к фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-33. Соответственно, фармацевтическая композиция может содержать один или несколько антагонистов IL-33.

Соответственно, антагонист IL-33 можно вводить в фармацевтически эффективном количестве для лечения *in vivo* коронавирусного заболевания 2019 г. (COVID-19), инфекции, вызванной SARS-CoV-2, и/или их симптомов.

Соответственно, 'фармацевтически эффективное количество' или 'терапевтически эффективное количество' антагониста IL-33 следует понимать как количество, достаточное для достижения эффективного связывания с IL-33 и для достижения положительного эффекта, т. е. для уменьшения выраженности симптомов заболевания или состояния, что указано в вариантах медицинского применения/способах в данном документе.

Соответственно, антагонист IL-33 или фармацевтическая композиция на его основе могут быть введены человеку или другому животному в соответствии с вышеупомянутыми способами лечения/вариантами медицинского применения в количестве, достаточном для достижения терапевтического эффекта.

Соответственно, антагонист ПЛ-33 или фармацевтическая композиция на его основе могут быть введены такому человеку или другому животному в стандартной лекарственной форме, полученной путем объединения антагониста ПЛ-33 с общепринятым фармацевтически приемлемым носителем или разбавителем в соответствии с известными методиками.

Специалисту в данной области техники следует принимать во внимание, что форму и характер фармацевтически приемлемого носителя или разбавителя определяют количество активного ингредиента, с которым их объединяют, путь введения и другие хорошо известные переменные. Специалисты в данной области техники также поймут, что смесь, содержащая один или несколько видов антагонистов ПЛ-33, может оказаться особенно эффективной.

Количество антагониста ПЛ-33, которое можно объединять с материалами-носителями для получения лекарственной формы для однократного введения, будет варьироваться в зависимости от подвергаемого лечению субъекта и конкретного способа введения. Соответственно фармацевтическую композицию можно вводить в виде однократной дозы, многократных доз или в течение установленного периода времени в виде инфузии. Соответственно, схемы введения доз также можно регулировать для обеспечения оптимального требуемого ответа (например, терапевтического или профилактического ответа).

Соответственно, антагонист ПЛ-33 будет составлен таким образом, чтобы облегчить введение и обеспечивать стабильность антагониста ПЛ-33.

Соответственно, фармацевтические композиции составляют таким образом, чтобы они содержали фармацевтически приемлемый, нетоксичный, стерильный носитель, например физиологический раствор, нетоксичные буферы, консерванты и т. п.

Соответственно, фармацевтическая композиция может содержать фармацевтически приемлемые носители, стерильные водные или неводные растворы, суспензии и/или эмульсии.

Соответственно, фармацевтические композиции для применения путем инъекции могут включать стерильные водные растворы (в случае растворимости в воде) или дисперсии и стерильные порошки для приготовления стерильных инъекционных растворов или дисперсий для немедленного приема. В таких случаях композиция должна быть стерильной и должна быть жидкой до такой степени, чтобы ее легко было вводить с помощью шприца. Она должна быть стабильной в условиях изготовления и хранения и будет защищена от загрязняющего действия микроорганизмов, таких как бактерии и грибы.

Подходящие составы для применения в терапевтических способах, раскрытых в данном документе, описаны в Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co.) 16th ed. (1980).

Соответственно, предупреждение действия микроорганизмов может быть достигнуто с помощью различных антибактериальных и противогрибковых средств. Во многих случаях будет приемлемо включать в фармацевтическую композицию изотонические средства. Длительное всасывание инъекционных композиций может обеспечиваться путем включения в композицию средства, которое задерживает всасывание.

Соответственно, стерильные инъекционные растворы можно получить путем помещения антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33, в необходимом количестве в соответствующий растворитель с одним или комбинацией из перечисленных в данном документе ингредиентов, если необходимо, с последующей стерилизацией фильтрованием. Обычно дисперсии получают путем помещения активного соединения в стерильную среду-носитель, которая содержит основную дисперсионную среду и необходимые другие ингредиенты из вышеперечисленных. В случае стерильных порошков для получения стерильных инъекционных растворов способы получения могут представлять собой вакуумную сушку и сублимационную сушку, которые приводят к получению порошка активного ингредиента и любого дополнительного требуемого ингредиента из их предварительно простерилизованного фильтрованием раствора.

Способы введения антагониста IL-33 или фармацевтическая композиция на его основе нуждающемуся в этом субъекту могут быть легко определены специалистами в данной области техники.

Соответственно, путь введения антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33, или фармацевтической композиции на его основе может быть, например, пероральным, парентеральным, ингаляционным или местным. Соответственно, используемый в данном документе термин "парентеральное" включает, например, внутривенное, внутриартериальное, внутрибрюшинное, внутримышечное, подкожное, ректальное или вагинальное введение.

Соответственно, антагонист IL-33 или фармацевтическая композиция на его основе могут быть введены перорально в приемлемой лекарственной форме, включая, например, капсулы, таблетки, водные суспензии или растворы.

Соответственно, составы для парентерального введения могут представлять собой однократную болюсную дозу, инфузионную или ударную болюсную дозу, за которой следует поддерживающая доза. Эти композиции можно вводить с конкретным

фиксированным или переменным интервалами, например, раз в день или по мере необходимости.

Соответственно, перечисленные выше компоненты для получения описанной в данном документе фармацевтической композиции могут быть упакованы и продаваться в виде набора. Такой набор будет соответственно содержать этикетки или листки-вкладыши, на которых указано, что соответствующие фармацевтические композиции применимы для лечения субъекта, страдающего от заболевания или нарушения или предрасположенного к ним.

## **ПРИМЕР**

### *Пример 1*

Респираторные вирусные инфекции связаны с 80% эпизодов обострения бронхиальной астмы. Эти обострения требуют больших затрат на здравоохранение, обуславливают заболеваемость и, в некоторых случаях, даже приводят к смерти. Следовательно, необходимы новые терапевтические инструменты для облегчения вирусных обострений и вызванного ими воспаления. Первым шагом к улучшению лечения является понимание механизма вирусного воспаления дыхательных путей. Новую систему совместного культивирования клеток на легочной границе раздела воздух-жидкость (ALI) разрабатывали для понимания взаимовлияния эпителия и врожденных лимфоидных клеток группы 2 (ILC2) во время вирусной инфекции. Расположенные в слизистой оболочке легких, они быстро реагируют на аларминовые цитокины (IL-33, TSLP и IL-25), высвобождаемые поврежденным эпителием. ILC2 представляют собой иммунные клетки первой линии, которые играют решающую роль в развитии воспалительных ответов. Их активность связывали с патофизиологией ARDS.

В этой модельной системе молекула кандидатного лекарственного средства с активностью, направленной против IL-33, была способна предупреждать активацию ILC2, вызванную инфицированным эпителием.

### Способы

Первичные клетки бронхиального эпителия (Lonza) высевали на полиэфирные мембраны с диаметром пор 0,4 мкм в 24-луночных планшетах, оставляли погруженными в среду на 7 дней, а затем перемешивали струей воздуха. Это способствовало дифференцировке базальных клеток в бокаловидные и реснитчатые клетки. Культуры поддерживали в течение 21 дня до заражения вирусом.

ILC2 выделяли из мононуклеарных клеток периферической крови путем положительного отбора клеток, экспрессирующих CD161, и сортировали с помощью проточной цитометрии на клетки CD127+, CRTH2+ и c-KIT+/-.

qPCR-анализ – ALI лизировали в реагенте TRI®, и мРНК очищали с использованием центрифужных колонок. Зонды TaqMan использовали для анализа экспрессии *sxcl10* и *ccl26*, при этом *gardh* выполнял роль гена "домашнего хозяйства".

Цитокиновый анализ – супернатанты собирали из базолатеральной области культур ALI и анализировали на секрецию IP10 (разведение 1:20) и IL-5 (разведение 1:4) с использованием DuoSet® ELISA от R&D systems.

ALI дифференцировали в течение 28 дней, инфицировали риновирусом-А человека (HRV-A) в течение 2 часов на апикальной стороне, куда вирус проникает через реснитчатые клетки. ILC2, выделенные из конических лейкоцитарных фильтров для лейкоцитов человека, затем добавляли в базолатеральную область культур ALI и инкубировали в течение 4-7 дней.

### Результаты

ALI инфицировали +/- HRV-A, и затем инкубировали отдельно или с ILC2 в течение 7 дней. Вирусную инфекцию оценивали, наблюдая за положительно регуляцией гена вирусного ответа *sxcl10* и секрецией белка вирусного ответа IP-10. Наблюдали значительное увеличение количества мРНК *sxcl10* и высвобождения IP-10 после инфицирования HRV-A. Ответы не изменялись при инкубации ALI с ILC2 отдельно (доноры, n=5) (фигуры 1A и 1B).

Инфицированные ALI секретировали аларминовые цитокины, которые активировали ILC2 и индуцировали у них секрецию IL-5 (фигура 1C). Впоследствии активированные ILC2 высвобождали цитокины, которые оказывали воздействие на культуры ALI со значительным уровнем положительной регуляции экспрессии *ccl26*, хемотаксического фактора для эозинофилов и базофилов (фигура 1D). (доноры, n=5)

Инфицированные ALI также инкубировали с ILC2 и антагонистом, связывающим IL-33. Антагонист, связывающий компонент сигнальной оси IL-33, подавлял при инфицировании HRV-A ALI-индуцированную секрецию IL-5 из ILC2 (фигура 1E). Это указывает на то, что антагонисты, связывающие компоненты оси IL-33, могут быть применимы для предупреждения активации ILC2 и, следовательно, могут быть применимы для предупреждения или лечения воспаления в легком и ассоциированных с ним состояний, таких как ARDS.

### **Пример 2**

Количество IL-33 в сыворотке крови измеряли в 100 COVID-положительных образцах сыворотки крови от 100 доноров-людей, давших согласие на участие в исследовании под названием "Оценка клинического эффекта выполняемого на месте оказания медицинской помощи рутинного молекулярного анализа на COVID-19 у взрослых пациентов,

поступающих в больницу: проспективное интервенционно нерандомизированное пред- и пост-имплементационное исследование (CoV-19POC)"; REC, ссылка: 20/SC/0138; идентификатор проекта IRAS: 280621.

Свободную восстановленную форму IL-33 (redIL-33) и комплекс IL-33-sST2 (IL-33/sST2) измеряли в специфических иммуноанализах. Анализы образцов выполняли с использованием специально разработанных анализов S-PLEX (MSD) с использованием специфичных для изоформы моноклональных антител к IL-33, самостоятельно разработанных AstraZeneca, которые обеспечивают нижний предел обнаружения в диапазоне фг/мл. Образцы анализировали в двух повторностях.

Результаты, представленные на фигуре 2А, показывают уровни IL-33/sST2 и redIL-33 в образцах, положительных в отношении COVID-19. На фигуре 2В показано, что уровни комплекса IL-33/sST2 значительно повышены в COVID-19-положительных образцах сыворотки крови по сравнению со контрольными образцами сыворотки крови от здоровых субъектов.

### **Пример 3**

Исследование фазы II проводилось для оценки безопасности и эффективности добавления MEDI3506 к наилучшей поддерживающей терапии для лечения COVID-19. MEDI3506 (также описанное в данном документе как 33\_640087-7B) представляет собой полностью человеческое моноклональное антитело, которое нейтрализует IL33. IL33 представляет собой цитокин широкого действия, реагирующий на повреждение, который высвобождается в ответ на вирусные инфекции и повреждение тканей. Наилучшая поддерживающая терапия определяется лечащими врачами и международными рекомендациями. Пациенты для исследования являются взрослыми ( $\geq 18$  лет) с инфекцией, вызванной SARS-CoV-2, подтвержденной лабораторными тестами и/или экспресс-тестами по месту оказания медицинской помощи, и характеризующимися величиной показателя от 3 до 5 по 9-балльной порядковой шкале.

#### 9-балльная порядковая шкала категорий ВОЗ:

0. Не инфицирован, без клинических или биологических признаков инфекции
1. Не госпитализирован, без ограничений в отношении видов деятельности
2. Не госпитализирован, с ограничением в отношении видов деятельности
3. Госпитализирован, не требует дополнительного кислорода
4. Госпитализирован, требует дополнительного кислорода
5. Госпитализирован, на неинвазивной вентиляции легких или устройствах для кислородной терапии с высокой скоростью потока
6. Госпитализирован, с интубацией и механической вентиляцией легких

7. Госпитализирован, вентиляция и дополнительная поддержка органов (ЕСМО)

8. Летальный исход.

Пациенты не участвуют в исследовании, если они соответствуют любому из следующих критериев:

- Пациенты, ранее характеризовавшиеся показателем, составляющим 6 или 7 баллов по 9-балльной порядковой шкале.
- Любой пациент, интересам которого участие в исследовании не отвечает наилучшим образом по решению старшего лечащего врача.
- Известная активная инфекция, вызванная HIV или гепатитом В или С.
- Тяжелая хроническая болезнь почек, характеризующаяся 4 стадией или требующая проведения диализа (т. е. расчетная скорость клубочковой фильтрации  $<30$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>).
- Следующие кардиологические состояния в анамнезе:
  - Инфаркт миокарда в течение 3 месяцев до первой дозы
  - Нестабильная стенокардия
  - Клинически значимые дисритмии в анамнезе (удлинение интервала QT на электрокардиограмме [ЭКГ], устойчивая брадикардия [ $\leq 55$  ударов в минуту]), блокада левой ножки пучка Гиса, кардиостимулятор или желудочковая аритмия) или наследственный удлиненный интервал QT в анамнезе.
- Скрининговая ЭКГ в 12 отведениях с измеримым интервалом QTc в соответствии с коррекцией по формуле Фредерика (QTcF)  $>500$  мс.
- Ожидаемый перевод в другую больницу, не являющуюся исследовательским центром, в течение 72 часов.
- Аллергия на любой исследуемый лекарственный препарат.
- Осуществляемое не по одобренным показаниям экспериментальное применение лекарственных продуктов для лечения COVID-19.
- Пациенты, участвующие в другом клиническом исследовании исследуемого лекарственного продукта.
- Активный туберкулез, определенный как требующий текущего лечения туберкулеза

#### Процедуры исследования

Исследование проводили в двух стадиях. На стадии 1 будут оценивать предварительную безопасность и эффективность MEDI3506 в качестве дополнения к стандартному лечению (SoC). Ожидается, что для предварительного анализа будут рандомизированы вплоть до 60

пациентов. Пациенты будут рандомизированы для получения либо SoC, либо MEDI3506 в качестве дополнения к SoC. Пациентов будут рандомизировать в день 1. Пациентам, рандомизированным в группу MEDI3506, будут вводить MEDI3506 в виде однократной IV дозы, составляющей 300 мг. Вторую вводимую IV дозу MEDI3506, составляющую 300 мг, будут вводить в том случае, если пациент находится на инвазивной вентиляции легких в день 15 или раньше.

Стадию 2 проводят для предоставления подтверждающих данных, для полной оценки исходов заболевания. На стадии 2 также будут анализировать тяжелые нежелательные явления (АЕ), общие АЕ, сопутствующие инфекции, связанные с заболеванием (например, пневмония и септический шок), и общую смертность на стадии расширения. Число пациентов, подлежащих включению в исследование на стадии 2, будет определено по результатам стадии 1.

### Результаты

Первичную конечную точку будут измерять как время до клинического улучшения на по меньшей мере 2 балла (относительно рандомизации) по 9-балльной порядковой шкале, до выписки живым из больницы или до признания годным к выписке (величина показателя, составляющая по меньшей мере 0, 1 или 2 по порядковой шкале), в зависимости от того, что наступит раньше, по достижении дня 29.

Вторичные конечные точки являются следующими:

- Доля пациентов, состояние которых не ухудшилось по порядковой шкале на 1, 2 или 3 балла в дни 2, 8, 15, 22 и 29.
- Продолжительность (дни) использования кислорода и количество дней без использования кислорода.
- Продолжительность (дни) использования искусственной вентиляции и количество дней без использования искусственной вентиляции.
- Частота случаев любой формы нового применения искусственной вентиляции и продолжительность (дни) периода нового применения искусственной вентиляции.
- Частота ответов (количество и %) по группам лечения в дни 2, 8, 15 и 29.
- Время до выписки живым из больницы.
- Смертность по состоянию на дни 15, 29 и 60.
- Время от даты начала лечения до смерти.
- SpO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>, измеряемые ежедневно с момента рандомизации до дня 15, выписки из больницы или смерти
- Физикальное обследование.
- Клинические лабораторные исследования.

- Показатели жизненно важных функций (кровеное давление/частота сердечных сокращений/температура/частота дыхания).
- Нежелательные явления.
- Продолжительность (дни) нахождения в ICU и госпитализации.
- Оценка с использованием NEWS2, проводимая ежедневно во время госпитализации и в дни 15 и 29.

Исследовательские конечные точки являются следующими:

- Качественное и количественное определение с помощью полимеразной цепной реакции (PCR) коронавируса 2 тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV-2) в мазке из ротоглотки/носовой полости во время госпитализации в дни 1, 3, 5, 8, 11, 15 и (необязательно) день 29.

### **ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ**

SEQ ID NO 37: SYAMS

SEQ ID NO 38: GISAIQSTYYADSVKG

SEQ ID NO 39: QKFMQLWGGGLRYPFGY

SEQ ID NO 40: SGEGMGDKYAA

SEQ ID NO 41: RDTKRPS

SEQ ID NO 42: GVIQDNTGV

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения или предупреждения острого респираторного дистресс-синдрома (ARDS) у пациента, подверженного риску его развития, предусматривающий введение пациенту эффективного количества антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33.

2. Способ по п. 1, где способ предназначен для предупреждения ARDS у указанного пациента.

3. Способ по любому из предыдущих пунктов, где у пациента имеется гипоксемия легкой степени, умеренной степени или гипоксемия от умеренной до тяжелой степени.

4. Способ лечения гипоксемии у пациента, предусматривающий введение пациенту эффективного количества антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33.

5. Способ по п. 4, где гипоксемия представляет собой гипоксемию легкой степени, умеренной степени или гипоксемию от умеренной до тяжелой степени.

6. Способ по любому из предыдущих пунктов, где у пациента имеется гиперкарбия.

7. Способ по любому из предыдущих пунктов, где у пациента имеется чрезмерно выраженное воспаление легких.

8. Способ по любому из предыдущих пунктов, где способ обеспечивает уменьшение или подавление воспаления в легком.

9. Способ лечения чрезмерно выраженного воспаления легких у субъекта, предусматривающий введение пациенту эффективного количества антагониста, связывающего компонент сигнальной оси IL-33.

10. Способ по п. 9, где у пациента имеется ARDS или он подвержен риску его развития.

11. Способ по любому из пп. 7-10, где чрезмерно выраженное воспаление легких вызвано пневмонией (вирусной или бактериальной) или тяжелой формой гриппа, сепсисом, тяжелой травмой грудной клетки (например, обширной травмой и/или множественными переломами), аспирацией желудочного содержимого (например, случайным вдыханием рвотных масс), вдыханием дыма или токсичных химических веществ, неполным утоплением, ушибом легкого, жировой эмболией, легочным васкулитом, некардиогенным шоком или нежелательной реакцией на переливание крови.

12. Способ по любому из предыдущих пунктов, где у пациента имеется пневмония.

13. Способ по п. 12, где пневмония представляет собой вирусную пневмонию.

14. Способ по любому из предыдущих пунктов, где у пациента имеется инфекция, вызванная коронавирусом 2 (SARS-CoV-2).

15. Способ по п. 14, где ARDS, гипоксемия или чрезмерно выраженное воспаление легких индуцируются SARS-CoV-2.

16. Способ по любому из предыдущих пунктов, где парциальное давление кислорода у пациента составляет менее 79 мм рт. ст.

17. Способ по любому из предыдущих пунктов, где парциальное давление кислорода у пациента составляет от 60 до 79 мм рт. ст. включительно.

18. Способ по любому из пп. 1-15, где парциальное давление кислорода у пациента составляет менее 60 мм рт. ст.

19. Способ по любому из предыдущих пунктов, где пациент не находится на механической вентиляции легких или еще не подвергался ей.

20. Способ по любому из предыдущих пунктов, где антагонист, связывающий компонент сигнальной оси IL-33, представляет собой антагонист, представляющий собой антитело к IL-33, антагонист, представляющий собой антитело к ST2, или антагонист IL-1-RAcP.

21. Способ по п. 20, где антагонист представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

22. Способ по п. 21, где антитело представляет собой антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент.

23. Способ по п. 22, где антитело к IL33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат VHCDR1, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 37, VHCDR2, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 38, VHCDR3, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 39, VLCDR1, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 40, VLCDR2, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 41, и VLCDR3, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 42.

24. Способ лечения или предупреждения коронавирусного заболевания 2019 г. (COVID-19) у пациента, при этом способ предусматривает введение пациенту эффективного количества антитела к IL33 или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащих VHCDR1, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 37, VHCDR2, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 38, VHCDR3, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 39, VLCDR1, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 40, VLCDR2, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 41, и VLCDR3, имеющую последовательность под SEQ ID NO: 42.

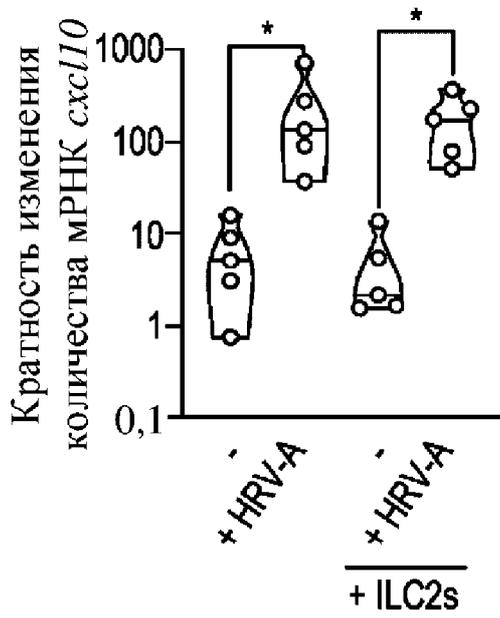
25. Способ предупреждения или лечения острой дыхательной недостаточности, индуцированной инфекцией, вызванной коронавирусом 2 (SARS-CoV-2), у пациента, при

этом способ предусматривает введение пациенту эффективного количества антитела к IL33 или его антигенсвязывающего фрагмента, указанных в п. 24.

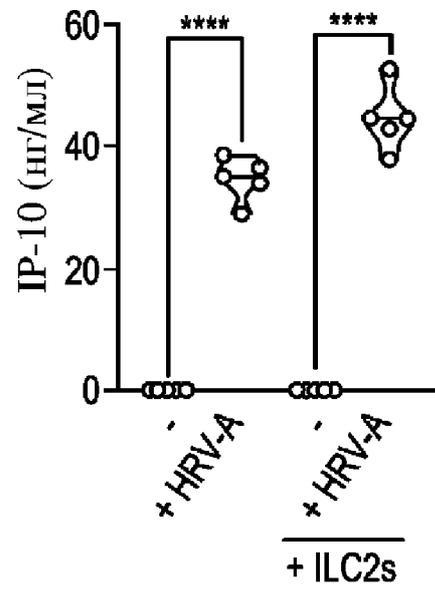
26. Способ предупреждения или лечения острого респираторного дистресс-синдрома (ARDS), индуцированного инфекцией, вызванной коронавирусом 2 (SARS-CoV-2), у пациента, при этом способ предусматривает введение пациенту эффективного количества антитела к IL33 или его антигенсвязывающего фрагмента, указанных в п. 24.

27. Способ лечения или предупреждения чрезмерно выраженного воспаления легких у пациента, инфицированного SARS-CoV-2, или пациента с COVID-19, при этом способ предусматривает введение пациенту эффективного количества антитела к IL33 или его антигенсвязывающего фрагмента, указанных в п. 24.

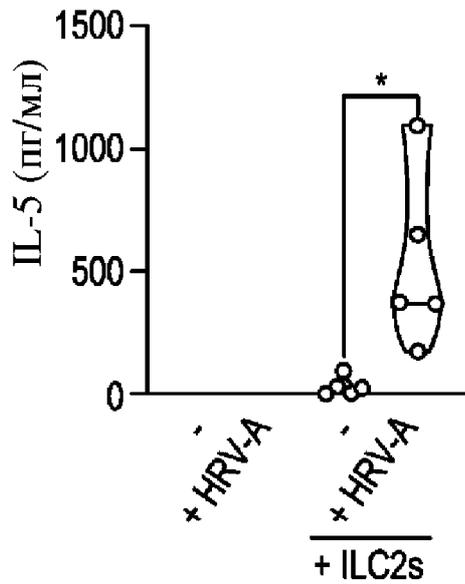
ФИГ. 1А



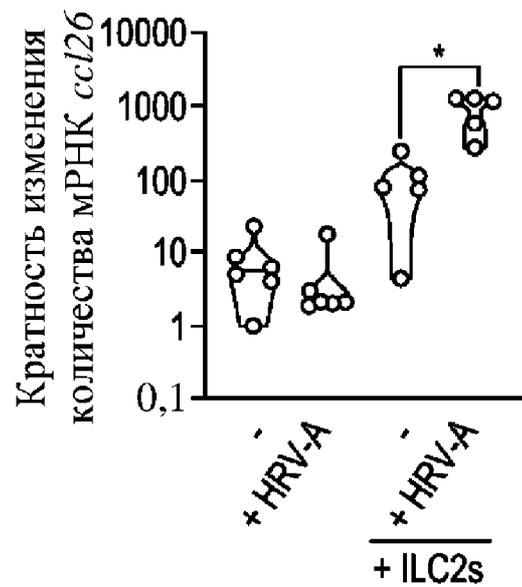
ФИГ. 1В

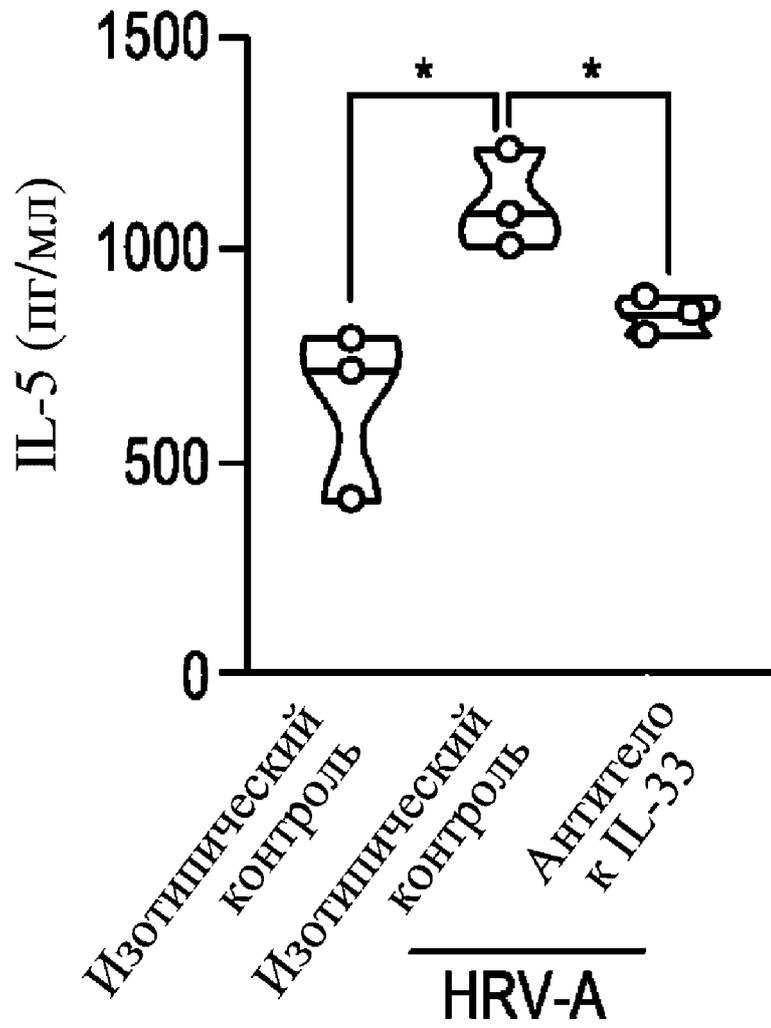


ФИГ. 1С

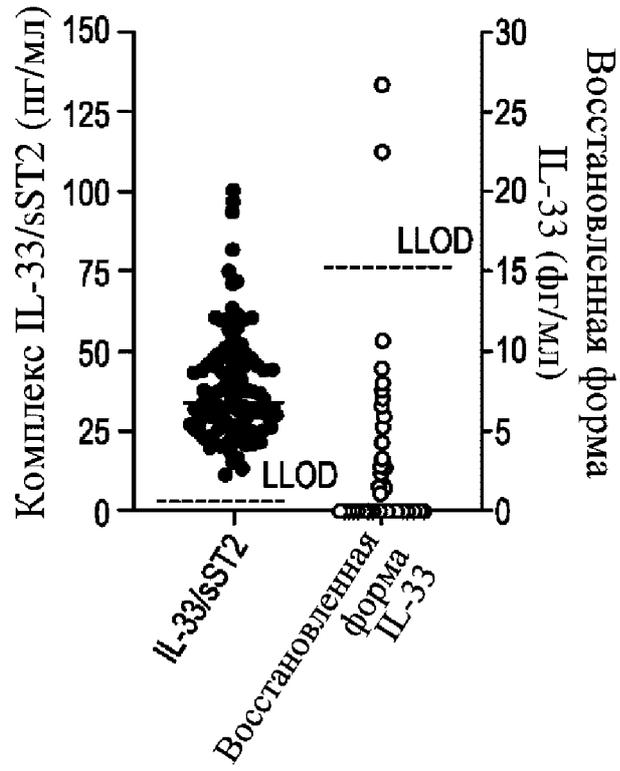


ФИГ. 1D

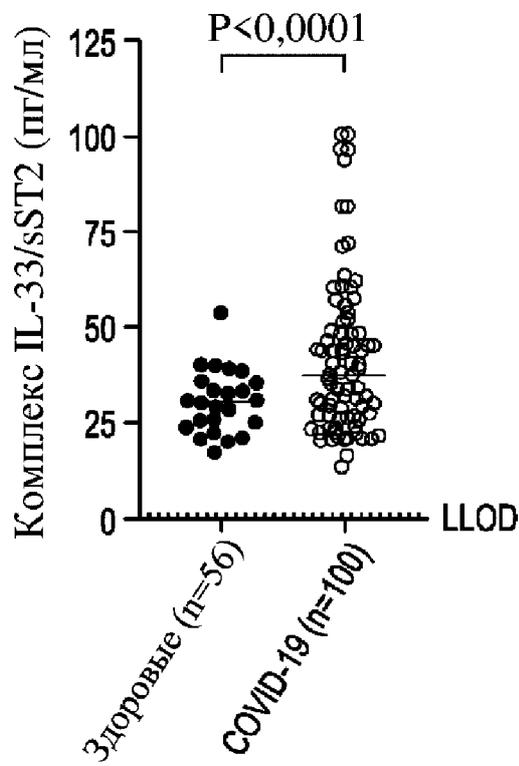


**ФИГ. 1Е**

ФИГ. 2А



ФИГ. 2В



**ФИГ. 3**

